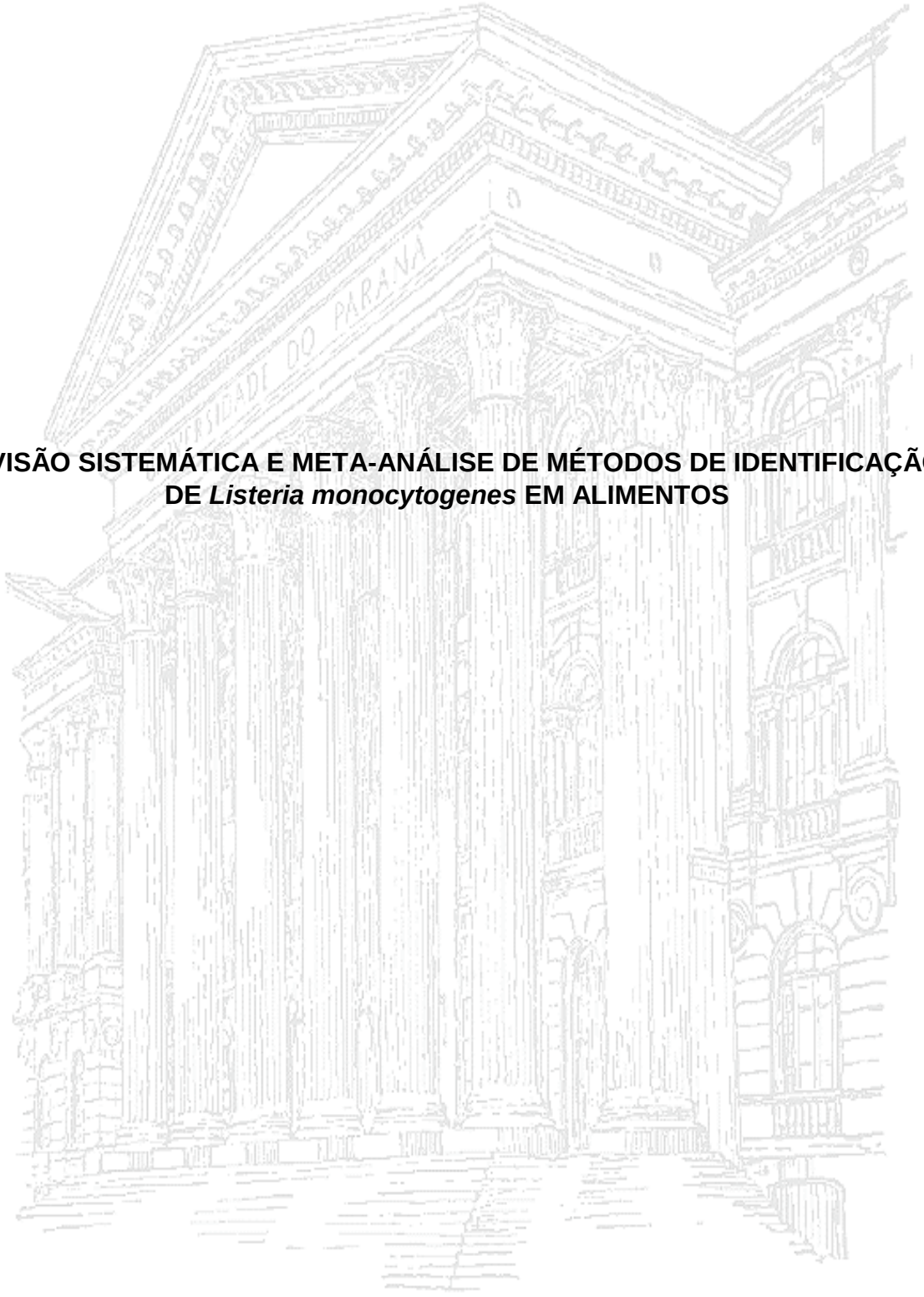
VANESSA RODRIGUES DE SOUZA



# REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE DE MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE *Listeria monocytogenes* EM ALIMENTOS

CURITIBA

2017

VANESSA RODRIGUES DE SOUZA

# REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE DE MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE *Listeria monocytogenes* EM ALIMENTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo
Corientador: Profa. Dra. Wanda Moscalewski Abrahão

CURITIBA

2017

Souza, Vanessa Rodrigues de
Revisão sistemática e meta-análise de métodos de identificação de *Listeria monocytogenes* em alimentos / Vanessa Rodrigues de Souza – Curitiba, 2016.
130 f. ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Roberto Pontarolo
Coorientador: Professora Dra. Wanda Moscalewski Abrahão
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. Análise de alimentos. 2. Sensibilidade e especificidade. 3. Listeriose. I. Pontarolo, Roberto. II. Abrahão, Wanda Moscalewski. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 576.163

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
http://www.farmaceuticas.ufpr.br

# TERMO DE APROVAÇÃO

## VANESSA RODRIGUES DE SOUZA

Título: **"REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE DE MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE *Listeria monocytogenes* EM ALIMENTOS"**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.

Prof. Dr. Roberto Pontarolo
Orientador

Profª. Drª. Thais Martins Guimarães de Francisco
Universidade Federal do Paraná

Profª. Drª. Luana Lenzi
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 10 de fevereiro de 2017.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida. Obrigada a meus pais pela oportunidade e incentivos para estudar. Também sou grata a meu namorado Maikow por todo apoio e companheirismo. Obrigada a meus amigos, ao pessoal do GEATS, especialmente Vinicius, Netto, Fernanda, Yohanna e a todos que colaboraram com este trabalho. Graças a profa. Wanda fui apresentada a área de microbiologia de alimentos, a qual me identifiquei e juntamente com a orientação do prof Pontarolo foi possível a realização desta dissertação. Gostaria de agradecer a prontidão e eficiência dos funcionários das bibliotecas da Universidade Federal do Paraná, em especial de Ciências da Saúde (Botânico) e Tecnológicas, os quais possibilitaram o acesso a alguns arquivos do acervo. Obrigada a Capes pela bolsa de mestrado e também a assistência estudantil de moradia concedida pela Casa do Estudante Universitário- CEU.

“Por vezes sentimos que aquilo
que fazemos não é senão uma gota de
água no mar. Mas o mar seria menor se
lhe faltasse uma gota”.
Madre Teresa de Calcuta

## RESUMO

Inúmeros surtos e casos de listeriose associados ao consumo de alimentos contaminados por *Listeria monocytogenes* tem sido relatados atualmente. Os métodos de identificação adotados pelas organizações oficiais para a pesquisa do patógeno em alimentos são dispendiosos de tempo e trabalho. Deste modo, uma gama de métodos alternativos está sendo desenvolvida com diferentes princípios e matrizes alimentares. Diante da falta de informações epidemiológicas mais atuais e do aparecimento de mais opções metodológicas para detecção de *L. monocytogenes,* a reunião e sistematização de evidências pode contribuir com futuras pesquisas no campo da microbiologia de alimentos. Os objetivos do presente estudo são verificar qual a prevalência de contaminação de *L. monocytogenes* em matrizes alimentares no mundo, levantar quais os métodos utilizados e tipos de alimentos mais estudados e avaliar os métodos alternativos desenvolvidos e validados através da sensibilidade e especificidade. Uma revisão sistemática quantitativa da literatura, englobando os descritores “Listeria monocytogenes”, “foodborne diseases” e “food analysis” e variantes foi realizada em diferentes bases de dados. Foram encontrados 3916 registros publicados de 1986 a 2016, dos quais 557 artigos foram selecionados para a leitura na íntegra. Os estudos incluídos (343) apresentaram métodos microbiológicos, bioquímicos, imunológicos, cromatográficos, espectroscópicos e moleculares, analisando os grupos de alimentos cárneos, lácteos, aquáticos, prontos para o consumo e hortifrutigranjeiros. Além disso, a estimativa da positividade de *L. monocytogenes* nas amostras dos estudos (apresentadas como taxa de evento e intervalo de confiança – IC de 95%) foi calculada pelo modelo de efeito randômico Bayesiano usando o programa *Comprehensive Meta Analysis* version 2. A estimativa geral foi de 5,6% (IC de 95%: 4,6–6,7%). Calculando por subgrupo de continentes e alimentos, a prevalência foi maior na America do Sul de 7,6% (IC 95%: 5,0 – 11,2%) e alimentos cárneos de 8.8% (IC 95%: 6,8 – 11,4%). Estes achados demonstram uma significante prevalência deste patógeno alimentar, apontando a importância de vigilância constante a fim de assegurar a qualidade e a segurança microbiológica. Apenas 40 estudos (21%) que abordaram desenvolvimento/validação de métodos possibilitaram a avaliação da sensibilidade e especificidade por contrastarem seus resultados com métodos oficiais de referencia. Os estudos revelaram taxas próximas a 100% em ambos os parâmetros, demonstrando que outras características como tempo e custo das análises devem ser levadas em consideração para a avaliação dos métodos alternativos em estudos posteriores. Conclui-se que os resultados a respeito dos métodos de identificação de *L. monocytogenes* e matrizes, contribuem para geração de evidências na área e subsidiam a condução de novos estudos e aperfeiçoamento dos métodos atuais para o controle da listeriose.



Palavras-chave: análise de alimentos; especificidade, *L. monocytogenes*; sensibilidade.

## ABSTRACT

Several outbreaks and cases of listeriosis associated with the consumption of contaminated food products by *Listeria monocytogenes* have been reported nowadays. The conventional methods adopted by the official organizations for the search of *Listeria monocytogenes* in foods are time-consuming and laborious. Thus, a large number of new methodologies with different principles and matrix are been developed. Due the lack of current epidemiologic data and the development of alternative option to identify *L. monocytogenes*, the systematic reunion of evidence may contribute towards future researches in the field of food microbiology. The aims of this study are to evaluate the prevalence rates of *L. monocytogenes* contamination worldwide, to explore the most used assays and the types of food matrix analyzed, and to evaluate the developed and validated alternative methods by its sensitivity and specificity. A quantitative systematic review of the literature, using the keywords “Listeria monocytogenes”, “foodborne diseases” and “food analysis” and its variants was performed in different databasis. It was retrieved 3916 records published between 1986 to 2016, 557 of which were selected for full text reading. The studies included (343) referred to microbiological, biochemical, immunological, chromatographic, spectroscopic and molecular assays, analyzing meat, diary, aquatic, ready-to-eat, vegetable, fruits and eggs products. The estimation of pathogen positivity (presented as event rate and 95% credible intervals - CI) was calculated by Bayesian-based random effect model using Comprehensive Meta Analysis version 2 with the food samples analyzed by the studies. The overall estimation was 5.6% (CI 95%: 4.6 – 6.7%). The subgroup analysis by continent and food matrix, revealed higher estimation in South America of 7.6% (CI 95%: 5.0 – 11.2%) and in meat samples of 8.8% (CI 95%: 6.8 – 11.4%). These findings demonstrate a significant prevalence *L. monocytogenes*, suggesting the importance of constant surveillance measures in order to guarantee food quality and microbiological safety. Only 40 studies (21%) from development/validation methods enable the sensitivity and specificity evaluation since they bring enough to contrast results against official reference methods. The results revelead rates near 100% for both parameters, showing that others characteristics like time and cost of analysis should be considered to evaluate alternative methods in further researches. To conclude, the results about the *L. monocytogenes* identification methods and matrix, contribute towards evidence generating in this field and subset new studies conduction and the development and improvement of the methods for listeriosis control.



Key-words: *L. monocytogenes*; specificity; sensitivity; food analysis.

## LISTA DE FIGURAS


FIGURA 1- SURTOS E CASOS POR DTA NO BRASIL DURANTE O PERÍODO DE 2000 A 2015..... 19

FIGURA 2- PATOGÊNESE DA LISTERIOSE EM INVASÃO DIRETA..... 24

FIGURA 3- GALERIA DO MÉTODO API..... 29

FIGURA 4- APARELHO MINI-VIDAS LISTERIA DUO..... 29

FIGURA 5- ESQUEMA RESUMIDO DAS ETAPAS DA REVISÃO SISTEMÁTICA..... 34

FIGURA 6- PROCESSO DE CONDUÇÃO DA REVISÃO SISTEMÁTICA..... 44

FIGURA 7- FLUXOGRAMA DA REVISÃO SISTEMÁTICA- ESTUDOS DE DETECÇÃO..... 47

FIGURA 8- DISTRIBUIÇÃO GRÁFICA DA QUANTIDADE DE TRABALHOS DE UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS POR REGIÕES GEOGRÁFICAS..... 48

FIGURA 9- METAREGRESSÃO DA TAXA DE EVENTO POR ANO..... 49

FIGURA 10- ANÁLISE DE CONTAMINAÇÃO DE *L. monocytogenes* EM ALIMENTOS POR SUBGRUPO DE REGIÕES GEOGRÁFICAS..... 49

FIGURA 11 ANÁLISE DE CONTAMINAÇÃO DE *L. monocytogenes* EM ALIMENTOS POR SUBGRUPO DE ALIMENTOS..... 50

FIGURA 12 PRINCIPAIS PATÓGENOS ALIMENTARES INVESTIGADOS NOS 51

ESTUDOS ALÉM DA *L. monocytogenes*.....

FIGURA 13 MÉTODOS EMPREGADOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes* EM ALIMENTOS..... 52

FIGURA 14 ANO DE PUBLICAÇÃO DOS ARTIGOS QUE OBJETIVARAM DESENVOLVER E/OU VALIDAR MÉTODOS..... 62

FIGURA 15 PATÓGENOS BUSCADOS PELOS MÉTODOS DE DESENVOLVIMENTO E/OU VALIDAÇÃO ..... 63

FIGURA 16 MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes* em alimentos..... 64

FIGURA 17 TAXA DE SENSIBILIDADE DOS MÉTODOS DE DESENVOLVIMENTO E/OU VALIDAÇÃO..... 65

FIGURA 18 TAXA DE SENSIBILIDADE DOS MÉTODOS DE DESENVOLVIMENTO E/OU VALIDAÇÃO..... 66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**Act A** *Actin-Based Axonal Migration*

**ANVISA/MS** Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde

**API** *Analytab Products* INC

**AOAC** *Association of Official Analytical Chemists*

**CDC** *Centers for Disease Control and Prevention*

**GC/MS** *Gas Cromatography/Mass Spectroscopy*

**CIM** Concentração Inibitória Mínima

**DTA** Doença Transmitida por Alimento

**EPS** Exopolissacarídeos

**FDA** *Food and Drud Administration*

**FN** Falso negativo

**FP** Falso positivo

**FSIS** *Food Safety and Inspection Service*

**FT-IR** *Fourier Transformer Infra Red Spectroscopy*

**HL** Hemolisinas

**In1A** Internalinas A

**In1B** Internalinas B

**ISO** *International Organization for Standardization*

**LLO** Listeriolisina O

**MALDI-TOF-MS** *Matrix-assisted laser desorption/ionization- time of fligh/mass spectrometry*

**MAPA** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**MBE** Medicina Baseada em Evidências

**MOPS-BLEB** Tampão de ácido morfoalino-propanosulfônico

**PCR** *Polymerase Chain Reaction*

**PFGE** *Pulsed-field gel electrophoresis*

**PTA** Processo Tecnológico analítico

**RDC** Resolução de Diretoria Colegiada

**SIM** Sulfato Indol Motilidade

**SPP** *Espécie*

**TSA-YE** *Tripticase Soy Agar- Yeast*

**UFC** Unidades Formadoras de Colônias

**USDA/FSIS** *United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service*

**UVM** *University of Vermont medium*

**VIDAS ®** *Vitek Immuno Diagnostic Assay System*

**VN** Verdadeiro negativo

**VP** Verdadeiro positivo

**WHO** *World Health Organization*

**SUMÁRIO**


**INTRODUÇÃO**
**CAPÍTULO 01: REVISÃO DE LITERATURA**
2.1 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS..... 19
2.1.1 Impacto das DTA..... 19
2.2 *Listeria monocytogenes.*..... 20
2.3 LISTERIOSE ALIMENTAR..... 21
2.3.1 Listeriose no Brasil..... 21
2.3.2 Pontos críticos nas indústrias alimentícias..... 22
2.4 *Listeria monocytogenes* NO HOSPEDEIRO..... 23
2.5 LEGISLAÇÃO E REGULAMENTOS TÉCNICOS RELACIONADOS..... 25
2.6 MÉTODOS DE DETECÇÃO..... 26
2.6.1 Principais métodos oficiais..... 26
2.6.1.1 Métodos ISO 11290..... 27
2.6.1.2 Métodos AOAC, FDA, USDA/FSIS..... 28
2.6.2 Métodos alternativos..... 28
2.6.2.1 Métodos imunológicos..... 30
2.6.2.2 Métodos moleculares..... 30
2.6.2.3 Métodos espectroscópicos..... 30
2.7 VALIDAÇÃO DE MÉTODO MICROBIOLÓGICO ALTERNATIVO..... 31
2.7.1 Especificidade..... 31
2.7.2 Exatidão..... 32
2.7.3 Precisão..... 32
2.7.4 Robustez..... 32
2.7.5 Sensibilidade..... 33
2.8 PERSPECTIVAS FUTURAS DOS MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS ALTERNATIVOS..... 33
2.9 REVISÕES SISTEMÁTICAS E META-ANÁLISES..... 34
**REFERENCIAS**

**CAPÍTULO 02: ESTUDOS DE UTILIZAÇÃO DE MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes* EM ALIMENTOS**
**1 INTRODUÇÃO..... 42**
**2 OBJETIVOS..... 43**
2.1 OBJETIVO GERAL..... 43
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO..... 43
**3 MATERIAL E MÉTODOS..... 44**
3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO..... 45
3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO..... 45
3.3 EXTRAÇÃO DE DADOS E ANÁLISE..... 45
**4 RESULTADOS..... 46**
4.1 RESULTADOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA..... 46
4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS..... 47
4.3 TAXA DE CONTAMINAÇÃO POR *L. monocytogenes* POR REGIÕES GEOGRÁFICAS..... 49
4.4 TAXA DE CONTAMINAÇÃO POR *L. monocytogenes* POR ALIMENTOS..... 50
4.5 INVESTIGAÇÃO DE OUTROS PATÓGENOS..... 50

4.6 MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes*..... 51
**5 DISCUSSÃO..... 52**
**6 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 54**
**REFERENCIAS**

**CAPÍTULO 03: DESENVOLVIMENTO E/OU VALIDAÇÃO DE MÉTODOS**
**1 INTRODUÇÃO..... 58**
**2 OBJETIVOS..... 58**
2.1 OBJETIVO GERAL..... 58
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO..... 59
**3 MATERIAL E MÉTODOS..... 59**
3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO..... 59
3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO..... 60
3.3 EXTRAÇÃO DE DADOS E ANÁLISE..... 60
**4 RESULTADOS..... 60**
4.1 RESULTADO DA REVISÃO SISTEMÉTICA..... 60
4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS..... 61
4.3 PATÓGENOS ALVO ALÉM DE *L. monocytogenes*..... 62
4.4 MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS..... 63
4.5 AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS. 64
4.5.1 Sensibilidade geral..... 65
4.5.2 Especificidade geral..... 66
**5 DISCUSSÃO..... 67**
**6 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 69**
**REFERENCIAS**
**APÊNDICE 1..... 72**
**APÊNDICE 2..... 75**
**APÊNDICE 3..... 110**

# INTRODUÇÃO

A listeriose, causada pela bactéria *Listeria monocytogenes*, é uma Doença Transmitida por Alimento (DTA) que configura um importante problema de saúde pública em nível mundial. Apesar de ser uma infecção relativamente rara, quando esta acomete determinados grupos de pessoas como crianças, mulheres grávidas, imunodeprimidos e idosos apresenta elevadas taxas de mortalidade (HUANG *et al*., 2011). O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) estima que cerca de 1.600 pessoas sejam afetadas e 260 mortes ocorrem por ano devido à listeriose (CDC, 2016).

Diversos tipos de alimentos foram relacionados à contaminação por *L. monocytogenes*, dentre eles vegetais, leite e derivados, carnes e produtos prontos para consumo, podendo a sua contaminação ocorrer nas etapas de produção, armazenamento, transporte ou pelo consumidor final (ROCOURT, 1999; CARRASCOSA *et al*., 2016).

As bactérias do gênero *Listeria* spp. apresentam velocidade reduzida de crescimento causando dificuldades na realização da identificação microbiológica, já que demanda um tempo de análise significativamente superior para que haja número populacional de bactérias suficiente para permitir a detecção pelo método. Ademais, a matriz alimentar constitui-se também como obstáculo, uma vez que os alimentos são complexos nutricionalmente e possuem microbiota agregada (ROSMINI *et al*., 2004; OTLES; KARTAL, 2016).

A detecção de Listeria é frequentemente realizada por análise microbiológica em meios de cultura adequados, associada aos métodos bioquímicos de identificação. Porém nos últimos anos, várias alternativas têm sido propostas para a identificação de micro-organismos em alimentos, destacando-se as técnicas imunológicas, métodos moleculares e espectrométricos. Apesar das técnicas convencionais demandarem um maior tempo, elas ainda se mantem como padrão ouro para isolamento, detecção e identificação de patógenos alimentares (CALLAWAY, 2009).

Devido à alarmante preocupação das autoridades sanitárias com os surtos de listeriose, estudos científicos estão sendo realizados a fim de avaliar a presença de *Listeria monocytogenes* em alimentos, buscando também o desenvolvimento e validação de novos métodos. Deste modo, surgem inúmeros desafios na escolha da técnica a ser adotada na análise microbiológica de alimentos, já que questões inerentes à precisão, custo, tempo de análise, aceitabilidade do método por órgãos

oficiais e comunidade científica, operacionalidade, treinamento e qualificação do analista, disponibilidade e qualidade de reagentes, meios de cultura e outros suprimentos, disponibilidade de espaço no laboratório, devem ser consideradas (BENNETTI, 2013, FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Dentro deste contexto de novas e numerosas informações sobre metodologias em microbiologia, surgem ferramentas importantes como as revisões sistemáticas e meta-análises que são capazes de reunir e sintetizar de maneira eficaz as evidências, disponibilizando evidências robustas sobre as metodologias para identificação de patógenos em alimentos pode ser capaz de nortear o pesquisador/clínico na escolha das metodologias mais adequadas, rápidas e precisas na detecção destes patógenos, contribuindo com a qualidade e a inocuidade de alimentos ofertados à população, e consequentemente, auxiliando nas ações de controle e prevenção de DTA.

Deste modo, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão sistemática com meta-análise dos métodos de identificação de *L. monocytogenes* em alimentos.

# CAPÍTULO 01- REVISÃO DE LITERATURA

# 1 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

As DTA são definidas segundo a Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001 (ANVISA/MS), como doenças causadas pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente, ou de seu produto tóxico (BRASIL, 2001).

Em 2014, foram registrados aproximadamente 600 surtos por DTA, acometendo cerca de 15.000 pessoas no Brasil. Porém, vale ressaltar que inúmeros casos não são reportados. A FIGURA 1 demostra o número de surtos, casos e doentes no Brasil por DTA durante o período de 2000 a 2015.

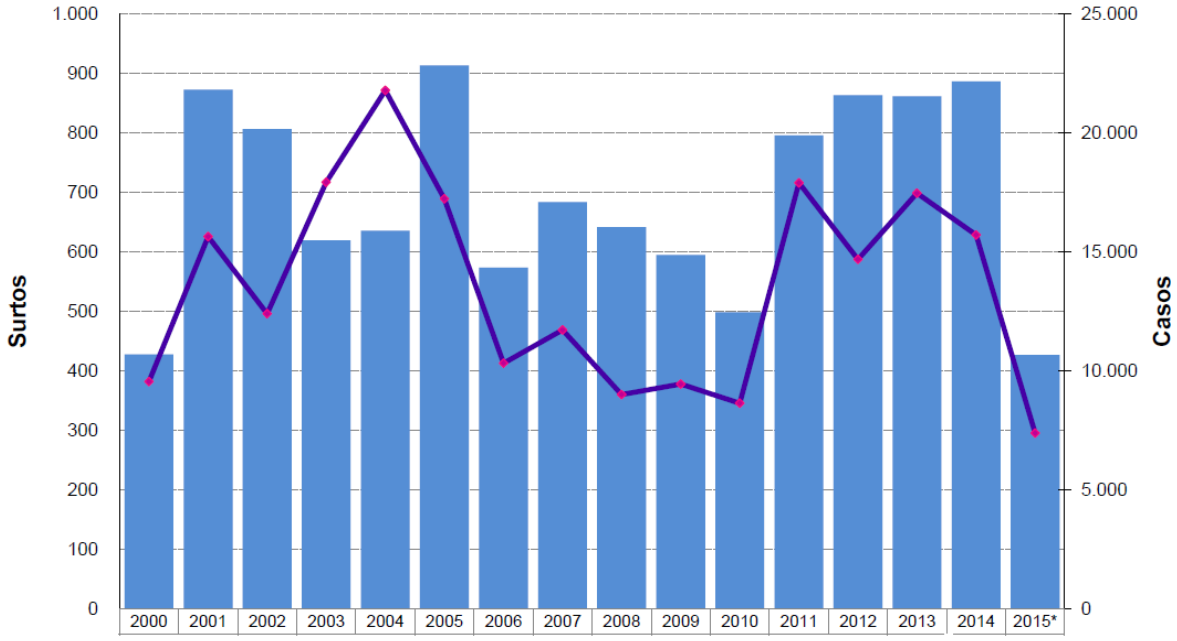



FIGURA 1 – SURTOS E CASOS POR DTA NO BRASIL DURANTE O PERÍODO DE 2000 A 2015. No eixo Y existem duas variáveis (Surtos e casos) em função do ano em que as mesmas ocorreram. Os surtos estão representados pela linha e os casos pelas colunas. *No momento em que os dados foram compilados as informações do ano de 2015 não estavam disponíveis por completo.
FONTE: BRASIL (2015).

## 1.1 Impacto das DTA

De acordo com a World Health Organization (WHO) é estimado que todos os anos 582 milhões de pessoas adoecem e, destas, 351 mil morrem por ingerirem alimentos contaminados (WHO, 2015). Os sintomas mais frequentes de DTA são: anorexia, vômitos, náuseas e diarreia, porém sintomas mais graves podem ocorrer e até mesmo ocasionar severas sequelas (BRASIL, 2015).

A Secretaria de Vigilância em Saúde apontou a *Salmonella* spp. como o principal agente etiológico causador dos surtos no Brasil, no período de 2000 a 2015 (BRASIL, 2015). Almeida e colaboradores (2013) enumeraram os patógenos mais frequentes nos surtos de DTA no estado do Paraná no período de 2005 a 2008, sendo eles: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Pseudomonas aeruginosa* e Clostrídios Sulfito Redutores.

Considerando o impacto das DTA na qualidade de vida da população e rendimento profissional, torna-se importante a produção de alimentos seguros para a redução de riscos de ocorrência dessas doenças (RAMOS, 2014).

A listeriose é uma DTA de baixa incidência, mas quando acomete pacientes de risco (nomeadamente os idosos, gestantes e pacientes imunocomprometidos) pode provocar quadros graves como encefalite, meningite e septicemia, apresentando altas taxas de fatalidade (20 a 30%) (RAMASWAMY *et al*., 2007, HENKEL *et al*., 2015).

## 2.2 *Listeria monocytogenes*

*Listeria* spp. não são patógenos primários dos animais e do homem, sendo considerados micro-organismos ambientais. Está presente nos solos, silagem, efluentes de esgoto, cursos d'água e de maneira secundária em mais de 50 espécies de animais, incluindo ruminantes, suínos, eqüinos, cães, gatos, e várias espécies de aves. *Listeria monocytogenes* é a espécie denominada como patogênica, causando a listeriose alimentar (GOMES, 2015).

*L. monocytogenes* é uma bactéria bacilar, Gram positiva, aeróbia e anaeróbia facultativa, móvel e pode crescer em um amplo intervalo de temperatura (desde -1,5 a 45°C), seu período de latência é longo (174 horas), em laboratório pode crescer no intervalo de pH de 4,3 a 9,6 e a atividade de água mínima para seu crescimento corresponde a 0,90 (LUNDÉN, 2004, BAKA *et al*., 2015).

Um fator importante na relação com a presença desta bactéria é a sua resistência a diversas condições ambientais, maior do que de muito outros patógenos não esporuladores transmitidos por alimentos, o que possibilita sua sobrevivência durante mais tempo e em condições adversas, como congelamento, secagem e salga (POSFAY-BARBE; WALD, 2009). Esta bactéria tem sido encontrada tanto em alimentos não processados (leite, carnes e vegetais), como

também nos processados, por exemplo, queijos, sorvetes, manteigas, salsichas (BENETTI *et al*., 2013, IANNETTI *et al*., 2016, MONTERO *et al*., 2015).

Os alimentos prontos para o consumo vem se destacando na transmissão de DTA. O aumento do consumo destes produtos, os quais são práticos e vão ao encontro das necessidades dos consumidores (ACNIELSEN, 2004), constituem uma importante fonte de contaminação.

Em trabalho realizado por Raposo e colaboradores (2015) nas Ilhas Canárias (Espanha) sobre amostras advindas de máquinas de venda de alimentos, em 5,7% das mesmas (6/105) havia a presença de *Listeria monocytogenes*, sendo os seguintes alimentos reportados: pasta de atum e milho, pasta de agrião, vegetais e sanduíche de peito de frango.

## 2.3 LISTERIOSE ALIMENTAR

A transmissão de muitos patógenos aos seres humanos ocorre pela má conservação dos alimentos, manipulação inadequada e consumo de alimentos crus entre outros. Este é o caso da contaminação de alimentos por *Listeria monocytogenes*, havendo adicional preocupação devido a sua capacidade de sobreviver e proliferar em alimentos mantidos sob temperatura de refrigeração (ROCOURT, 1999; ORSI; DEN BAKKER; VIEDMANN, 2011), ocorrendo diversos surtos por contaminação de diferentes alimentos, alarmando as autoridades sanitárias em nível mundial (DIRECTORATE, 2011).

### 2.3.1 Listeriose no Brasil

No Brasil, alguns estudos relacionaram a presença de *L. monocytogenes* a alimentos cárneos, o que causa grande preocupação pelo fato de o Brasil ser um grande produtor e exportador deste tipo de alimento. Araújo *et al*. (2006) em seu trabalho apontou que os produtos a base de carne de frango no Brasil apresentaram contaminação pelo patógeno. Além disto, pode ser encontrado na literatura trabalhos como o de Ristori e colaboradores (2014) que aponta uma preocupante taxa de contaminação por *Listeria* spp. (85%) do total das 552 amostras de alimentos cárneos em São Paulo, sendo que em 48,7% (269/552) havia a presença de *Listeria monocytogenes*.

Diante do elevado consumo dessa fonte de proteínas pela população, a presença de *Listeria* neste produto exige grande atenção. Uma vez que produtos à base de carne são frequentemente ligados a casos de listeriose, é gerada a necessidade do desenvolvimento de técnicas, formulações e embalagens menos propensas a contaminação por micro-organismos (BAKA *et al*., 2015). Além disso, para o controle do patógeno é necessário que sejam cumpridos corretamente os procedimentos de higiene e sanitização.

Cruz e colaboradores (2008) realizou um estudo sobre listeriose no Brasil, confirmando o fato de que os surtos e/ou casos de listeriose são subdiagnosticados e/ou subnotificados. Neste trabalho, foram citados alguns casos de listeriose em pacientes imunocomprometidos como transplantados renais, crianças e recém-nascidos. Também foi relatado que no ano 2000 na cidade de Porto Alegre, 50% das placentas provenientes de abortos ou partos prematuros eram positivas para *Listeria monocytogenes*, podendo associar casos de abortos à listeriose.

### 2.3.2 Pontos críticos nas indústrias alimentícias

A presença de *Listeria monocytogenes* nas instalações e equipamentos da indústria alimentícia é relativamente frequente, já que a mesma pode entrar na planta da indústria por inúmeras maneiras, como por exemplo, através das matérias primas. Uma vez que a bactéria se encontra nas instalações alguns fatores determinam a sua capacidade de sobrevivência - fatores ambientais, capacidade de formar biofilme, tolerância e resistência aos desinfetantes e higienização precária -, tornando-se assim um perigo na contaminação dos alimentos (KLANČNIK *et al*., 2015, SCHOBITZ; CIAMPI; NAHUELQUIN, 2009).

O surgimento de cepas resistentes está relacionado principalmente às deficiências nos mecanismos de controle deste patógeno na indústria, no que se refere às operações de limpeza, desinfecção e na detecção dos micro-organismos. A formação do biofilme se deve primariamente a adesão reversível da bactéria à superfície por meio de interações eletrostáticas e hidrofóbicas. Esta etapa é seguida pela adesão irreversível, a qual envolve a produção de exopolissacarídeos (EPS), que atuam cimentando as células da superfície e formando a matriz do biofilme (CURTER; HENNING, 2003). Este processo é muito rápido, constituindo o biofilme

como uma forma de resistência e proteção frente aos desinfetantes (ALLEN *et al*., 2015, SCHOBITZ; CIAMPI; NAHUELQUIN, 2009).

De modo geral, a tolerância a um desinfetante descreve a adaptação das bactérias ao mesmo, ou seja, observa um aumento da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Além do biofilme dificultar o acesso das moléculas ativas aos desinfetantes, parece que existem fenômenos de interação dessas substâncias com a matriz celular para a transferência do mesmo por difusão. Deste modo, as células entram em contato com concentrações subletais dos biocidas, favorecendo a tolerância frente aos principais ativos. No ambiente industrial, para o controle deste patógeno é exigida uma eficiente direção gerencial e recursos, em que a capacitação dos funcionários é fundamental para o controle do problema (CURTER; HENNING, 2003).

## 2.4 *Listeria monocytogenes* NO HOSPEDEIRO

Este patógeno usa uma variedade de mecanismos para resistir à resposta imune do hospedeiro, incluindo a sobrevivência intracelular. Sabe-se que esta bactéria pode infectar as células por dois diferentes mecanismos: invasão direta ou célula-célula. Em ambos os mecanismos, duas proteínas (invasinas) são de fundamental importância, sendo elas as internalinas A (In1A) e internalinas B (In1B) (POSFAY-BARB; WALD, 2009). A FIGURA 2 representa a patogênese da doença quando a *Listeria* invade a célula de forma direta:

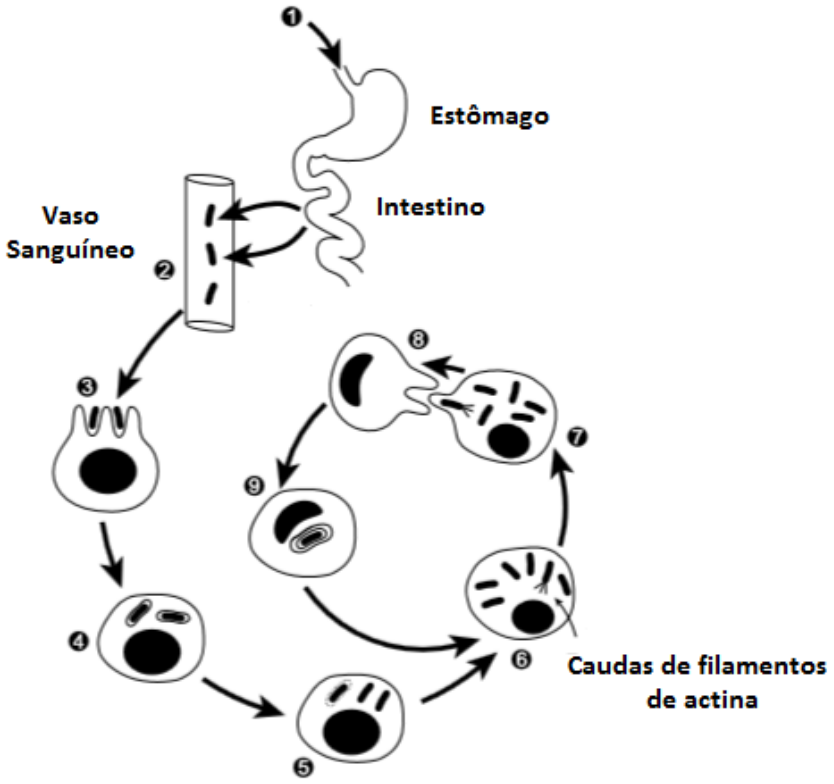



FIGURA 2 - PATOGÊNESE DA LISTERIOSE EM INVASÃO DIRETA (1) Ingestão da bactéria, (2) Passagem da bactéria do intestino para a circulação, (3) Internalização da bactéria por macrófagos, células polimorfonucleares e outras células, (4) *L. monocytogenes* em vacúlos intracelulares, (5) *L. monocytogenes* escapa do vacúolo fagocítico pela ação da proteína listeriolisina, (6) *L. monocytogenes* multiplica-se e forma uma cauda de filamentos de actina que permitem sua movimentação, (7) Empurrando a membrana a bactéria forma uma estrutura similar a pseudópodos, (8) O pseudópodo é fagocitado pela célula vizinha, (9) A célula fagocitária forma uma dupla membrana e internaliza o vacúolo.
FONTE: POSFAY-BARBE; WALD (2009) - Adaptado

Além das internalinas, inúmeras proteínas bacterianas são responsáveis pela invasão celular e virulência, sendo identificadas através da comparação de espécies patogênicas e não patogênicas. A listeriolisina O (LLO), uma proteína formadora de poros, pode ser citada como exemplo e foi o primeiro fator de virulência identificado em *Listeria monocytogenes* (LAM *et al*. 2012). De acordo com Gouin, Mengaud e Cossart (1994), a hemolisina (HL) é o mais importante fator de virulência da *Listeria* e três espécies são hemolíticas, sendo elas a *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* e *L. seeliger*.

Uma vez dentro do citoplasma, a bactéria multiplica-se rapidamente, migrando para a periferia da célula hospedeira e para dentro das protusões da

parede celular, sendo internalizada pela célula vizinha, assim como demosntrado na FIGURA 2. A ActA (*Actin-Based Axonal Migration*) é o fator de virulência responsável pela transmissão célula-célula, usando componentes do citoesqueleto da célula hospedeira para gerar a cauda em cometa de actina, e assim, permitir a contaminação de uma célula vizinha (MOSTOWY; COSSART, 2012).

Novos fatores de virulência para *Listeria monocytogenes*, como os genes envolvidos na virulência e fatores de resposta estão sendo descritos, mostrando quão complexa é a patogênese da doença e também os mecanismos regulatórios envolvidos (BAI *et al*., 2016; POSFAY-BARBE; WALD, 2009). Adicionalmente, a ampliação do conhecimento dos mecanismos de virulência possibilita o desenvolvimento de metodologias que tem esses fatores como alvo para a identificação do patógeno.

## 2.5 LEGISLAÇÃO E REGULAMENTOS TÉCNICOS RELACIONADOS

Algumas regulamentações no Brasil e no mundo visam o controle da contaminação de *L. monocytogenes* em alimentos. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou, em 8 de Abril de 2009, a Instrução Normativa número 9, a qual instituiu procedimentos de controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal, prontos para consumo (BRASIL, 2009).

Em relação ao padrão microbiológico vigente brasileiro, foi estabelecido apenas a ausência de *Listeria monocytogenes* em 25 g de leite e queijos de médio (36 a 45,9%), alto (46 a 54,9%) e muito alto teor de umidade (superior a 55%) (BRASIL, 2001). Em países como Austria, Coréia do Sul, Estados Unidos da América, Itália, Nova Zelândia, as autoridades sanitárias preconizam a ausência do patógeno em 25 g de alimentos crus. No entanto, alguns países da Europa estabelecem limites quantitativos inferiores a 100 UFC/g, sendo considerados mais realista em virtude da dificuldade de eliminação do patógeno em sua totalidade tanto em alimento quanto nas linhas de produção (BECKER *et al*., 2005).

Diante dos inúmeros surtos de listeriose, esta bactéria vem ganhando especial atenção das autoridades sanitárias e agências reguladoras, já que as mesmas estão responsáveis por garantir a segurança alimentar dos produtos disponíveis para consumo da população, no sentido de proporcionar materiais

educativos e manuais com práticas preventivas (CURTER; HENNING, 2003). Adicionalmente, há um crescente apoio e regulamentações para o aprimoramento de técnicas laboratoriais de detecção, identificação e quantificação de *L. monocytogenes* em alimentos.

## 2.6 MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes*

Há inúmeros métodos de detecção de patógenos alimentares na literatura e que são aplicados em laboratórios microbiológicos e de controle de qualidade, sendo categorizados em métodos oficiais e alternativos.

Métodos oficiais são reconhecidos como métodos analíticos de controle de referência oficiais. Esses métodos são em sua maioria clássicos de cultura, usando caldos seletivos ou ágar de crescimento, isolando o organismo alvo enquanto suprime a flora residente no alimento (BENETTI *et al*., 2013). Baseiam-se em consensos internacionais e por serem de livre acesso, relatam, por exemplo, a composição dos meios de cultura e as técnicas de maneira detalhada a fim de torná-las reprodutíveis. De modo geral, estes métodos são trabalhosos, demandam grande quantidade de meios de cultura e tempo para a execução e análise de dados (NYACHUBA; DONNELLY, 2007).

Durante as últimas décadas, há um grande interesse em metodologias mais rápidas. Baseados na melhoria dos métodos “padrão ouro”, métodos alternativos vem sendo desenvolvidos com a finalidade de contribuir para a obtenção de resultados confiáveis, e assim, para a segurança alimentar (ROSMINI *et al*., 2004, SILVA *et al*., 2015).

### 2.6.1 Princiais métodos oficiais

Os métodos convencionais oficiais para o isolamento de *L. monocytogenes* em alimentos são os descritos pelas seguintes organizações de aceitação internacional: *United States Food and Drug Administration* (FDA) *method*, *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) *official method*, *International Organization for Standardization* (ISO) e *United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service* (USDA/FSIS) (OIE, 2014).

Recomenda-se que estes métodos sejam utilizados de acordo com seus escopos, apesar de eles cobrirem uma grande variedade de matrizes alimentares. Vale ressaltar que a amostragem é essencial em todos os métodos, uma vez que a amostra deve ser representativa, incluindo a superfície e áreas internas do alimento. Em sua maioria, os métodos de cultura convencionais incluem uma etapa de enriquecimento baseada no uso de meio de cultura contendo agentes seletivos. A partir disto, faz-se o isolamento em meios seletivos sólidos (plaqueamento diferencial) e identificação convencional das colônias por testes bioquímicos e sorológicos (SILVA *et al*., 2010).

A exemplo, a prova bioquíca da catalase em que se transfere uma alçada da cultura a partir do tubo de TSA-YE (*Tripticase Soy Agar- Yeast*) para uma lâmina de microscopia, sendo o material coberto por uma gota de peróxido de hidrogênio 10 volumes sendo observado a ocorrência de borbulhamento imediato (teste positivo) ou não borbulhamento (teste negativo)- as cepas de *Listeria* spp. são catalase positivas. Outra prova bioquímica é denominada motilidade, em que inocula-se as cepas em tubos contendo meio semi-sólido Sulfito Indol Motilidade com adição de 0,05% de cloreto de trifeniltetrazolium (SIM modificado), com incubação em estufa a 25°C por até 7 dias observando-se diariamente (as cepas de *Listeria* spp. são móveis à temperatura de 25°C) e desenvolvem uma zona de migração típica espalhando-se na parte superior do meio e mantendo-se restritas à picada no fundo do tubo.

2.6.1.1 ISO 11290-1

É o método oficial mais empregado, caracterizando a presença ou ausência do micro-organismo na amostra analisada. No estágio de enriquecimento primário, a amostra é incubada em estufa a 30°C por 24 horas em Caldo Half Fraser suplementado. Posteriormente, segue-se o enriquecimento secundário a partir do primário e incubação em estufa a 30°C por 24 horas em caldo Fraser suplementado. A confirmação das colônias típicas desenvolve-se por meio da seleção destas, obtidas após plaqueamento seletivo, seguida pelo estriamento em tubos de TSA-YE, e incubadas a 30°C em estufa por 24 a 48 horas, destinado a purificação dos isolados (ISO 11290, 1996). As provas bioquímicas de identificação são empregadas com os isolados.

2.6.1.2 Métodos AOAC, FDA e USDA/FSIS

Da mesma maneira que os métodos ISO englobam estágios de enriquecimento, os métodos AOAC, FDA e USDA/FSIS também os fazem diferenciando os agentes seletivos de enriquecimento e plaqueamento diferencial. São empregados, por exemplo, nos métodos USDA o University of Vermont Medium (UVM), o qual apresenta ácido nalidixico e acriflavina. Já no segundo estágio, o enriquecimento é dado pelo caldo Fraser, contendo ácido nalidixico, cloreto de lítio, acriflavina ou tampão de ácido morfoalino-propanosulfônico (MOPS-BLEB). As condições de incubação dependem da matriz escolhida nas etapas de enriquecimento. Após isso, as culturas são plaqueadas no ágar MOX que contêm cloreto de lítio, colistina e moxalactam. A confirmação será dada por meio de métodos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos (OIE, 2014).

2.6.2 Métodos alternativos

Os métodos oficiais apresentam limitações, como demora em entregar os resultados. Adicionalmente, as ténicas convencionais de identificação baseadas em características fenotípicas podem dificultar a interpretação dos resultados quando não expressas (MALORNY *et al*., 2003). Deste modo, há um grande interesse no desenvolvimento de metodologias alternativas (ROSMINI *et al*., 2004).

Dada a importância que o resultado das análises microbiológicas representam como indicadores de qualidade e de controle de processo industrial (FREITAS; LEMOS; MARIN, 2006), há uma necessidade iminente de que estes dados sejam gerados de maneira ágil, até mesmo em tempo real, sendo parte da abordagem PTA (Processo Tecnológico Analítico).

Atualmente, na rotina laboratorial os kits comerciais de identificação já vêm sendo amplamente empregados. São exemplos o API (*Analytab Products* INC) Listeria® *system* (Biomerieux) e VIDAS® (*Vitek Immuno Diagnostic Assay System*) (Biomerieux). Pelo método API, uma pequena quantidade de crescimento bacteriano obtido em TSA-YE inclinado é transferida para uma ampola contendo 2 mL de água purificada estéril, obtendo-se uma suspensão bacteriana com turbidez de 0,5 pontos na escala de McFarland. A suspensão bacteriana é distribuída em cada microtubo e a câmara úmida contendo a galeria inoculada é incubada em estufa a 35°C por 18–

24 horas em condições aeróbicas. Uma gota de reagente de revelação é adicionada ao teste e, após 3 minutos, realizada a leitura de todos os testes (FIGURA 3). Os resultados obtidos são anotados em uma ficha como positivo ou negativo, de acordo com a coloração formada, sendo transcritos em uma combinação numérica a qual revela a identificação da espécie do micro-organismo. Caso a amostra seja apontada como positiva é necessário realizar a identificação bioquímica convencional para a confirmação (BIOMERIEUX, 2015).

FIGURA 3 – GALERIA DO MÉTODO API
FONTE: BIOMERIEUX (2015)

Outro kit de identificação muito utilizado é o conjunto VIDAS, em que uma alíquota do enriquecimento secundário é retirada e levada para aquecimento em banho-maria a 95°C-100°C por 15 minutos, arrefecendo-se o tubo imediatamente após tal período em banho de água fria. Em seguida, transfere-se 0,5 mL da amostra da etapa anterior para o poço do barrete mini-VIDAS Listeria Duo (FIGURA 4) e procede-se a análise automatizada, em que é possível a detecção imunológica simultânea de *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes* em cerca de 48 h (BIOMERIEUX, 2015).

FIGURA 4 - APARELHO MINI-VIDAS LISTERIA DUO.
FONTE: BIOMERIEUX (2015)

#### 2.6.2.1 Métodos imunológicos

O sistema de antígenos-anticorpos tem facilitado a realização de uma variedade de ensaios nos mais diversos formatos. Em alguns casos, o complexo antígeno-anticorpo formado é medido diretamente ou apenas visualmente. Tempo de incubação é normalmente curto para métodos de aglutinação comumente usados para a identificação rápida de micro-organismo. Normalmente, o articorpo é trabalhado com um reagente fluorescente ou com um enzima, permitindo assim a visualização (OIE, 2014). São exemplos de métodos imunológicos ensaios imunoenzimáticos (VIDAS), imunocaptura, imunoimobilização, coagutinação, entre outros.

#### 2.6.2.2 Métodos moleculares

Os avanços no desenvolvimento das técnicas que trabalham com ácidos nucleicos representam um grande avanço na Microbiologia, em que há uma rápida identificação de patógenos bacterianos. Neste contexto, a técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) é de grande destaque, pois possibilita a detecção pela busca de sequências de gene alvo. No entanto, a aplicação de técnicas moleculares é desafiadora, pela complexidade no manuseio da amostra (BATT, 1997).

São outros exemplos de métodos moleculares além das PCR (tempo real, de transcrição reversa, microarray), ribotipagem, sequenciamento e amplificação de DNA, *Pulsed-field gel electrophoresis* (PFGE), entre outros (USP, 2016).

#### 2.6.2.3 Métodos espectroscópicos

Dentre os métodos espectroscópicos, na microbiologia a espectrometria de massas destaca-se. O princípio básico da espectrometria de massas é gerar íons de compostos inorgânicos ou orgânicos por qualquer método apropriado, para separá-los pela sua razão massa-carga (m/z) (GROSS, 2011). A espectrometria, do tipo que utiliza uma matriz sólida e incidência de laser para a ionização e o “time of flight” (TOF) para análise dos íons é muito utilizada com amostras de bactérias, sendo conhecida como MALDI-TOF/MS (*Matrix-assisted laser desorption/ionization- time of fligh/mass spectrometry*). A partir do padrão dos íons gerados, é possível uma

análise utilizando um de banco de dados que possibilita a identificação da bacteriana até mesmo em nível de espécie (JADHAV, 2014).

## 2.7 VALIDAÇÃO DE MÉTODO MICROBIOLÓGICO

O uso de métodos alternativos vem corroborando com aperfeiçoamento das técnicas laboratoriais com o intuito da geração de resultados cada vez mais rápidos e seguros. No entanto, para assegurar a confiabilidade desses métodos é necessário o processo de validação dos mesmos, garantindo os níveis adequados de acurácia, precisão, limite de detecção, robustez, repetibilidade, reprodutibilidade, especificidade, linearidade e exatidão que permitem sua aplicação na rotina. Os métodos oficiais são aqueles que já estão validados e estabelecidos para uso. Para a validação de métodos analíticos existem alguns guias e protocolos já bem estabelecidos, porém o mesmo não ocorre em relação à validação de métodos alternativos microbiológicos, em que ainda há falta de informações e padronização (FREITAS; LEMOS; MARIN, 2006).

A partir do momento que um método é desenvolvido, o mesmo pode ser confrontado com um método oficial, gerando resultados verdadeiros positivos (VP), verdadeiros negativos (VN), falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). Com base nos dados fornecidos, é possível calcular a sensibilidade e especificidade para o método (ALTMAN, 1994).

Recentemente, em 2014 no Brasil, foi realizada uma consulta pública a fim de propor a incorporação do suplemento “Métodos Microbiológicos Alternativos” para um ententimento adequado do potencial de aplicação e de documentação de validação desses métodos. Em 2016, houve a publicação do suplemento na Farmacopéia Brasileira, informando que para a validação de métodos microbiológicos alternativos de identificação de micro-organismos são necessários os seguintes parâmetros: especificidade, exatidão, precisão e robustez (BRASIL, 2016).

### 2.7.1 Especificidade

A especificidade pode ser dada de acordo com a seletividade do método. Para os métodos não seletivos, tal parâmetro representa a capacidade em promover

uma resposta positiva para os diferentes micro-organismos previstos na amostra. O conceito de especificidade para os métodos seletivos engloba também os resultados negativos para os micro-organismos que não são de interesse para o método. Vale ressaltar que, independente da seletividade, quando se trata de método cuja interpretação do resultado não seja obtida por meio da leitura direta do crescimento microbiano deve ser demonstrado que componentes da matriz, contaminantes ou materiais estranhos não são capazes de promover resultados falsos positivos, sendo fundamental testar o maior número possível de micro-organismos (BRASIL, 2016).

A especificidade é tida como a taxa de verdadeiros negativos, ou seja, uma metodologia com uma alta especificidade evita falsos positivos. A equação matemática abaixo representa a especificidade:

$$Especifidade = \frac{VN}{(VN + FP)}$$

VN: verdadeiro negativo
FP: falso positivo

### 2.7.2 Exatidão

A exatidão representa a proximidade dos resultados obtidos experimentalmente em relação aos resultados esperados para a diluição microbiana utilizada ou àqueles obtidos pelo método tradicional. Geralmente é expressa como a % de recuperação de micro-organismos (BRASIL, 2016).

### 2.7.3 Precisão

A precisão é o grau de concordância entre os resultados de testes individuais quando o procedimento é aplicado repetidamente em suspensões homogêneas de micro-organismos contemplando a faixa de trabalho (BRASIL, 2016).

### 2.7.4 Robustez

A robustez é representada pelo grau de reprodutibilidade dos resultados obtidos por análise da mesma amostra com mudanças nas condições normais do teste, por exemplo, instrumentos, lotes de reagentes e laboratórios (BRASIL, 2016).

### 2.7.5 Sensibilidade

Embora não abordada entre os parâmentros de validação para métodos de identificação, a sensibilidade é de suma importância. A sensibilidade também é conhecida por taxa de verdadeiros positivos, ou seja, uma alta sensibilidade evita falsos negativos. A equação matemática abaixo representa a sensibilidade:

$$Sensibilidade = \frac{VP}{(VP + FN)}$$

VN: verdadeiro negativo
FP: falso positivo

## 2.8 PERSPECTIVAS FUTURAS DOS MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS ALTERNATIVOS

Existe uma necessidade de novos métodos e tecnologias na microbiologia farmacêutica e de alimentos. A medida em que se aumenta o acesso à tecnologia, podem ser desenvolvidos uma infinidade de testes diagnósticos. No entanto, os mesmos devem ser adequados, ou seja, apresentarem operacionalidade, tempo e custos racionais, sensibilidade e especificidade (BENETTI *et al*., 2013). Deste modo, futuramente espera-se maior padronização e informações a respeito da validação/comparação de métodos alternativos microbiológicos na rotina.

Embora técnicas sofisticadas (cromatografia, espectrometria, tecnologias dos ácidos nucléicos) proporcionem resultados satisfatórios, outras metodologias como as da plataforma de biossensores descatam-se por sua rapidez, baixo custo e operacionalidade. Os biossensores combinam um elemento de reconhecimento biológico (enzima, anticorpo, receptor) com um transdutor capaz de produzir um sinal mensurável. São utilizados como *screening* (rastreio), permitindo um maior rendimento de amostras a um custo menor e com menos treinamento do operador. Vale ressaltar que a análise é realizada em tempo real, vindo ao encontro das demandas e necessidades comerciais (MCGRATH; ELLIOTT; FODEY, 2012).

Com o aperfeiçoamento dos métodos é possível fazer a correção antecipada de perigos de contaminação, contribuindo com dados epidemiológicos e ações de prevenção de DTA no mundo. Da mesma forma, outras ferramentas da

epidemiologia, como revisões sistemáticas e meta-análises, podem ser capazes de direcionar futuras pesquisas na área da microbiologia e embasar o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas laboratoriais.

## 2.9 REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISES

Denomina-se revisão sistemática da literatura a revisão planejada da literatura científica, que utiliza métodos sistemáticos para identificar, selecionar e avaliar criticamente estudos relevantes sobre uma questão claramente formulada (SOUZA; RIBEIRO, 2008).

A FIGURA 5 apresenta um esquema resumido das etapas de realização de uma revisão sistemática:

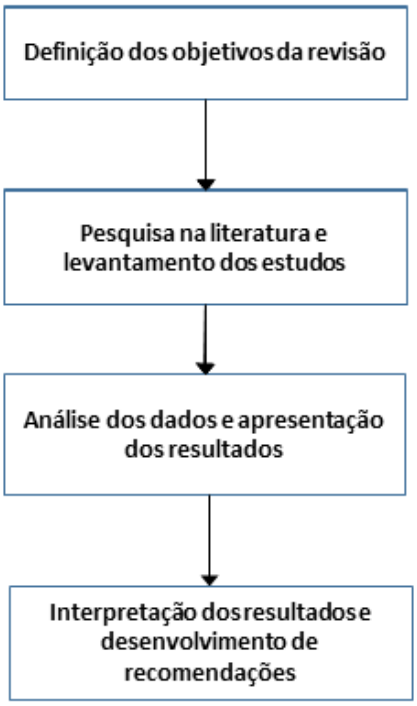



FIGURA 5 – ESQUEMA RESUMIDO DAS ETAPAS DA REVISÃO SISTEMÁTICA.
FONTE: O AUTOR, 2017.

Inicialmente é formulada a pergunta, a qual deve ser muito bem formulada para minimizar dúvidas na inclusão dos estudos. Após isso, os estudos devem ser buscados nas bases de dados eletrônicas e selecionados. Além disso, é importante verificar as referências bibliográficas dos estudos relevantes e pesquisar manualmente algumas referencias. Deve-se fazer uma avaliação crítica dos estudos para posteriormente coletar os dados de interesse. Os dados devem ser

apresentados de forma gráfica e numérica. A interpretação dos dados baseia-se na determinação da força da evidência encontrada, a aplicabilidade dos resultados, informações sobre custo e a prática corrente que sejam relevantes.

A revisão sistemática pode ser utilizada em várias áreas do conhecimento, mas aparecem com maior frequência na busca de provas científicas de intervenção na área de saúde na qual podem responder diferentes questionamentos como por exemplo sobre a acurácia de diagnósticos, etiologia, fatores de risco, assuntos epidemiológicos, custo-efetividade e risco-benefícios de terapias (BERWANGER *et al.*, 2007).

As mesmas podem ainda conter um componente estatístico. A meta-análise é uma análise dos estudos primários incluídos na revisão sistemática que é realizada por meio de *softwares* adequados, e assim aumentam seu poder estatístico e precisão das evidências encontradas. Uma revisão sistemática de boa qualidade seguida de meta-análise pode apresentar resultados estaticamente significantes e oferecer informações importantes para tomadas de decisão em saúde e para embasamento de futuras pesquisas e desenvolvimento de técnicas (THE COCHRANE COLLABORATION, 2011).

Em comparação com estudos primários, as revisões sistemáticas com meta-análises apresentam maior validade e confiabilidade, principalmente por apresentar maior número amostral e quantidade de grupos populacionais. Para realização da meta-análise, os dados dos ensaios primários devem ser combinados estatisticamente e os resultados são apresentados geralmente em gráficos, como os de florestas (CORDEIRO *et al.*, 2007). De forma geral, os estudos incluídos nas meta-análises podem ser avaliados por medida de efeito (como risco relativo, Odds ratio) com respectivo intervalo de confiança (em geral de 95%, IC 95%), o qual permite a avaliação do limite inferior e superior desse intervalo.

Além disso, através de regressões estatísticas, pode-se observar se há relação entre variáveis (por exemplo, aumento da taxa de evento com o passar do tempo). Quando estas regressões são aplicadas em meta-análises, são denominadas meta-regressão (BORENSTEIN *et al*., 2009)

**REFERENCIAS**

ACNIELSEN GLOBAL SERVICES. **Os produtos mais quentes do mundo. Relatório executivo de notícias**, 2004. Disponível em:< http://www.acnielsen.com.br/publicacoes/alimentos_e_bebidas_2004.pdf>. Acesso em: 25/05/2015.

ALLEN, K. J. *et al*. *Listeria monocytogenes* - An examination of food chain factors potentially contributing to antimicrobial resistence. **Food Microbiology**, p. 1-12. 2015.

ALMEIDA, J. C.; PAULA, C. M. S.; SVOBODA, W. K.; LOPES, M. O.; PILONETTO, M. P.; ABRAHÃO, W. M.; GOMES, E. C. Perfil epidemiológico de casos de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos no Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 1, p. 97-106, 2013.

ALTMAN, D. G., BLAND, J. M. Diagnostic tests. 1: Sensitivity and specificity. **BMJ**. v. 308, n. 1552. 1994.

ARAÚJO, M. R. *et al*. Prevalência de sorotipos de *Listeria monocytogenes* em Produtos Comercializados em Pelotas, BRASIL. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 150, p. 181, 2006.

BAI, J., Kim, Y., Ryu, S.., Lee, J. Biocontrol and Rapid Detection of Food-Borne Pathogens Using Bacteriophages and Endolysins. **Front Microbiol**. v. 7, p. 1-15. 2016

BAKA, M., NORIEGA, E., STAMATI, I., LOGIST, F., VAN IMPE, J.F. Critical assessment of the time-to-detection method for accurate estimation of microbial growth parameters. **J. Food Saf**. v. 35, p. 179–192. 2015.

BATT, C. A. Symposium: molecular probes – Theory and Application. Molecular Diagnostics for Diary-Borne Pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 1, 1997.

BECKER, B.; JORDAN, S.; HOLZAPFEL, W. H. Rapid and specific detection of *Listeria monocytogenes* in smoked salmon with BAX®-PCR. **Food Control**, v. 16, n. 8, p. 717-721, 2005.

BENETTI, T. M., MONTEIRO, C. L. B., BEUX, M. R., ABRAHÃO, W. M. Enzyme-linked imunoassays for the detection of *Listeria* sp. and *Salmonella* sp. in sausage: A comparison with conventional methods. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 44, n. 3, p. 791-794, 2013.

BERWANGER, O., SUZUMURA, E. A., BUEHLER, A. M., OLIVEIRA, J. B. Como avaliar criticamente revisões sistemáticas e metanálises? **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 4, p.475-480, 2007.

BIOMERIEUX. ***Listeria monocyotogenes***. Disponível em:< http://www.biomerieux.com.br/industrial-

microbiology/Biofarmac%C3%AAutico/identifica%C3%A7%C3%A3o-e-genotipagem-microbiana >. Acesso em: 10/11/2015.

BORENSTEIN, M., HEDGES, L. V., HIGGINS, J. P. T., ROTHSTEIN, H. R. **Introduction to Meta-Analysis**. Chapter 20: Meta-Regression. John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-05724-7. 2009.

BRASIL. Ministerio da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 9, de 8 de Abril de 2009. Aprova Procedimentos de controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo. **Diário Oficial da União. Brasília**, D.F., 8 de Abril de 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública n°45, de 02 de Julho de 2014**. Métodos Microbiológicos Alternativos (Método Geral da Farmacopeia Brasileira).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, D.F., 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, **Vigilância epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos**. Brasília – DF, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5a ed. Brasília. Material suplementar p. 33-35.

CALLAWAY, J. R. **Development of a Rapid Detection Assay for *Listeria monocytogenes* on Ready-to-Eat Meat, Food-Contact and Non-Contact Surfaces**. 2009. Colorado State University.

CARRASCOSA, C., MILLÁN, R., SAAVEDRA, JABER, J. R., RAPOSO, A., SANJUÁN, E. Identification of the risk factors associated with cheese production to implement the hazard analysis and critical control points (HACCP) system on cheese farms. **J. Dairy Sci**. v. 99, p. 1–11.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Listeria (Listeriosis)**. 2016. Disponível em:<https://www.cdc.gov/listeria/technical.html>. Acesso: 02/01/2017.

CORDEIRO, A. M, CordeiroI, A. M., Oliveira, G. M., Rentería, J. M., Guimarães, C. A. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 34, n. 6, p.428-431, 2007.

CRUZ, C.D.; MARTINEZ, M.B.; DESTRO, M.T. *Listeria monocytogenes*: an infectious agent scarcely known in Brazil. **Alim. Nutr**., v. 19, n. 2, p. 195-206, 2008.

CURTER, C. N.; HENNING, W. R. **Control de *Listeria monocytogenes* em Pequñas Plantas Procesadoras de Carnes y Aves**. The Pennsylvania State University; 2003.

DIRECTORATE, F. **Policy on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods**. Health Products and Food Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario, 2011.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu; 2005.

FREITAS, E. I., LEMOS, A. A., MARIN, V. A. Validation of qualitative alternative methods in the detection of food-born pathogens. **Ciência & Saúde Coletiva**. v. 11, n. 4, p. 1073-1083. 2006.

GOMES, M. J. P. Gênero ***Listeria*** **spp**. 2015. Disponivel em: www.ufrgs.br/labacvet/files/Gênero%20Listeria%204-2015.pdf. Acesso: 05/06/2015.

GOUIN, E.; MENGAUD, J.; COSSART, P. The virulence gene cluster of *Listeria monocytogenes* is also present in Listeria ivanovii, na animal pathogen, and *Listeria seeligeri,* a nonpathogenic species. **Infect. Immun**., Washington, v.62, p.3550-3553,1994.

GROSS, J. Electrospray Ionization. In: GROSS, J. Mass Spectrometry: A Textbook. 2. ed. **Springer**, p.560-620, 2011.

HENKE, D., RUPP, S., GASCHEN, V., STOFFEL, M. H., FREY, J., VANDEVELDE, M., OEVERMANN, A. *Listeria monocytogenes* spreads within the brain by Actin-Based Axonal Migration. **Infection and Immunity**, v. 83, n. 6, p. 2.409-2.419, 2015.

HUANG, Y. T.; LIAO, C. H.; YANG, C. J.; TENG, L. J.; WANG, J. T.; HSUEH, A. P. Listeriosis, Taiwan, 1996–2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 9, p. 1731-1733, 2011.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method, International Standard ISO 11290-1**: 1996, Geneva, Switzerland. Disponível em: http://www.iso.org/iso/em/CataloqueListPage.CataloqueList?ICS1=07&ICS2=100&ICS3=30&scopelist=. Acesso em: 01/02/2016.

JADHAV, S., SEVIOR, D., BHAVE, M, PALOMBO, E. A. Detection of *Listeria monocytogenes* from selective enrichment broth using MALDI-TOF MS. **Journal of Proteomics**, v. 97, p. 100-106, 2014.

KLANČNIK, A., TOPLAK, N., KOVAČ, M., JERŠEK H. M. B. Quantification of *Listeria monocytogenes* cells with digital PCR and their biofilm cells with real-time PCR. **Journal of Microbiological Methods**. v. 118, p. 37–41. 2015.

LAM, G. Y.; CZUCZMAN, M. A.; HIGGING, D. E.; BRUMELL, J. H. Interactions of *Listeria monocytogenes* with the autophagy system of host cells. **Advances in Imunology**, v. 113, 2012.

LUNDÉN, J. **Persistent *Listeria monocytogenes* contamination in food processing plants**. 2004. (Dissertação). Department of Food and Environmental Hygiene - Faculty of Veterinary Medicine- University of Helsinki, Finland.

MALORNY, B., TASSIOS, P. T., RADSTROM, P., COOK, N., WAGNER, M, HOORFAR, J. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. **Int J Food Microbiol**. v. 83, n. 1, p. 39-48, 2003.

MCGRATH, T. F., ELLIOTT, C. T., FODEY, T. L. Biosensors for the analysis of microbiological and chemical contaminants in food. **Anal Bioanal Chem**. v. 403, n. 1, p. 75-92. 2012.

MOSTOWY, S.; COSSART, P. Virulence factors that modulate the cell biology of Listeria infection and the host response. **Advances in Imunology**, v. 113, 2012.

NYACHUBA, D. G., DONNELLY, C. W. Comparison of 3M Petrifilm environmental Listeria plates against standard enrichment methods for the detection of *Listeria monocytogenes* of epidemiological significance from environmental surfaces. **Journal of food science**. v. 72, p. 346-54. 2007.

OIE. World Assembly of Delegates for Animal Health. ***Listeria monocytogenes***. 2014.

ORSI, R. H.; DEN BAKKER, H. C.; WIEDMANN, M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. **Int J Medical Microbiol**. 301, p. 79-96, 2011.

OTLES, S., KARTAL, C. Solid-Phase Extraction (SPE): Principles and Applications in Food Samples. **Acta Sci Pol Technol Aliment**. v. 15, n. 1, p. 5-15. 2016.

POSFAY-BARBE, K. M.; WALD, E. R. **Listeriosis**. Semin Fetal Neonatal Med, v. 14, n. 4, p.228-33, 2009.

RAMASWAMY, V. *et al*. Listeria – Review of epidemiology and pathogenesis. **Journal of Microbiology and Immunology and Infection**, v. 40, p. 4-13, 2007.

RAMOS, M. B. **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas**. Rio de Janeiro: EPSJV, 2014.

RAPOSO, A. C., C.; PÉREZ, E.; SAAVEDRA, P.; SANJÚAN, E.; MILLAN, R. Vending machines: Food safety and quality assessment focused on food handlers and the variables involved in the industry. **Food Control**, v. 56, 2015.

RISTORI, C. A., ROWLANDS, R. E., MARTINS, C. G., BARBOSA, M. L., YOSHIDA, J. T., FRANCO, B. D. Prevalence and populations of *Listeria monocytogenes* in meat products retailed in Sao Paulo, Brazil. **Foodborne Pathog Dis**, v. 11, n. 12, p.969-73, 2014.

ROCOURT, J. **The genus Listeria and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy, and identification**. In: RYSER, E.T.; MARTH, E.H. Listeria, listeriosis, and food safety. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1999. p.1-20.

ROSMINI, M. R., SIGNORINI, M. L., SCHNEIDER, R., BONAZZA, J. C. Evaluation of two alternative techniques for counting mesophilic aerobic bacteria in raw milk. **Food Control**, v. 15, n.1, p.39-44. 2004.

SCHOBITZ, R.; CIAMPI, L.; NAHUELQUIN, Y. *Listeria monocytogenes* Um peligro latente para la indústria alimentaria. **Agro Sur**. pg 1-8. 2009.

SILVA, N. J. V., SILVEIRA N. F. A., TANIWAKI, N. H., SANTOS, R. F. S., GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo, SP: 2010.

SILVA, G. B. L., Silva, C. M., de Sá, L. Z. C. M., Rocha, M. L., Gil, E. S., Alves, V. F., Torres, I. M. S. Solid phase cytometry applied to sterility tests for injecting 0.9% sodium chloride. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 9, p. 1051-61. 2015.

SOUZA, M. R., RIBEIRO, A. L. P. Revisão Sistemática e Meta-análise de Estudos de Diagnóstico e Prognóstico: um Tutorial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, n. 3, p. 241-251. 2008.

THE COCHRANE COLLABORATION. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 5.1.0**. Oxford, England, Higgins JPT, Green S, editors. 2011.

UNITED STATE PHARMACOPEIAL CONVENTION. Workshop: **Testes Microbiológicos: Métodos Rápidos**. São Paulo. 10 e 11/11/2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Day 2015: **From farm to plate, make food safe**. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/food-safety/en/. Acesso em: 02 mai. 2015.

# CAPÍTULO 02: ESTUDOS DE UTILIZAÇÃO DE MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytones* EM ALIMENTOS

## 1 INTRODUÇÃO

Os surtos de listeriose ao redor do mundo representam um grande problema de saúde pública, uma vez que a taxa de fatalidade desta doença varia de 20% a 30% (HUANG *et al*., 2011; GELLIN; BROOME,1989). Sua ocorrência tem sido retratada principalmente em países desenvolvidos (POSFAY-BARBE; WALD, 2009), conforme ilustrado pelo QUADRO 1, porém não há informações atuais ou dados de prevalência em todos os continentes.

| Ano | Local | Veículo | Número de casos | Taxa de óbito (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1979 | Massachusetts, EUA | Vegetais crus | 20 | 25 |
| 1981 | Nova Scotia, Canadá | Salada de repolho | 41 | 43,9 |
| 1983 | Massachusetts, EUA | Leite pasteurizado | 49 | 28,6 |
| 1985 | Califórnia, EUA | Queijo mexicano | 142 | 33,8 |
| 1983-1987 | Suiça | Queijo | 122 | 27,9 |
| 1988-1989 | Reino Unido | Patê | - | - |
| 1989 | Connecticut, EUA | Camarão | 10 | 0 |
| 1992 | França | Geléia de língua de porco | 279 | 30,5 |
| 1993 | Itália | Salada de arroz | 18 | 0 |
| 1994 | Illinois, EUA | Achocolatado pasteurizado | 48 | 0 |
| 2011 | EUA | Melão | 147 | 22,4 |
| 2013 | EUA | Ricota | 22 | 18,2 |
| 2013 | Austrália | Queijo camenbert e brie | 3 | 33,3 |
| 2013 | Chile | Queijo camenbert | 34 | 14,7 |
| 2014 | EUA | Queijo fresco | 8 | 12,5 |
| 2016 | EUA | Salada | 11 | 9,1 |

QUADRO 1 - SURTOS DE LISTERIOSE QUE OCORRERAM POR INGESTÃO DE ALIMENTOS CONTAMINADOS. Os surtos de listeriose alarmaram as autoridades sanitárias na Europa e América do Norte por levarem inúmeras pessoas à morte, sendo estabelecidas medidas de controle à contaminação por *L. monocytogenes*.
FONTE: SLUTSKER, SCHUCHAT (1999); DESTRO (2006); CDC (2016) – Adaptado.

Os surtos de listeriose que ocorreram em nível mundial refletiram na melhoria dos métodos de detecção para *Listeria* em alimentos. Por outro lado, a falta de notificação da doença, despreparo de profissionais, meios de diagnóstico e recursos limitados, juntamente com a presença de outras epidemias de maior prioridade que listeriose nos países em desenvolvimento, fez com que esta doença fosse relacionada aos países desenvolvidos (MOLLA; YILMA; ALEMAYEHU, 2004).

Dentro deste contexto, pode-se fazer a análise de que a listeriose não é relacionada aos países em desenvolvimento não pelo fato de não ocorrer, mas sim,

pelos problemas elencados anteriormente. Apesar disto, houve aumento no número de casos de listeriose e alimentos contaminados por *L. monocytogenes* relatados em países em desenvolvimento como em países latino-americanos e africanos (CORDANO; JACQUET, 2009; SOBRINHO *et al*., 2012; DERRA *et al*, 2013).

Além disso, como destacado no capítulo anterior, já são encontrados na literatura diferentes métodos de detecção de *L. monocytogenes*, aplicados a diversos grupos de amostra de alimentos, os quais podem ser opções, tanto para países desenvolvidos como em desenvolvimento, para aplicação em laboratórios e controle de qualidade.

Assim, a reunião e sistematização desse tipo de evidências em um contexto em que há falta de informações epidemiológicas e laboratoriais, visa contribuir com a geração de dados das taxas de contaminação de listeriose no mundo, identificação dos grupos alimentares e métodos de identificação mais estudados e auxiliar na elaboração de planos de controle e vigilância mais efetivos.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Conhecer os métodos de identificação de *L. monocytogenes* em matriz alimentar.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão sistemática de estudos que identificaram *L. monocytogenes* em matrizes alimentares;
- Conhecer as características dos estudos (onde e quando foram publicados), amostras empregadas e taxas de contaminação reportadas;
- Verificar se houve um aumento da taxa de contaminação por *L. monocytogenes* em alimentos com o passar dos anos;
- Estimar dados de prevalência de contaminação por *L. monocytogenes*, tanto por grupo de alimentos como por região geográfica;
- Identificar os métodos mais utilizados para a identificação de *L. monocytogenes*;

- Verificar quais outros patógenos são analisados em conjunto com a *L. monocytogenes*.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada de acordo com as recomendações da Colaboração para revisões sistemáticas e meta-análises descritas em "*Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions"* (THE COCHRANE COLLABORATION, 2011), conforme apresentado na Figura 6.

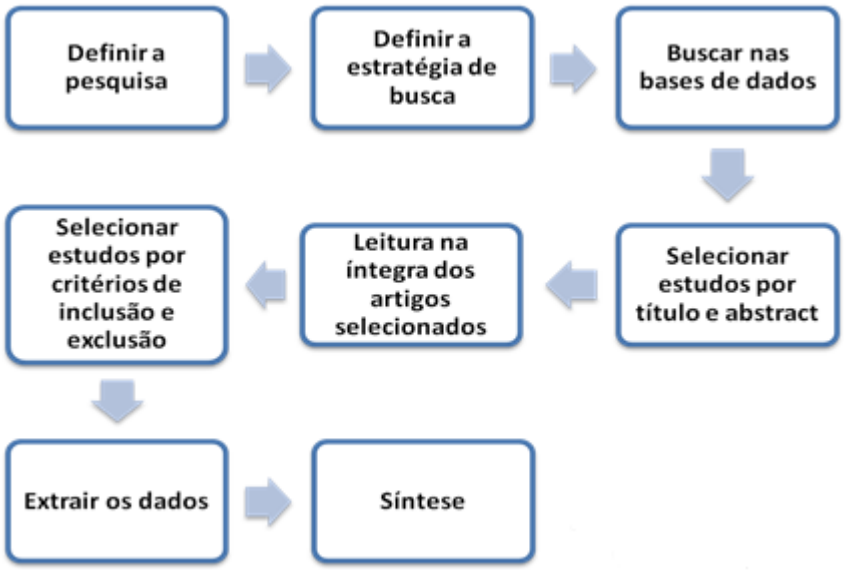



Figura 6: PROCESSO DE CONDUÇÃO DA REVISÃO SISTEMÁTICA.
FONTE: TONIN (2015)- adaptado.

Procedeu-se a busca da revisão sistemática por meio das seguintes bases de dados: MEDLINE (via Pubmed), Web of Science (Isi of Knowledge) e Scopus conforme demonstrado no APÊNDICE 1. Para um melhor gerenciamento dos trabalhos, foi utilizado o software Mendeley. Dois revisores independentes realizaram a busca sistemática e selecionaram os artigos baseado no título e resumo. Após esta etapa, os revisores compararam os estudos incluídos em reunião de consenso. Havendo discordância, um terceiro revisor foi consultado. Os artigos selecionados foram então lidos independentemente na íntegra e novamente após a leitura passou-se a comparação dos resultados pelos revisores, com participação de

um terceiro pesquisador em casos de dúvida. Dos estudos incluídos após a leitura integral, foi realizada extração de dados.

## 3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos estudos analisando qualquer tipo de matriz alimentar, por meio de método de identificação ou quantificação de *Listeria monocytogenes* em qualquer idioma (exceto aqueles cujos caracteres eram não romanos) publicados até Agosto de 2016.

## 3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Excluíram-se artigos de revisão, relatórios de agências, estudos de casos de listeriose e outros que não atendiam ao critério de inclusão, como trabalhos em que as matrizes não englobavam os alimentos, ou estudos referindo-se a patentes de técnicas ou metodologias.

## 3.3 EXTRAÇÃO DE DADOS E ANÁLISE

As características gerais dos estudos (nome do autor, ano e local de publicação), dados do método analítico empregado e tipo de amostra foram extraídos. Os alimentos foram classificados em (i) frutos do mar, (ii) lácteos, (iii) frutas/vegetais/ovos, (iv) cárneos, (v) prontos para o consumo. Outras informações como patógenos analisados além da *L. monocytogenes*, tamanho amostral, e taxas positivas de contaminação (prevalência) foram coletadas.

As taxas de contaminação foram tratadas estatisticamente (meta-análises) usando o software *Comprehensive Meta Analysis* (CMA) versão 2. Os dados foram agrupados pelo modelo de efeito randômico e estimados para cada estudo em um intervalo de confiança de 95%. As análises de subgrupo foram realizadas por regiões geográficas (Europa, Asia, America do Sul, America do Norte, África e Oceania). A heterogeneidade entre os estudos foi avaliada pelo teste estatístico $I^2$, o qual é considerado alto quando superior a 50%. A análise de meta-regressão foi feita usando o modelo linear de efeito randômico correlacionando a taxa de evento

com o ano de publicação dos estudos, ou seja, se as amostras apresentaram uma tendência de maior taxa de contaminação com o passar dos anos.

Os demais dados foram tratados, e a eles aplicada a estatística descritiva através de cálculos de frequência relativa, proporções e gráficos, utilizando tabelas pré-elaboradas no Microsoft Excel 2007.

# 4 RESULTADOS

## 4.1 RESULTADOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA

Realizando a busca pelos estudos, foram identificados inicialmente 3916 registros, dentre os quais 1146 eram duplicatas. Após a triagem por título e resumo 557 foram selecionados para a leitura na íntegra. Após a leitura na íntegra foram identicados 124 estudos referentes à identificação de *L. monocytogenes* em um grupo amostral de alimentos. A Figura 7 ilustra o processo geral de condução desta revisão sistemática, destacando ao final os estudos de interesse para este capítulo.

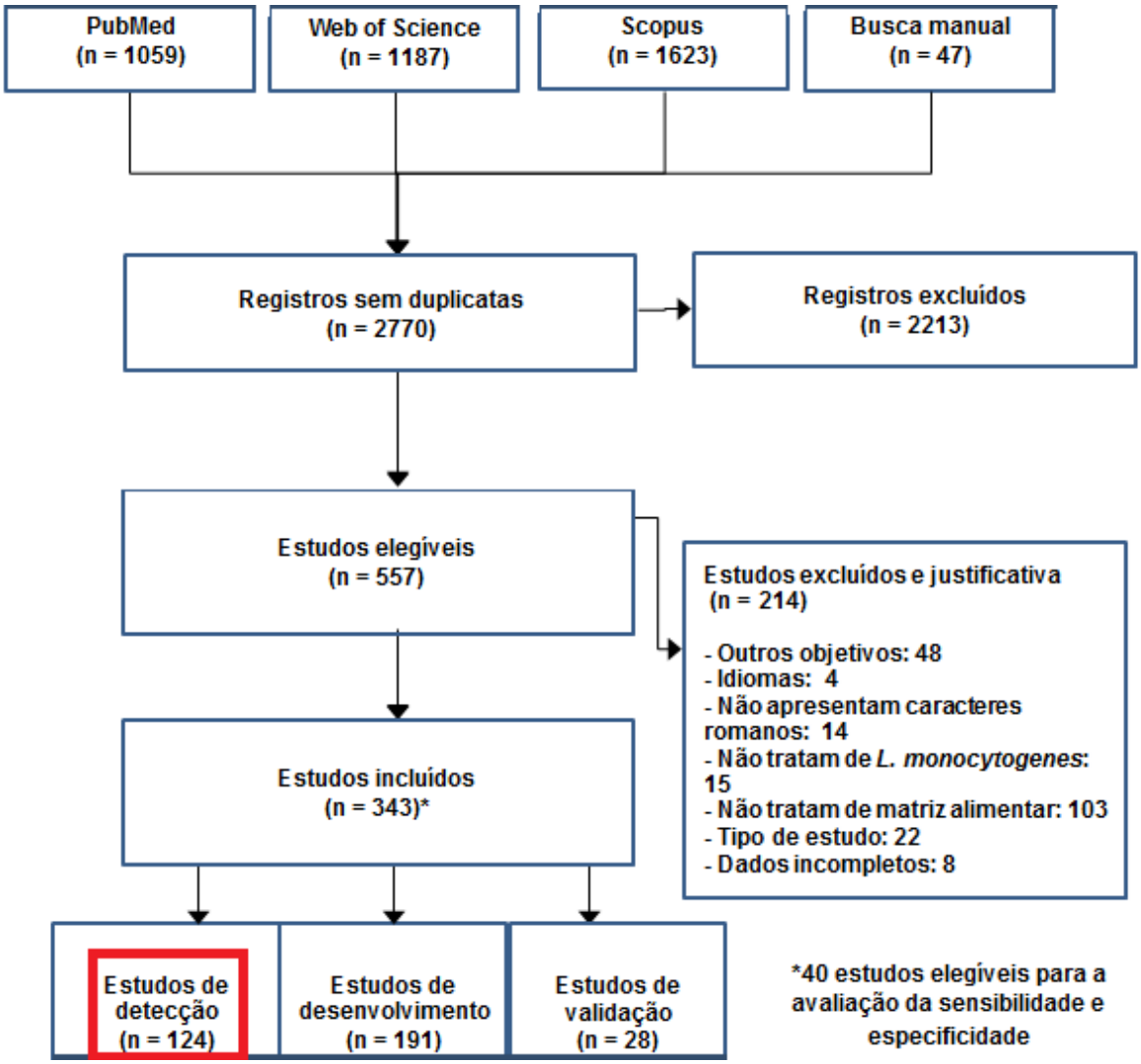



FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DOS PROCESSOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA- ESTUDOS DE DETECÇÃO.

## 4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Foram incluídos 124 estudos de identificação de *L. monocytogenes* realizados por todo o mundo, conduzidos em sua maioria no continente Europeu (36,3%) (Figura 8).

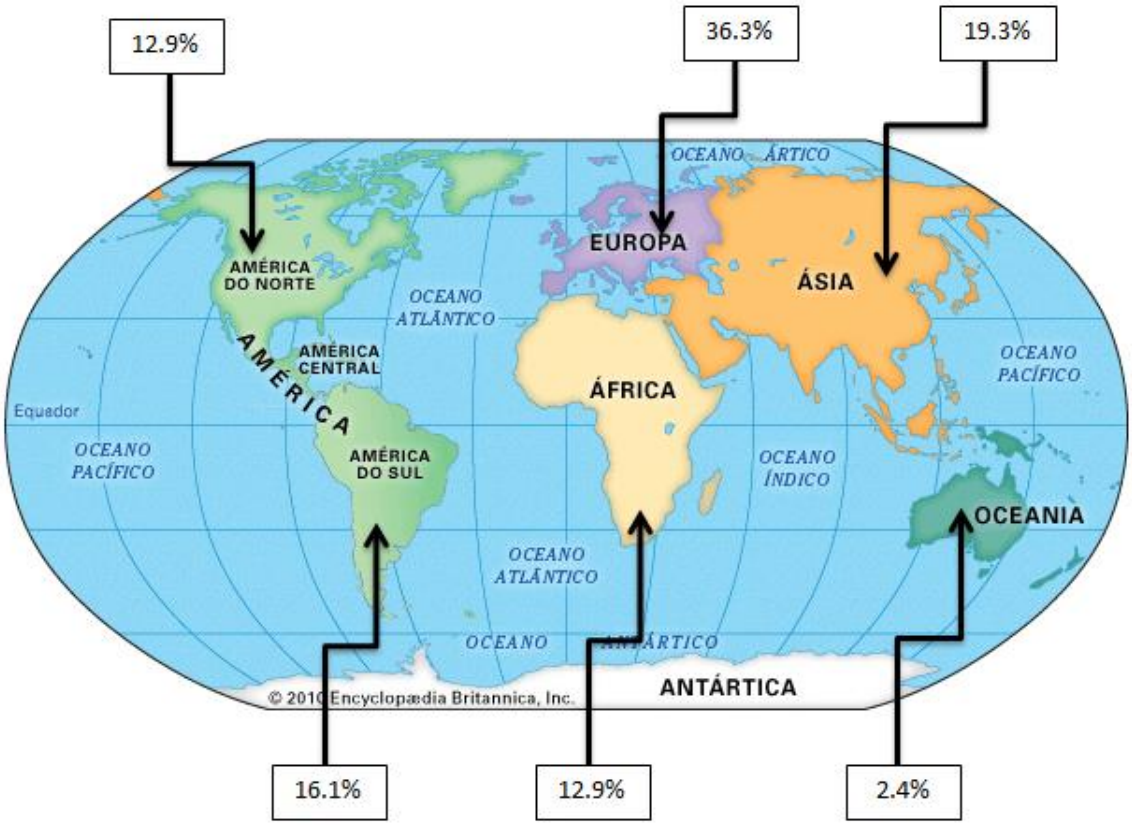



FIGURA 8 - DISTRIBUIÇÃO GRÁFICA DA QUANTIDADE DE TRABALHOS DE ESTUDOS DE UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS POR REGIÕES GEOGRÁFICAS.
N= 124 estudos

Somando-se o número amostral de cada estudo, obtivemos 65.756 diferentes amostras de alimentos. Os grupos de alimentos mais estudados foram: cárneos (26%), lácteos (24%), prontos para o consumo (24%), frutos do mar (15%) e hortifrutigranjeiros (9%). Os estudos incluídos foram publicados entre os anos de 1988 a 2015, não sendo observado aumento nas taxas contaminação das amostras com o passar dos anos (R= 0,01 taxa de evendo/ano), como demonstrado na meta-regressão da Figura 9.

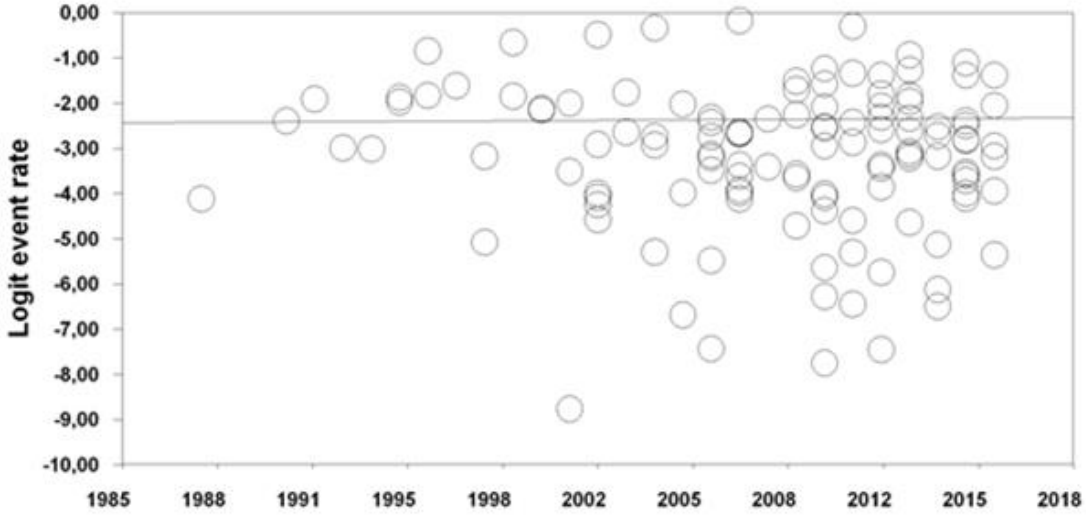



FIGURA 9 – METARREGRESSÃO DA TAXA DE EVENTO (TAXA DE CONTAMINAÇÃO) POR ANO DE PUBLICAÇÃO (R= 0,01 taxa de evento/ano).
N= 124 estudos

## 4.3 TAXA DE CONTAMINAÇÃO POR *L. monocytogenes* POR REGIÕES GEOGRÁFICAS

Considerando os valores individuais de contaminação pelo patógeno nos 124 estudos incluídos, uma meta-análise por subgrupo de continente pelo modelo de efeito randômico bayesiano, revelou que a estimativa geral de contaminação por *L. monocytogenes* foi de 5,6% (IC 95%: 4,6 – 6,7%). A maior taxa encontrada se deu na America do Sul 7,6% (IC 95%: 5,0 – 11,2%) e a menor na Oceania 1,9% (IC 95%: 0,3% - 13,1%) (Figura 10).

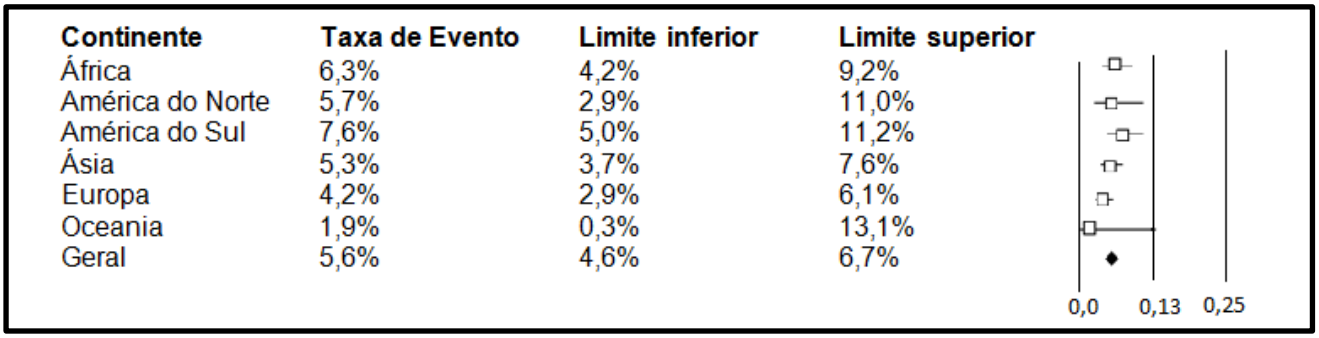



FIGURA 10 – ANÁLISE DE CONTAMINAÇÃO DE *L. monocytogenes* EM ALIMENTOS POR SUBGRUPO DE REGIÕES GEOGRÁFICAS. A representação é dada por um gráfico de floresta, em que a prevalência geral é dada pelo diamante. Obteve-se nesta análise um $I^2 > 50\%$.
N= 124 estudos

## 4.4 TAXA DE CONTAMINAÇÃO POR *L. monocytogenes* POR GRUPO DE ALIMENTOS

Em relação aos grupos de alimentos, quando realizada análise por subgrupo pelo modelo de efeito randômico Bayesiano, os cárneos apresentaram a maior contaminação- 8,8% (IC 95%: 6,8 – 11,4%), enquanto os lácteos foram os com menores taxas de contaminação 2,9% (IC 95%: 2,1 – 4,0%) (Figura 11). Alimentos que não se enquadraram na classificação dos grupos de alimentos estabelecidos foram classificados como outros; água, trufas (*Tuber aestivum* e *Tuber melanosporum ascocarps*), cacau, alho, farinhas e sementes.

| Grupo de alimento | Taxa de evento | Limite inferior | Limite superior |
|---|---|---|---|
| Frutos do mar | 5,8% | 3,1% | 10,8% |
| Lácteos | 2,9% | 2,1% | 4,0% |
| Cárneos | 8,8% | 6,8% | 11,4% |
| Outros | 6,4% | 3,8% | 10,6% |
| Prontos p/ consumo | 4,2% | 2,9% | 6,2% |
| Hortifrutigranjeiros | 4,1% | 2,7% | 6,0% |
| Geral | 5,1% | 4,4% | 6,0% |

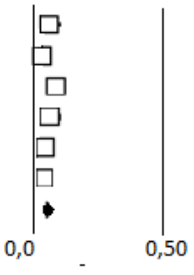



FIGURA 11 – ANÁLISE DE CONTAMINAÇÃO DE *L. monocytogenes* EM ALIMENTOS POR SUBGRUPO DE ALIMENTOS. A representação é dada por um gráfico de floresta, em que a prevalência geral é dada pelo diamante. Obteve-se nesta análise um $I^2 > 50\%$.
N= 124 estudos

## 4.5 INVESTIGAÇÃO DE OUTROS PATÓGENOS

A maior parte dos estudos (69,4%) analisou a presença de outros patógenos enquanto investigava a contaminação *L. monocytogenes*. Em relação a estes estudos, as espécies de Listerias (32,7%), *Samonella* spp. (20,4%), *E. coli* (13,6%), *Staphylococcus* spp. (11,1%), *E. coli* O157:H7 (5,5%), *Campylobacter* spp. (4,3%) e Bacillus spp. (3,1%) foram as mais relatadas (Figura 12). Outras bactérias não foram frequentemente encontradas (menor que 2%), como *Clostridium* spp., *Micobacteriun* spp., *Aeromonas* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Yersinia* spp., *Brucella* spp., *Pseudomonas* spp.

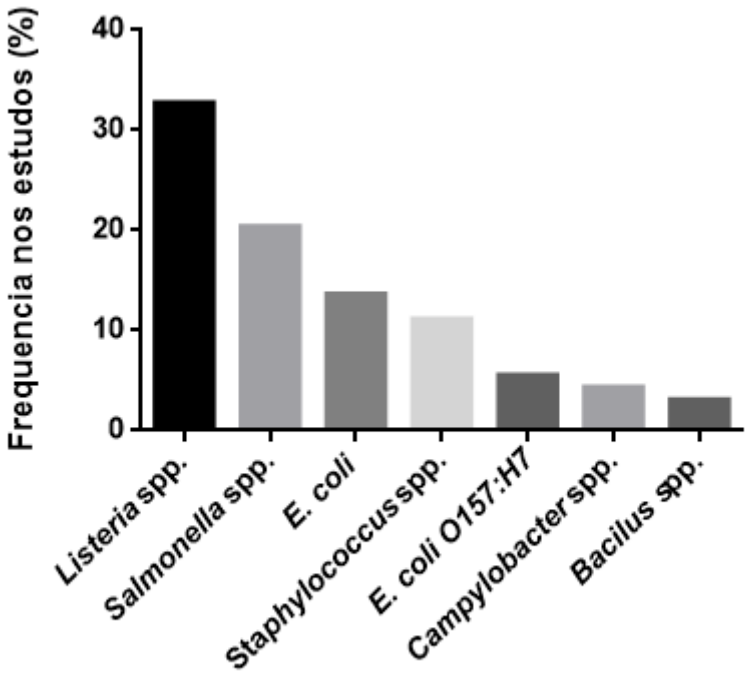



FIGURA 12 – PRINCIPAIS PATÓGENOS ALIMENTARES INVESTIGADOS NOS ESTUDOS ALÉM DA *L. monocytogenes*.
N= 124 estudos

## 4.6 MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes*

Os métodos encontrados nestes 124 estudos avaliados diferiram em sua maioria nas etapas de identificação do patógeno. Os métodos de identificação mais empregados foram baseados em técnicas bioquímicas convencionais (32,6%) e na reação em cadeia da polimerase (PCR) (32,6%), seguidos por kits comercias: 21,5% API *Listeria*® (Biomerieux) e 7,4% *VIDAS*® (Biomerieux). Outras técnicas (citometria de fluxo, Micro ID, *cell cititoxic assay*, Microbact 12L test) representaram 5,9% dos estudos (Figura 13).

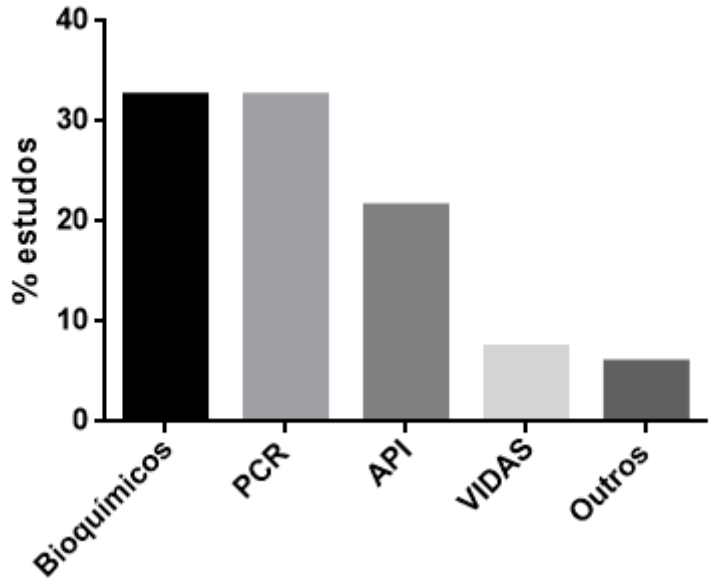



FIGURA 13 – MÉTODOS EMPREGADOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes* EM ALIMENTOS.
N= 124 estudos

## 5 DISCUSSÃO

A listeriose já foi associada a países desenvolvidos (POSFAY-BARBE; WALD, 2009), no entanto o presente estudo aponta que as maiores taxas de contaminação de alimento por *L. monocytogenes* foram na América do Sul e África. Estes achados reinteram a crença que existe falta de conhecimento técnico, estrutura física, recursos limitados e acometimento por outras doenças infecciosas de maior prioridade que a listeriose em países em desenvolvimento (MOLLA; YILMA; ALEMAYEHU, 2004). Além disso, um reporte de casos apropriado desta doença deve ser aplicado a fim de contribuir com os dados epidemiológicos.

Em relação aos anos de publicação dos estudos, os mesmo se concentraram a partir do ano de 2005, não sendo verificado um aumento de taxa de contaminação com o passar do tempo. No entanto, também não foi apontada uma diminuição dos casos, demonstrando que a listeriose permanece um problema constante de saúde pública.

Uma alta taxa de contaminação em amostras cárneas foi encontrada pelas análises. Tal resultado vem ao encontro das expectativas, uma vez que o ambiente de processamento deste produto culmina em uma elevada probabilidade de

contaminação. Apesar disto, o cozimento dos cárneos reduz o risco de transmissão de listeriose (VITAS *et al*., 2004).

Outro grupo de alimentos relacionado à listeriose é o de frutos do mar, em que alguns destes são consumidos sem tratamento térmico. Já os lácteos, apesar de serem amplamente relacionados aos surtos de listeriose, neste estudo apresentaram-se com menores taxas de contaminação por *L. monocytogenes*, provavelmente devido ao fato de já existir maior controle das autoridades sanitárias sobre os mesmos.

Dada a presença do patógeno tanto em alimentos crus e processados, é importante ressaltar o tratamento térmico antes do consumo, especialmente para pessoas imunocomprometidas. Além disso, a contaminação cruzada (quando células do patógeno são transferidas do alimento cru para alimentos cozidos) deve ser considerada (VEIGA, 2008). O CDC, recomenda que alimentos crus devam ser mantidos sem o contato com alimentos preparados. É sempre necessária a adequação às medidas de higiene pessoal e ambiental para assegurar a segurança dos alimentos (POSFAY-BARBE; WALD, 2009).

Diante dos dados apresentados, como o Brasil está inserido no continente com a maior prevalência de *L. monocytogenes* em amostras alimentares, um reforço na aplicação de medidas de controle e prevenção da listeriose é necessário, ainda mais porque o Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de carnes do mundo (ABPA, 2016).

De modo geral, os estudos vêm relatando a pesquisa de outros micro-organismos nos grupos amostrais avaliados para um monitoramento mais efetivo, sendo verificada a pesquisa de outras espécies de Listeria e também indicadores da qualidade do produto, matéria-prima e de boas práticas de manipulação. Grande destaque é dado à pesquisa de *Salmonella* spp em conjunto com *L. monocytogenes*, uma vez que a salmonelose é uma das DTA que mais atinge a população (MEAD *et al*. 1999), estando sua pesquisa presente nos padrões microbiológicos vigentes de diversos produtos nas mais variadas localidades.

Assim, percebe-se que o emprego de metodologias de detecção de múltiplos patógenos podem ser vantajosas porque detectam diversos micro-organismos ao mesmo tempo, porém deve-se atentar aos viés introduzido por este tipo de abordagem, uma vez que o crescimento de determinados patógenos pode prejudicar o crescimento de outros (OIE, 2014).

Os métodos mais empregados para identificar *L. monocytogenes* ainda permanecem os convencionais (bioquímicos), sendo empregados amplamente os kits API® (Biomerrieux) e VIDAS® (Biomerrieux). Em estudo realizado por Oktay e Heperkan (2006) ao comparar o método ISO 11290 (identificação convencional por provas bioquímicas) e VIDAS® em queijos, manteigas e batatas cozidas, obteve nas amostras naturalmente contaminadas 100% de sensibilidade e especificidade para o VIDAS®.

Em relação a PCR, a mesma revolucionou os diagnósticos em microbiologia sendo a sua utilização cada vez mais presente; porém sua aplicação na rotina (e ambiente industrial) esbarra em alguns fatores como o custo e falta de treinamento dos operadores (PANGALLO; KUCHTA; DRAHOVSKA, 2001).

Vale mencionar o elevado índice de heterogeneidade entre os estudos avaliados ($I^2 > 50\%$), dado pelo fato de os mesmos ocorrerem em variadas matrizes, localidades e com diferentes métodos, no entanto através da análise global destes resultados pelo modelo de efeito randômico (própria para análises de estudos heterogêneos) é possível obter valiosas informações a respeito desta doença e que vem a contribuir com a geração de evidências neste campo de estudo.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

.

As taxas de contaminação alimentar por *L. monocytogenes* ainda atingem níveis significativos tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento. Há assim uma necessidade de notificação adequada das DTA, bem como ações de prevenção e controle de qualidade alimentar mais rígidos e para diferentes matrizes de alimentos. Os métodos convencionais de identificação do patógeno, apesar da literatura evidenciar algumas desvantagens com relação ao tempo de análise, custos e materiais empregados, ainda são os mais utilizados para o monitoramento de amostras. Porém, percebe-se que o desenvolvimento de métodos alternativos poderia contribuir significativamente com a segurança e qualidade microbiológica dos alimentos. Ressalta-se ainda a importância de métodos de detecção múltipla de patógenos que visam economizar recursos e poderiam ser empregados em diversos ambientes de trabalho e países do mundo.

**REFERENCIAS**

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANINAL. **Relatório Anual 2016**. Disponível em:< http://abpa-br.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf >. Acesso em: 01/12/2016.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. **Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Packaged Salads Produced at Springfield, Ohio Dole Processing Facility (Final Update)**. Disponível em:< https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/bagged-salads-01-16/index.html>. Acesso em: 11/12/2016.

CORDANO, A. M.; JACQUET, C. *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable salads sold at supermarkets in Santiago, Chile: Prevalence and strain characterization. **International Journal of Food Microbiology**. v. 132, p. 176–179. 2009.

DESTRO, M. T. **Controle de *Listeria monocytogenes* no ambiente industrial: boas práticas e HACCP são suficientes**? International Life Sciences Institute. 2006. Disponível em: <http://www.ilsi.org/Brasil/Documents/controle%20Listeria%20envio%20-%20site.pdf>. Acesso em: 25/06/2015.

DERRA, F. A., KARLSMOSE, S., MONGA D. P., MACHE, A., SVENDSEN, C. A. *et al*. Occurrence of *Listeria* spp. in Retail Meat and Dairy Products in the Area of Addis Ababa, Ethiopia. **Foodborne Pathogens And Disease**. v. 10, n. 6, p. 577-9, 2013.

GELLIN, B. G.; BROOME, C. V. Listeriosis. **JAMA**. n. 261, p. 1313–20, 1989.

HUANG, Y. T.; LIAO, C. H.; YANG, C. J.; TENG, L. J.; WANG, J. T.; HSUEH, A. P. Listeriosis, Taiwan, 1996–2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 9, p. 1731-1733, 2011.

MEAD, P. S., SLUTSKER, L., DIETZ, V., MCCAIG, L. F., BRESEE, J. S., SHAPIRO, C., GRIFFIN, P. M. Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. **Emerg Infect Dis**. v. 5, n. 5, p. 607-25. 1999.

MOLLA, B.; YILMA, R.; ALEMAYEHU, D. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail meat and milk products in Addis Ababa, Ethiopia. **Ethiop.J.Health Dev**., v. 18, n. 3, p. 208-12, 2004.

OKTAY, H. M.; HEPERKAN, D. Evaluation of ISO Method and VIDAS automated System for Identifying Listeria and Salmonella in Selected Foods. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**, v. 14, p. 133-145, 2006.

OIE. World Assembly of Delegates for Animal Health. ***Listeria monocytogenes***. 2014.

PANGALLO, D. K. E., KUCHTA, T., DRAHOVSKA, H. Detection of *Listeria monocytogenes* by polymerase chain reaction oriented to inlB gene. **New Microbiol**. v. 24, p. 333-9. 2001.

POSFAY-BARBE, K. M.; WALD, E. R. **Listeriosis**. Semin Fetal Neonatal Med, v. 14, n. 4, p.228-33, 2009.

SLUTSKER, L.; SCHUCHAT, A. **Listeriosis in humans**. In: RYSER, E.T.; MARTH, E.H. Listeria, listeriosis, and food safety. 2.ed. New York: Marcel Dekker, p. 75-97. 1999.

SOBRINHO, P. S. C., FARIA, C. A. M, PINHEIRO, J. S., ALMEIDA, H. G. A., PIRES, C. V., SANTOS, A. S. Bacteriological Quality of Raw Milk Used for Production of a Brazilian Farmstead Raw Milk Cheese. **Foodborne pathogens and disease**. v. 9, n. 2, p. 138-44. 2012.

THE COCHRANE COLLABORATION. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 5.1.0**. Oxford, England, Higgins JPT, Green S, editors. 2011.

TONIN, F. S. **Revisão sistemática com meta-análise da eficácia e segurança de novos antipsicóticos para o tratamento da esquizofrenia**. (Dissertação) Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2015.

VEIGA, M. M. L. ***Salmonella* spp. em carcaças e miúdos de frangos resfriados comercializados em Botucatu** (dissertação). 2008. Universidade Estadual Paulista. São Paulo.

VITAS, A. I., GARCIA-JALON. V. A. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). **International journal of food microbiology**. v. 90, p. 349-56, 2004.

# CAPÍTULO 03: DESENVOLVIMENTO E/OU VALIDAÇÃO DE MÉTODOS

# 1 INTRODUÇÃO

A detecção de *L. monocytogenes* tradicionalmente envolve métodos de cultura baseados em enriquecimento seletivo e plaqueamento, seguida pela caracterização morfológica e bioquímica. Estes métodos são considerados “padrão ouro” em microbiologia, porém são demorados e requerem uma grande quantidade de material (BERNARDI *et al*., 2015; NYACHUBA; DONNELLY, 2007). Adicionalmente, essa demora em entregar resultados reduz o tempo comercial de circulação do produto, tendo impactos comerciais desfavoráveis.

Encontram-se na literatura estudos sobre métodos alternativos para a detecção rápida de *L. monocytogenes*, tais como ensaios imunológicos, espectroscópicos e moleculares (JADHAV *et al*., 2014; KAWASAKI *et al*., 2007; KIM *et al*., 2015; LI *et al*., 2014; SHI *et al*., 2015). Ainda há pouca evidência reunida sobre a especificidade e sensibilidade destes métodos quando comparado com os métodos tradicionais para apoiar o seu uso na prática.

Diante da diversidade de métodos e matrizes alimentares (conforme verificado no capítulo 02) se faz necessária a síntese e disponibilização na literatura dos métodos que estão sendo desenvolvidos e validados, verificando se há uma preocupação por parte dos pesquisadores em conduzir também as devidas comparações com os métodos oficiais que sejam capazes de promover o uso dessas novas alternativas e também evidencias de comparação entre os mesmos com os métodos oficiais.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Pesquisar os métodos de identificação de *L. monocytogenes* em alimentos que estão sendo desenvolvidos e/ou validados

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão sistemática de estudos que desenvolveram e/ou validaram um método microbiológico para identificação de *L. monocytogenes* em matrizes alimentares;
- Conhecer as características dos estudos (onde e quando foram publicados) e para quais matrizes os métodos foram direcionados;
- Identificar o princípio dos métodos propostos;
- Verificar, quando pertinente, para quais patógenos além de *L. monocytogenes* os métodos foram desenvolvidos;
- Avaliar e comparar os parâmetros de sensibilidade e especificidade em relação aos métodos oficiais entre os estudos que possibilitaram tal análise.

# 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os passos para a condução da revisão sistemática foram dados de acordo com as recomendações da Colaboração para revisões sistemáticas e meta-análises descritas em “Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions” (THE COCHRANE COLLABORATION, 2011).

Procedeu-se a busca da revisão sistemática por meio das seguintes bases de dados: MEDLINE (via Pubmed), Web of Science (Isi of knowledge) e Scopus conforme demonstrado no APÊNDICE 1. Para um melhor gerenciamento dos trabalhos, foi utilizado o gerenciador de referencias Mendeley. Dois revisores independentes realizaram a busca sistemática e selecionaram os artigos baseado no título e resumo. Após esta etapa, os revisores compararam os estudos incluídos. Se houvesse discordância, um terceiro revisor era consultado. Os artigos selecionados foram então lidos independentemente na íntegra. Dos estudos incluídos após a leitura, foi realizada extração de dados.

## 3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos artigos em qualquer idioma (exceto aqueles cujos caracteres não sejam romanos) publicados até Agosto de 2016. Os estudos em que houve o

desenvolvimento e/ou validação de método de identificação de *Listeria monocytogenes* em alimentos foram incluídos.

### 3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Excluíram-se artigos de revisão, relatórios de agências, estudos de casos de listeriose e outros que não atendiam ao critério de inclusão, como trabalhos em que as matrizes não englobavam os alimentos e patentes.

### 3.3 EXTRAÇÃO DE DADOS E ANÁLISE

Foram extraídas as características gerais dos estudos (nome do autor, ano e local de publicação), dados do método analítico empregado e tipo de amostra. Quando fornecidos com clareza, os dados de verdadeiros positivos (VP), verdadeiros negativos (VN), falsos positivos (FP) e falsos negativos (FP) foram extraídos com a intenção de compará-los com os métodos tradicionais. As taxas de sensibilidade e especificidade foram calculadas através do *Clinical calculator* (http://vassarstats.net/clin1.html#return) e plotadas no software CMA versão 2.

Os demais dados foram tratados, e a eles aplicada a estatística descritiva através de cálculos de frequencia, proporções e gráficos com tabelas pré-elaboradas no Microsoft Excel 2007.

## 4 RESULTADOS

### 4. 1 RESULTADOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA

Partindo-se dos 3916 iniciais, foram classificados nesta categoria 219 estudos, sendo 191 de desenvolvimento de método e 28 de validação (Figura 7 – página 47). Dentre estes estudos, apenas 40 possibilitaram a análise de sensibilidade e especificidade, uma vez que os demais não contrastaram seus dados com métodos oficiais de referencia.

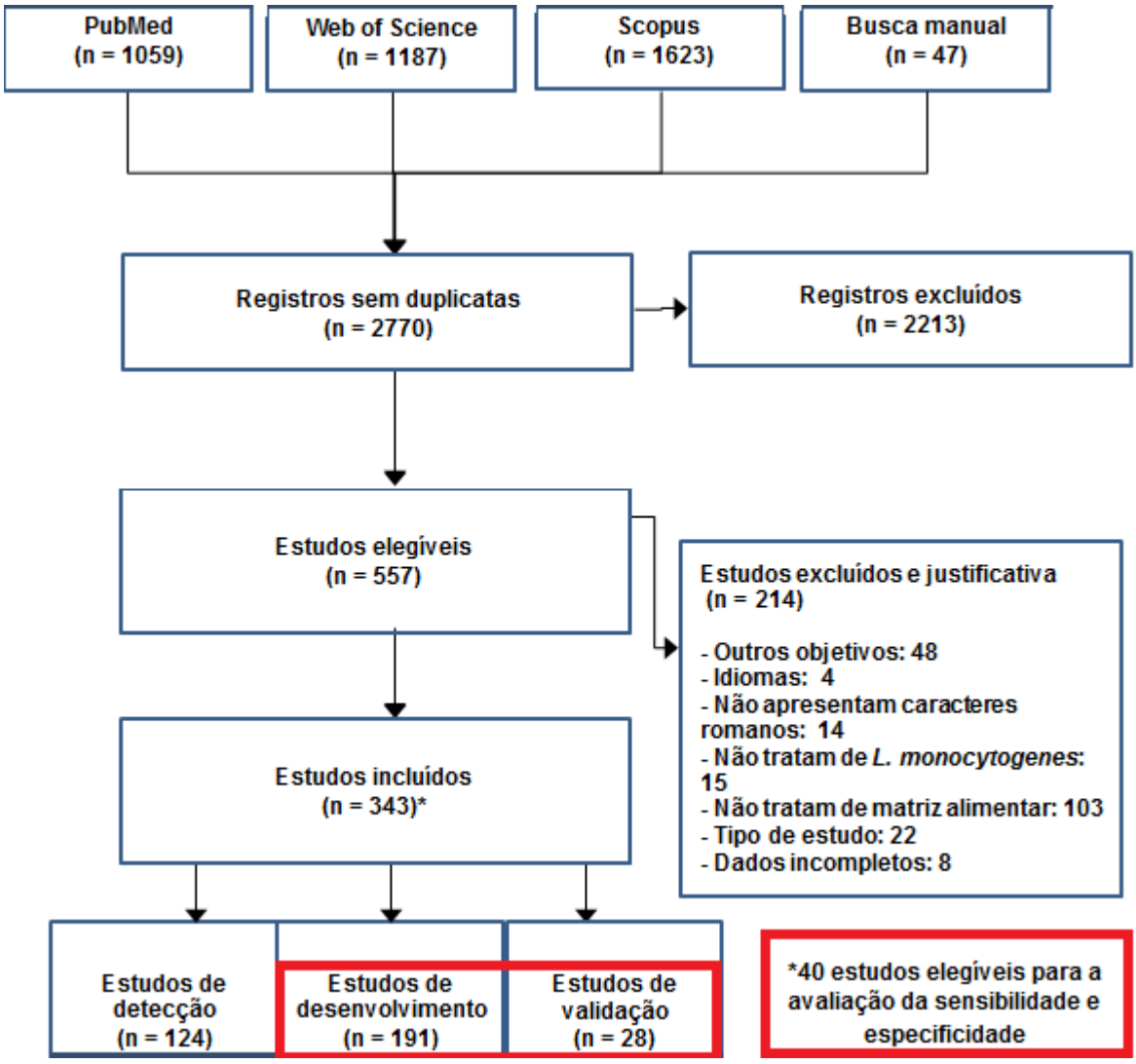
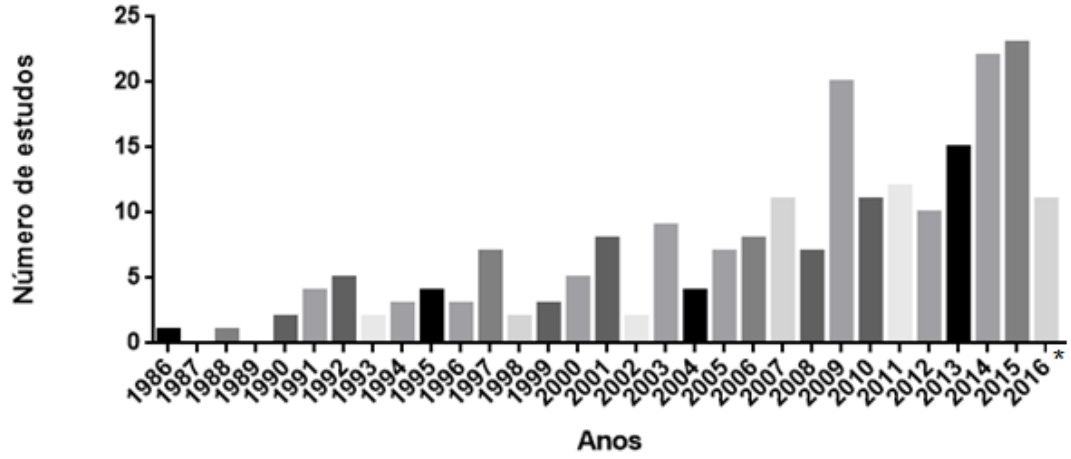



FIGURA 7: FLUXOGRAMA DOS PROCESSOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA- ESTUDOS DE DESENVOLVIMENTO E/OU VALIDAÇÃO.

## 4. 2 CARACTERÍSTICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Os 219 estudos incluídos foram publicados no período de 1986 a 2016, observando uma crescente produção científica deste tipo de desenvolvimento e/ou validação de método com o passar dos anos (Figura 14).




*Dados coletados até Agosto de 2016.
FIGURA 14 – ANO DE PUBLICAÇÃO DOS ARTIGOS QUE OBJETIVARAM DESENVOLVER E/OU VALIDAR MÉTODOS.
N= 219 estudos

Diferentemente dos estudos englobados no Capítulo 02, em que foi possível extrair os dados geográficos de onde os estudos foram realizados, parte dos estudos de desenvolvimento e/ou validação não revelaram precisamente este dado, não sendo realizada as análises por subgrupo considerando esse parâmetro.

Considerando os 191 estudos de desenvolvimento, as matrizes alimentares foram: frutos do mar (5,8%), hortifrutigranjeiros (6,3%), prontos para o consumo (6,3%), cárneos (19,4%) e lácteos (33,8%). Alguns estudos englobavam alimentos pertencentes a mais de três grupos citados, sendo classificados como diversos (24,7%). As matrizes que não puderam ser classificadas por não pertenceram aos grupos acima corresponderam a 2,4% dos estudos.

De maneira geral, os estudos de validação tratavam de matrizes de diversos grupos alimentares, sendo amplamente verificada a validação do método para extensão de matriz, ou seja, para incluir uma nova matriz alimentar no seu escopo.

## 4.3 PATÓGENOS ALVO ALÉM DE *L. monocytogenes*

Dentre os patógenos identificados pelos métodos de desenvolvimento e/ou validação, a maioria objetivou a detecção de múltiplos patógenos. Dos 219 estudos, 116 (53%) buscavam a detecção de múltiplos patógenos; destes, outras espécies de *Listeria* (21,8)%, *Salmonella* spp. (21,0%), *E. coli* O157:H7 (12,3%) e *Staphylococcus* spp. (9,0%), *E. coli.* (5,3%) obtiveram destaque (Figura 15). Outras

bactérias não atingiram 5%: *Bacilus* spp., *Campylobacter* spp., *Vibrio* spp., *Shigela* spp., *Enterococcus* spp., *Estreptococcus* spp., *Yersinia* spp., *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., etc. Os outros 103 (47%) estudos buscaram isoladamente *Listeria monocytogenes*.

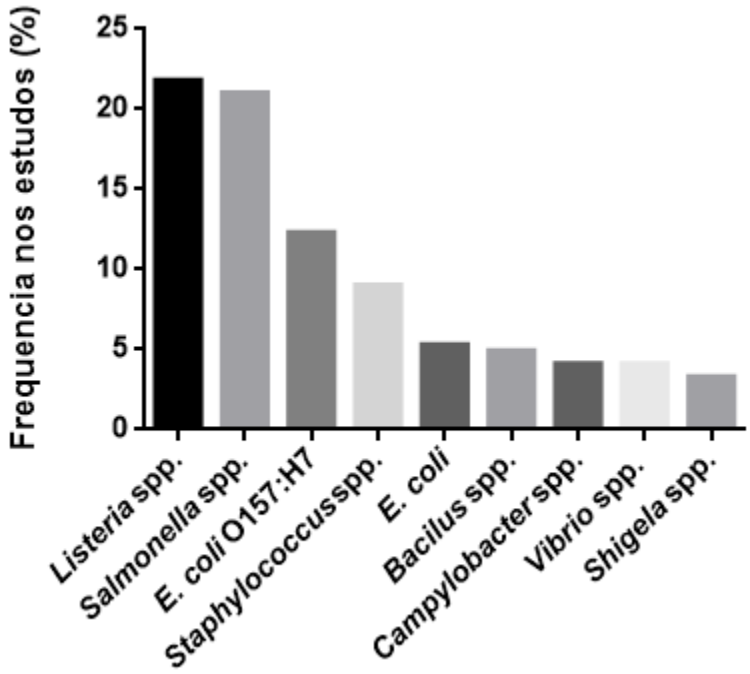



FIGURA 15 – PATÓGENOS BUSCADOS PELOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS ALÉM DA IDENTIFICAÇÃO DE *L. monocytogenes*.
N= 219 estudos

## 4.4 MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS

Os métodos alternativos mais mencionados foram os moleculares (69,4%). PCR foi amplamente empregada com o registro de 126 estudos. Outras técnicas moleculares foram baseadas em *DNA microarray* (2 estudos), *lux phage assay* (2 estudos), *DNA* ou RNA probe (5 estudos), *loop-mediated isothermal amplification* (4 estudos).

Os métodos imunológicos foram apresentados em 11,9% dos estudos, incluindo técnicas de imunosensor (3 estudos), imunocromatografia (3 estudos) e outros técnicas imunológicas.

Em relação aos métodos aos métodos espectroscópicos foram encontrados em 4,1% dos estudos: MALDI-TOF/MS (*Matrix Laser Desorption Ionization/Time of FlightMass Spectroscopy*) (2 estudos), FT-IR (*Fourier Transformer Infra Red*

*Spectroscopy*) (2 estudos), GC/MS (*Gas Cromatography/Mass Spectroscopy*) (3 estudos).

Os métodos de biosensores foram empregados em 2,7% dos estudos, enquanto outros métodos como citometria de fluxo (2 estudos), nanoparticulas (3 estudos) e *wet pooling test* (1 estudo), RAP-ID (2 estudos), VIDAS *L. monocytogenes* Xpress (LMX) (1 estudo) e (LPT) (1 estudo), métodos baseados em detecção elétrica (1 estudo) foram também relatados.

A Figura 16 ilustra os resultados acima.

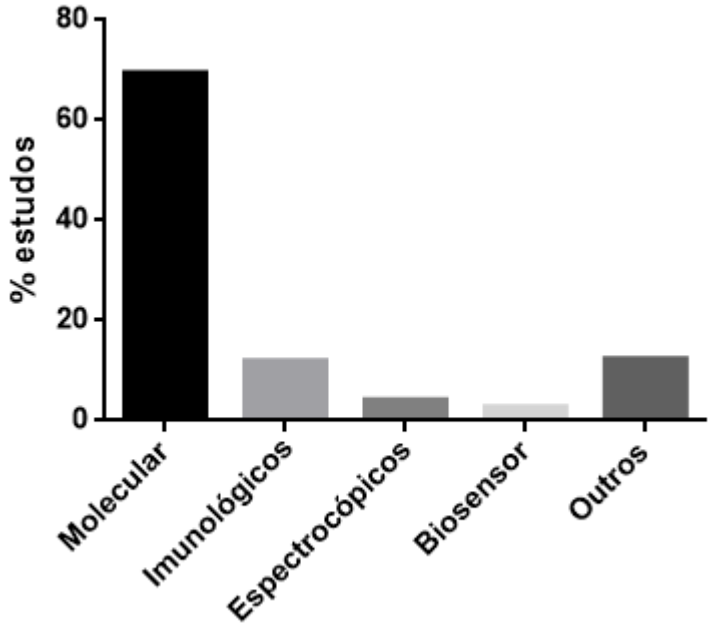



FIGURA 16 – MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS PATÓGENOS.
N= 219 estudos

## 4.5 AVALIAÇÕES DE MÉTODOS DESENVOLVIMENTO E/OU VALIDADOS

A sensibilidade e a especificidade dos métodos alternativos foram calculadas com base em somente 40 estudos, uma vez que os mesmos compararam seus resultados contra métodos oficiais de referencia, nomeadamente International ISO, (16 estudos), FDA (6 estudos); USDA/FSIS (2 estudos); AOAC (1 estudo); FDA e USDA/FSIS (5 estudos), FDA e AOAC (1 estudo); ISO, FDA, USDA/FSIS E AOAC (1

estudo). Permaneceram 8 estudos que não especificaram contra qual método de referência compararam seus resultados.

### 4.5.1 Sensibilidade geral

A taxa de sensibilidade geral encontrada foi de 97,0% (IC 95%: 95,6% – 98,4%)-(Figura 17) muito próxima a 100%, revelando que nos métodos desenvolvidos e/ou validados há uma pequena probabilidade de se encontrar falsos negativos nos resultados.

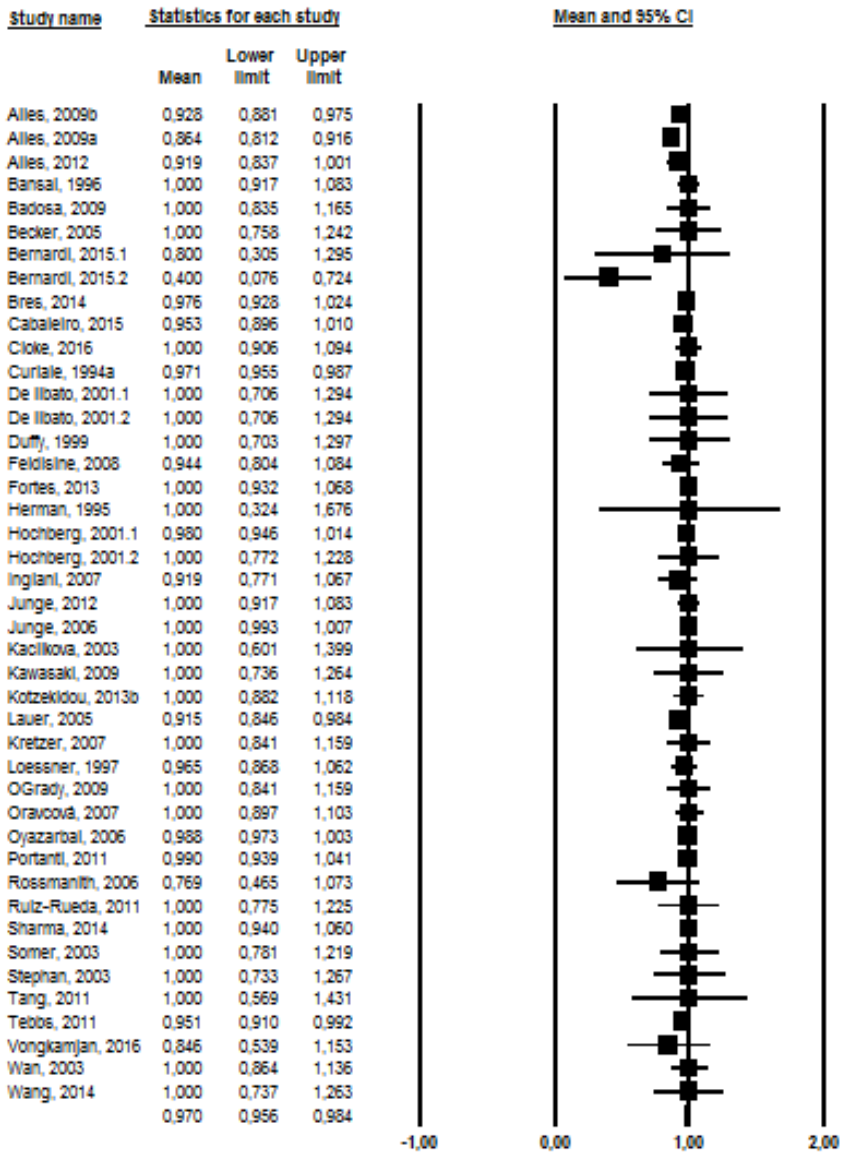



FIGURA 17 – TAXA DE SENSIBILIDADE DOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS. Os estudos individuais estão elencados na primeira coluna seguidos de suas respectivas taxas de

sensibilidade representados pela média (mean) e valores de intervalo de limite inferior (lower limit) e superior (upper limit).
N= 40 estudos

### 4.5.2 Especificidade geral

A taxa de especificidade geral foi de 96,6% (IC 95%: 95,2% – 98,0%), conforme (Figura 18), muito próxima a 100%, revelando que nos métodos desenvolvidos há uma pequena probabilidade de se encontrar falsos positivos nos resultados.

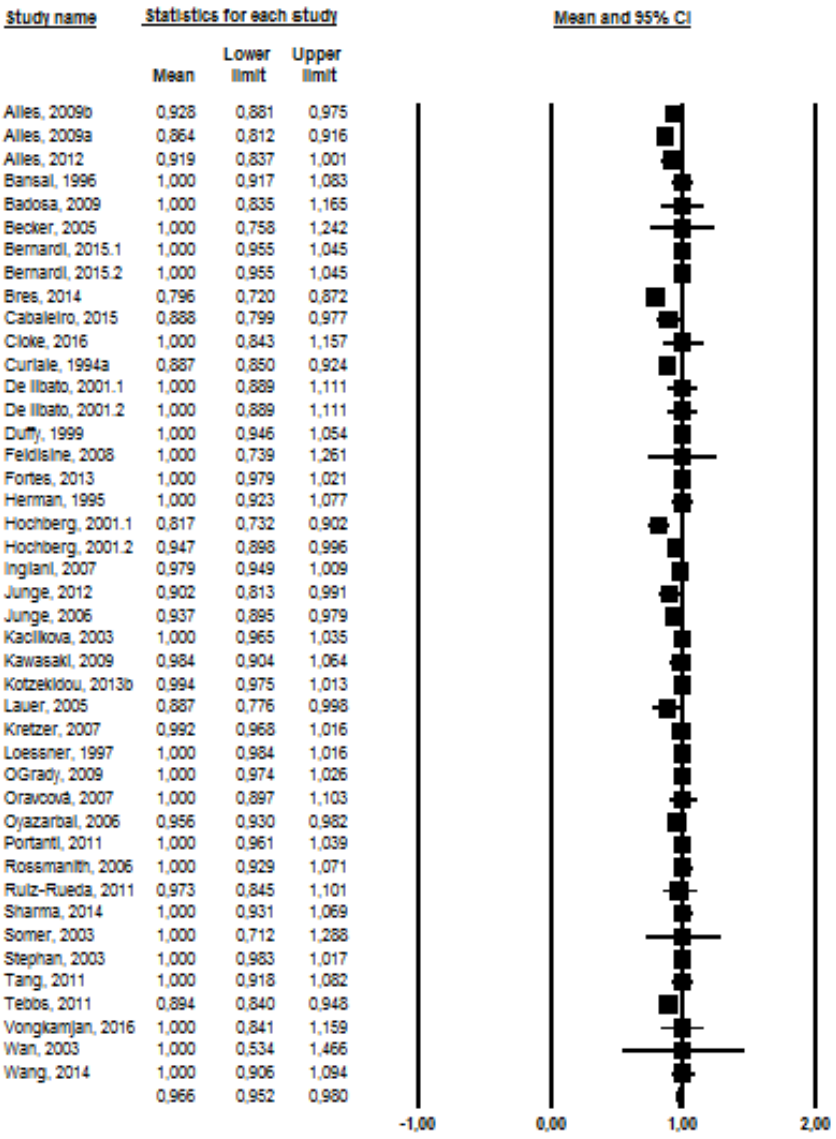



FIGURA 18 – TAXA DE ESPECIFICIDADE DOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS E/OU VALIDADOS. Os estudos individuais estão alencados na primeira coluna seguidos de suas respectivas taxas de sensibilidade representados pela média (mean) e valores de intervalo de limite inferior (lower limit) e superior (upper limit).
N= 40 estudos

## 5 DISCUSSÃO

A maior parte dos estudos avaliados neste capítulo buscou desenvolver métodos alternativos (n=191). De acordo com dados da literatura, muita pesquisa vem sendo realizada para aprimorar os métodos de identificação de *L. monocytogenes*, propondo uma diversidade de opções (AUVOLAT, 2015). Porém, somente uma parcela dos estudos propôs a validação do método, o que é um grande obstáculo para uso dessas novas alternativas na prática.

Os alimentos cárneos são os mais contaminados por *L. monocytogenes* (como visto no capítulo 02) e possivelmente por essa razão, essa matriz é a segunda mais estudada para desenvolvimento e/ou validação de novos métodos. Por outro lado, apesar de os alimentos lácteos apresentarem a menor taxa de contaminação, essa matriz foi a mais utilizada para os estudos de desenvolvimento e/ou validação de método. Este fato possivelmente ocorreu pela grande evidência dos alimentos lácteos nos principais surtos ocorridos em países desenvolvidos. Em virtude disto e diante das evidências aqui encontradas, seria conveniente que mais métodos fossem desenvolvidos para outras matrizes que apresentem taxas de contaminação mais significativas mundialmente.

A *Salmonella* spp é considerada um dos mais importantes patógenos alimentares (MEAD, *et al*., 1999). Em decorrência deste fato, este gênero foi tão reportado nos estudos de detecção multipatógeno de *Listeria monocytogenes* quanto às outras espécies de Listeria. Outro patógeno muito relatado foi a *E.coli* O157H7 por representar um contaminante alimentar perigoso (BIAN *et al*., 2015). Deste modo, a detecção multipatógeno vem sendo amplamente empregada, uma vez que consegue detectar vários patógenos ao mesmo tempo, sendo uma poderosa ferramenta para corroborar com a qualidade dos alimentos e segurança alimentar.

Vale ressaltar que apesar das vantagens como a utilização de menos material, rapidez na entrega dos resultados e para uma diversidade de patógenos, a presença destes micro-organismos podem levar a uma super população, interferindo negativamente na obtenção dos resultados da análise (OIE, 2014).

A introdução da PCR em microbiologia vem representando uma valiosa alternativa para os métodos tradicionais. Rapidez, bom limite de detecção, seletividade e potencial para otimização são as principais vantagens deste método.

Porém, existem algumas desvantagens como o custo do alto investimento tecnológico, a necessidade de aprovação oficial e instruções padronizadas. A PCR foi indiscutivelmente o método alternativo mais utilizado pelos estudos avaliados neste trabalho. No entanto, este método requer informação genética específica e produtos de amplificação de DNA não específicos podem ser gerados, o que deve ser atentado durante a prática laboratorial (PANGALLO; KUCHTA; DRAHOVSKA., 2001).

Além disso, a PCR possibilita a detecção de multipatógenos, em que *primers* são adicionados no mesmo *mix* reacional, permitindo a busca de diferentes micro-organismos simultaneamente. Por exemplo, os genes alvo para *Samonella enterica*. e *L. monocytogenes* são invA e hly (fator de virulência listeriolisina O), respectivamente (BADOSA *et al*., 2009).

As técnicas convencionais não são capazes de detectar células danificadas que tem o potencial de se recuperarem e multiplicarem quando o alimento é consumido (KAWASAKI *et al*., 2009). Já a PCR é capaz de fazer esta detecção de maneira rápida, específica e sensível (SOMER, KASHIY *et al*., 2003). Em geral, as técnicas de PCR necessitam ainda das etapas preliminares de enriquecimento para garantir a detecção de um baixo número de células viáveis (O`Grady *et al*., 2008). No entanto, é importante ressaltar que o tempo de análise utilizando-se a PCR é consideravelmente reduzido quando comparado aos métodos clássicos de identificação (96h a 216h).

Algumas desvantagens foram relacionadas a PCR, por exemplo, os procedimentos trabalhosos como a eletroforese utilizadas para detectar os produtos de amplificação da PCR. Tal fato não se dá na PCR em tempo real, porém outras dificuldades são encontradas como custo de implementação e variabilidade dos termocicladores. Adicionalmente, a mão-de-obra a realizar a PCR deve ser altamente especializada, evitando a contaminação da amostra e também ambiental (TANG *et al*., 2011, BADOSA *et al*., 2009).

Já foi relatado na literatura que ainda existe falta de validação internacional e protocolos padronizados para os métodos de PCR, sendo assim, a qualidade dos reagentes e equipamentos podem resultar em inconsistências nas análises. Além disto, também foi verificado que em muitos trabalhos há falta de controle interno de amplificação, indispensável para apontar falso-negativos causados por inibidores da PCR (FREITAS; LEMOS; MARIN, 2006).

Também relatados neste trabalho, mas não tão empregados quanto a PCR, estão os métodos com outros princípios. Os métodos imunológicos são utilizados em virtude da sua alta especificidade e sensibilidade, apesar da dificuldade de eliminar as reações cruzadas dos anticorpos (WAN *et al*., 2003). Em relação aos biossensores, os mesmos podem ser considerados ferramentas multidisciplinares com características interessantes, como por exemplo, serem portáteis e capazes de realizar múltiplas análises (MANDAL *et al*., 2011). Por fim, existem os métodos espectroscópicos aplicados no diagnóstico de detecção microbiológica, sendo considerados simples e vantajosos (JADHAV *et al*., 2015).

Para a escolha de um método alternativo é essencial considerar a sua acurácia, custo, tempo de análise, aceitação por agências oficiais e comunidade científica, simplicidade de operação, treinamento, qualificação de analistas e disponibilidade de reagentes (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Foi observado que apenas um número diminuído de métodos alternativos revelaram a comparação de seus resultados com métodos oficiais, tornando difícil o processo de avaliação dos mesmos. Considerando apenas os estudos em que foi possível se obter estes dados, foram encontradas altas taxas de sensibilidade e especificidade, mostrando que outras características (tempo de análise, custo e operacionalidade) devem ser analisadas em futuros estudos. Dos artigos que visaram comparar seus dados com métodos oficiais o método ISO foi o mais empregado para as comparações.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No campo do desenvolvimento de métodos microbiológicos alternativos ainda há muito a ser explorado. O mesmo pode ser considerado vasto, no entanto, diante da diversidade de métodos e matrizes é necessário ponderar vários fatores para a introdução de métodos alternativos na rotina para que se possa desfrutar de suas vantagens sem comprometer a confiabilidade dos resultados gerados.

A carência de estudos de validação poderia ser justificada por duas hipóteses: há um reporte seletivo de dados da literatura, ou seja, apenas resultados de sensibilidade e especificidade favoráveis estão sendo publicados, ou os métodos apresentam realmente elevadas taxas desses parâmetros, o que justificaria seu uso

na prática. Porém, mais estudos avaliando e validando essas novas técnicas a partir de parâmetros padronizados deveriam ser conduzidos.

## REFERENCIAS


AUVOLAT. A., BESSE, N. G. The challenge of enumerating *Listeria monocytogenes* in food. **Food Microbiology**. 2015.

BADOSA, E., CHICO, N., PLA. M., PARE´S, D., MONTESINOS, E. Evaluation of ISO enrichment real time PCR methods with internal amplification control for detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in fresh fruit and vegetables. **Letters in Applied Microbiology**. v. 49, p. 105–111. 2009.

BERNARDI, G., ABRAHÃO, W. M., BENETTI, T. M., SOUZA V. R., DE FRANCISCO, T. G., PONTAROLO, R. Evaluation of the Detection Methods used for Investigation of Listeria and *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food and Nutritional Disorders**. v. 4, n. 6, p. 1-4, 2015.

BIAN, X., JING, F., LI, G., FAN, X. *et al*. A microfluidic droplet digital PCR for simultaneous detection of pathogenic *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes*. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 74, p. 770–777, 2015.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu; 2005.

FREITAS, E. I., LEMOS, A. A., MARIN, V. A. Validation of qualitative alternative methods in the detection of food-born pathogens. **Ciência & Saúde Coletiva**. v. 11, n. 4, p. 1073-1083. 2006.

JADHAV, S., SEVIOR, D., BHAVE, M., PALOMBO, E. A. Detection of *Listeria monocytogenes* from selective enrichment broth using MALDI-TOF Mass Spectrometry. **Journal of proteomics**. v. 97, p. 100-6. 2014.

JASSON, V., JACXSENS, L., LUNING, P., RAJKOVIC, A., UYTTENDAELE, M. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. **Food Microbiology**. v. 27, p. 710-30. 2010.

KAWASAKI, S., FRATAMICO, P. M., HORIKOSHI, N., OKADA, Y., TAKESHITA, K., SAMESHIMA, T., KAWAMOTO, S. Multiplex real-time polymerase chain reaction assay for simultaneous detection and quantification of Salmonella species, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in ground pork samples. **Foodborne pathogens and disease**. v. 7, p. 549-54. 2007.

KAWASAKI, S.; FRATAMICO, P. M.; HORIKOSHI, N.; OKADA, Y. et al. Evaluation of a multiplex PCR system for simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in foods and in food subjected to freezing. **Foodborne pathogens and disease,** v. 6, n. 1, p. 81-89, 2009.

KIM, K. P., SINGH, A. K., BAI, X., Leprun L5, Bhunia AK6,7. Novel PCR Assays Complement Laser Biosensor-Based Method and Facilitate Listeria Species Detection from Food. **Sensors**. v. 15, p. 22672-91. 2015.

LI, X., LIA, X., LVB, P., WANGA, L., GUOA, A., MA, M., QI, X. Application of high resolution pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry (HRPGC/MS) for detecting *Listeria monocytogenes*. **Journal of Chromatography B**. v. 971, p. 107-11. 2014.

MANDAL, P. K., BISWAS, A. J., CHOI, K., PAL, U. K. Methods for rapid detection of Foodborne Pathogens: An overview. **American Journal of Food Technology**. v. 6, p. 87-102. 2011.

MEAD, P. S., SLUTSKER, L., DIETZ, V., MCCAIG, L. F., BRESEE, J. S., SHAPIRO, C., GRIFFIN, P. M. Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. **Emerg Infect Dis**. v. 5, n. 5, p. 607-25. 1999.

NYACHUBA, D. G., DONNELLY, C. W. Comparison of 3M Petrifilm environmental Listeria plates against standard enrichment methods for the detection of *Listeria monocytogenes* of epidemiological significance from environmental surfaces. **Journal of food science**. v. 72, p. 346-54. 2007.

OIE. World Assembly of Delegates for Animal Health. ***Listeria monocytogenes***. 2014.

O'GRADY, J., SEDANO-BALBAS, S., MAHER, M., SMITH, T., BARRY, T. Rapid real-time PCR detection of *Listeria monocytogenes* in enriched food samples based on the ssrA gene, a novel diagnostic target. **Food microbiology**. v. 25, n. 1, p. 75–84. 2008.

PANGALLO, D. K. E., KUCHTA, T., DRAHOVSKA, H. Detection of *Listeria monocytogenes* by polymerase chain reaction oriented to inlB gene. **New Microbiol**. v. 24, p. 333-9. 2001.

SHI, L., W. U., F., WEN, Y., ZHAO, F., XIANG, J., MA, L. A novel method to detect *Listeria monocytogenes* via superparamagnetic lateral flow immunoassay. **Analytical and bioanalytical chemistry**. v. 407, p. 529-35. 2015.

SOMER L, KASHI Y. A PCR method based on 16S rRNA sequence for simultaneous detection of the genus Listeria and the species *Listeria monocytogenes* in food products. **Journal of Food Protection**. v. 66, n, 9, p. 1658–1665. 2003.

THE COCHRANE COLLABORATION. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 5.1.0**. Oxford, England, Higgins JPT, Green S, editors. 2011.

WAN, J., KING, K., FORSYTH, S., COVENTRY, M. J. Detection of *Listeria monocytogenes* in salmon using the Probelia polymerase chain reaction system. **Journal of food protection**. v. 66, n. 3, p. 436-40. 2003.

# APÊNDICE 1 – ESTRATÉGIAS DE BUSCA UTILIZADAS NAS BASES DE DADOS PARA A REALIZAÇÃO DA REVISÃO SISTEMÁTICA

**MEDLINE (via PUBMED)**

Data: 18/08/2016

**#1**((((food[Title/Abstract]) OR "foodborn diseases"[Title/Abstract]) OR aliment[Title/Abstract]) OR meal[Title/Abstract]) OR "ready to eat"[Title/Abstract]

**#2**(Identification[Title/Abstract] OR Detection[Title/Abstract] OR Quantification[Title/Abstract] OR "Biochemical methods"[Title/Abstract] OR "Immunological methods"[Title/Abstract] OR "Molecular methods"[Title/Abstract] OR Spectrometry[Title/Abstract] OR Chromatography[Title/Abstract] OR "Microbiological methods"[Title/Abstract] OR "Serological methods"[Title/Abstract] OR "Phage typing"[Title/Abstract] OR Electrophoresis[Title/Abstract])

**#3**(((((Listeria[Title/Abstract]) OR "Listeria monocytogenes"[Title/Abstract]) OR "L. monocytogenes"[Title/Abstract]) OR Listeriosis[Title/Abstract]) OR "Listeria infection"[Title/Abstract]) OR Listeria[MeSH Terms] OR Listeria monocytogenes[MeSH Terms]

**#1 AND #2 AND #3**

**SCOPUS**

Data: 18/08/2016

**#1**TITLE-ABS-KEY ( food OR aliment OR "foodborn disease" )

**#2**TITLE-ABS-KEY ( listeria OR "listeria monocytogenes" OR listeriosis OR "L. monocytogenes" OR "listeria infection" )

**#3**TITLE-ABS-KEY ( identification OR spectrometry OR chromatography OR electrophoresis )

**#1 AND #2 AND #3**

Filtros: Document Type (Article)

**WEB OF SCIENCE**

Data: 18/08/2016

**#1**TÓPICO ( food OR "foodborn disease" )

**#2** TÓPICO ( listeria OR "listeria monocytogenes" OR listeriosis OR "L. monocytogenes" OR "listeria infection" )

**#3** TÓPICO (spectrometry OR chromatography OR electrophoresis )

**#1 AND #2 AND #3**

# APÊNDICE 2 – ESTUDOS INCLUÍDOS PARA REVISÃO SISTEMÁTICA

**Capítulo 02**

**a) Estudos incluídos**

ADETUNJI, V. O., ARIGBEDE, M. I. Occurrence of *E. coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* and identification of hazard analysis critical control points (HACCPs) in production operations of a typical tropic cheese 'Wara' and yoghurt. **Pakistan Journal of Nutrition**. v. 10, p. 796-804. 2011.

ADIGUZEL, G., YUREKLI, E. Isolation and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken samples in Erzurum, Turkey. **Research Journal of Biotechnology**. v. 10, p. 63-9. 2015.

AGUADO, V., VITAS, A. I., GARCIA-JALON, I. Random amplified polymorphic DNA typing applied to the study of cross-contamination by *Listeria monocytogenes* in processed food products. **Journal of food protection**. v. 64, p. 716-20. 2001.

ALLMANN, M., HÖFELEIN, C., KÖPPEL, E., LÜTHY, J., MEYER, R. *et al*. Polymerase chain reaction (PCR) for detection of pathogenic microorganisms in bacteriological monitoring of dairy products. **Research in microbiology**. v. 146, p. 85-97. 1995.

ANDRADE, R. R., SILVA, P. H. C., SOUZA, N. R., MURATA, L. S., GONÇALVES, V. S. P., SANTANA, A. P. Occurrence and differentiation of *Listeria* spp. in "hot dog" sausages sold in bulk and ground beef samples marketed in the federal district, Brazil. **Ciencia Rural**. v. 44, p. 147-52. 2014.

ANDRITSOS, N. D., MATARAGAS, M., PARAMITHIOTIS, S., DROSINOS, E. H. Quantifying *Listeria monocytogenes* prevalence and concentration in minced pork meat and estimating performance of three culture media from presence/absence microbiological testing using a deterministic and stochastic approach. **Food microbiology**. v. 36, p. 395-405. 2013.

ANGELIDES, A. S., KOUTSOUMANIS, K. Prevalence and concentration of *Listeria monocytogenes* in Sliced Ready-to-Eat Meat Products in the Hellenic Retail Market. **Journal of Food Protection**. v. 69, p. 938-942. 2016.

APARECIDA DE OLIVEIRA, M., RIBEIRO, E. G. A., BERGAMINI, A. M. M., MARTINIS, E. C. P. Quantification of *Listeria monocytogenes* in minimally processed leafy vegetables using a combined method based on enrichment and 16S rRNA real-time PCR. **Food microbiology**. v. 27, p. 19-23. 2010.

AUTIO, T., SÄTERI, T., FREDRIKSSON-AHOMAA, M., RAHKIO, M., LUNDÉN, J., KORKEALA, H. *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. **Journal of Food Protection**. v. 63, p. 1438-42. 2000.

AWAISHEH, S. S. Incidence and contamination level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in ready-to-eat meat products in Jordan. **Journal of food protection**. v. 73, p. 535-40. 2010.

BEAUFORT, A., RUDELLE, S., GNANOU-BESSE, N., TOQUIN, M. T., KEROUANTON, A., BERGIS, H., SALVAT, G., CORNU, M. Prevalence and growth

of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. **Letters in Applied Microbiology**. 2007;44:406-11.

BENETTI, T. M., MONTEIRO, C. L. B., BEUX, M. R., ABRAHÃO, W. M. Enzyme-linked imunoassays for the detection of *Listeria* sp. and *Salmonella* sp. in sausage: A comparison with conventional methods. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 44, p. 791-794, 2013.

BERRADA, H., SORIANO, J. M., PICO, Y., MAÑES, J. Quantification of *Listeria monocytogenes* in salads by real time quantitative PCR. **International Journal of Food Microbiology**. 2006; 107:202 – 206.

BĒRZIŅŠ, A., TERENTJEVA, M., KORKEALA, H. Prevalence and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged ready-to-eat meat products at retail markets in latvia. **Journal of Food Protection**. v. 72, p. 1283-7. 2009.

BIANCHINI, M., ARIAS, M. L., HERRERA, C., ZÚÑIGA, C. *Listeria monocytogenes* incidence and evaluation of the sanitary quality of filleted fresh fish from the Metropolitan Area of San Jose. **Archivos latinoamericanos de nutricion**. v. 49, p. 358-62. 1999.

BORGES, M. F., SIQUEIRA, R. S., BITTENCOURT, A. M., VANETTI, M. C. D., GOMIDE, L. A. M. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in salami. **Revista de Microbiologia**. v. 30, p. 362-364.1999.

CAGGIANO, G, GIGLIO, O., LOVERO, G., RUTIGLIANO, S., DIELLA, G. *et al*. Detection of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods sampled from a catering service in Apulia, Italy. **Annali di igiene:medicina preventiva e di comunita**. v. 27, p. 590-4. 2015.

CAMPOS, J., GIL, J., MOURÃO, J., PEIXE, L., ANTUNES, P. Ready-to-eat street-vended food as a potential vehicle of bacterial pathogens and antimicrobial resistance: An exploratory study in Porto region, Portugal. **International journal of food microbiology**. v. 206, p. 1-6. 2015.

CAPONIGRO, V., VENTURA, M., CHIANCONE, I., AMATO, L., PARENTE, E., PIRO, F. Variation of microbial load and visual quality of ready-to-eat salads by vegetable type, season, processor and retailer. **Food microbiology**. v. 27, p. 1071-7. 2010.

CARDAMONE, C., ALEO, A., MAMMINA, C., OLIVERI, G., DI NOTO, A. M. Assessment of the microbiological quality of fresh produce on sale in Sicily, Italy: preliminary results. **Journal of biological research**. v. 22. 2015.

CARRASCOSA, C., MILLÁN, R., SAAVEDRA, JABER, J. R., RAPOSO, A., SANJUÁN, E. Identification of the risk factors associated with cheese production to implement the hazard analysis and critical control points (HACCP) system on cheese farms. **J. Dairy Sci**. v. 99, p. 1–11.

CHO, S. Y., MOON, K. D., PARK, B. K., OH, D. H. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and related species in minimally processed vegetables. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 14, p. 515-9. 2004.

COHEN, N., FILLIOL, I., KARRAOUAN, B., BADRI, S., CARLE, I., ENNAJI, H., BOUCHRIF, B., HASSAR, M., KARIB, H. Microbial quality control of raw ground beef and fresh sausage in Casablanca (Morocco). **Journal of environmental health**. v. 71, p. 51-5. 2008.

COLAK, H., HAMPIKYAN, H., ULUSOY, B., BINGOL, E. B. Presence of *Listeria monocytogenes* in Turkish style fermented sausage (sucuk). **Food Control**. v. 18, p. 30–32. 2007.

CORDANO AM, JACQUET C. *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable salads sold at supermarkets in Santiago, Chile: Prevalence and strain characterization. International **Journal of Food Microbiology**. v. 132, p. 176-9. 2009.

COSTA SOBRINHO, P. S., FARIA, C. A. M., PINHEIRO, J. S., Almeida, H. G., PIRES C. V., Santos, A. S. Bacteriological quality of raw milk used for production of a brazilian farmstead raw milk cheese. **Foodborne Pathog Dis**. v. 9, p. 138–44. 2012.

DABABNEH BF. Microbiological quality and occurrence of *Listeria monocytogenes* in ice cream using conventional methods and molecular technique. **Milchwissenschaft**. v. 67, p. 413-6. 2012.

DE CESARE, A., MIONI, R., MANFREDA, G. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in fresh and fermented Italian sausages and ribotyping of contaminating strains. **International Journal of Food Microbiology**. v. 120, p. 124-30. 2007.

DE SIMÓN M, TARRAGÓ C, FERRET MD. Incidence of *Listeria monocytogenes* in fresh foods in Barcelona. **International Journal of Food Microbiology**. v. 16, p. 153-6. 1992.

DERRA, F. A.; KARLSMOSE, S.; MONGA, D. P.; MACHE, A. et al. Occurrence of *Listeria* spp. in retail meat and dairy products in the area of Addis Ababa, Ethiopia. **Foodborne pathogens and disease**, v. 10, n. 6, p. 577-579, 2013.

DILLON, R., PATEL, T., RATNAM, S. Occurrence of Listeria in hot and cold smoked seafood products. **International Journal of Food Microbiology**. v. 22, p. 73-77, 1994.

DONNELLY, C. W.; BAIGENT, G. J. Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. **Applied and environmental microbiology,** v. 52, n. 4, p. 689-695, 1986.

EGLEZOS, S. The bacteriological quality of retail-level peanut, almond, cashew, hazelnut, brazil, and mixed nut kernels produced in two Australian nut-processing facilities over a period of 3 years. **Foodborne pathogens and disease,** v. 7, n. 7, p. 863-866, 2010.

EL-MALEK, A. M. A.; ALI, S. F. H.; HASSANEIN, R.; MOHAMED, M. A. et al. Occurrence of Listeria species in meat, chicken products and human stools in Assiut city, Egypt with PCR use for rapid identification of *Listeria monocytogenes*. **Veterinary World**, v. 3, n. 8, p. 353-359, 2010.

EL-SHENAWY, M., ZAGHLOUL, R., ABBASS, I. H., FOUAD, M. T. Incidence of some epidemiologically relevant food-borne pathogens in street-vended sandwiches. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. v. 7, n. 2, p. 468-74, 2016.

FAI, A. E. C.; DE FIGUEIREDO, E. A. T.; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. D. S. et al. *Salmonella* sp and *Listeria monocytogenes* in fully cooked ham commercialized in supermarkets of Fortaleza (CE, Brazil): risk factor for public health]. **Ciencia & Saude coletiva,** v. 16, n. 2, p. 657-662, 2011. .

FAROUK, M.; ABDEL-SHAFI, S.; SHALABY, M.; MOHAMED, R. Application of specific media, API technique and PCR for rapid confirmation of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs and water. **Research Journal of Microbiology,** v. 10, n. 3, p. 100-113, 2015.

GARCÍA-GIMENO RM, ZURERA-COSANO G, AMARO-LÓPEZ M. Incidence, survival and growth of *Listeria monocytogenes* in ready-to- use mixed vegetable salads in Spain. **J Food Saf**. v. 16, n. 1, p. 75–86, 1996.

GEBRETSADIK, S.; KASSA, T.; ALEMAYEHU, H.; HURUY, K. et al. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* and other Listeria species in foods of animal origin in Addis Ababa, Ethiopia. **Journal of Infection and Public Health,** v. 4, n. 1, p. 22-29, 2011.

GELBICOVA, T.; KARPISKOVA, R. Occurrence and Characteristics of Listeria monocytogenes in Ready-to-eat Food from Retail Market in the Czech Republic. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 27, p. 3-7, 2009.

GOH, S. G., KUAN, C. H., LOO, Y. Y., CHANG, W. S., LYE, Y. L., *et al*. *Listeria monocytogenes* in retailed raw chicken meat in Malaysia. **Poultry Science**. 2012;91:2686–2690.

GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. N., SANZ, J. J., SANTOS, J. A., OTERO, A., GARCÍA-LÓPEZ, M. L. Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked freshwater fish at the retail level. **International Journal of Food Microbiology**. v. 77, p. 161–168, 2012.

HAMDI, T. M.; NAÏM, M.; MARTIN, P.; JACQUET, C. Identification and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated in raw milk in the region of Algiers (Algeria). **International Journal of Food Microbiology,** v. 116, n. 1, p. 190-193, 2007.

HOFFMAN, A. D.; GALL, K. L.; NORTON, D. M.; WIEDMANN, M. *Listeria monocytogenes* contamination patterns for the smoked fish processing environment and for raw fish. **Journal of Food Protection,** v. 66, n. 1, p. 52-60, 2003.

IANNETTIA, L., ACCIARIA, V. A., ANTOCIA, S., ADDANTEB, N., *et al*. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Italy: Prevalence of contamination at retail and characterisation of strains from meat products and cheese. **Food Control**. v. 68,p. 55-61, 2016.

IBRAHIM, A.; MAC RAE, I. C. Incidence of Aeromonas and *Listeria* spp. in red meat and milk samples in Brisbane, Australia. **International journal of food microbiology**, v. 12, n. 2-3, p. 263-269, 1991.

INOUE, S., NAKAMA, A., ARAI, Y., KOKUBO, Y., MARUYAMA, T., *et al*. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. **International Journal of Food Microbiology**. v. 59, p. 73–77, 2000.

JEYASEKARAN, G., KARUNASAGAR, I., KARUNASAGAR, I. Incidence of *Listeria* spp. in tropical fish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p. 333-340, 1996.

JOHNSTON, L. M.; JAYKUS, L.-A.; MOLL, D.; MARTINEZ, M. C. *et al*. A field study of the microbiological quality of fresh produce. **Journal of food protection,** v. 68, n. 9, p. 1840-1847, 2005.

KAMANA, O.; CEUPPENS, S.; JACXSENS, L.; KIMONYO, A. *et al*. Microbiological quality and safety assessment of the Rwandan milk and dairy chain. **Journal of food protection**, v. 77, n. 2, p. 299-307, 2014.

KEERATIPIBUL, S.; TECHARUWICHIT, P. Tracking sources of Listeria contamination in a cooked chicken meat factory by PCR-RAPD-based DNA fingerprinting. **Food Control,** v. 27, n. 1, p. 64-72, 2012

KHAN, J. A.; RATHORE, R. S.; KHAN, S.; AHMAD, I. In vitro detection of pathogenic *Listeria monocytogenes* from food sources by conventional, molecular and cell culture method. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology],** v. 44, n. 3, p. 751-758, 2013.

KIM, S. A.; OH, S. W.; LEE, Y. M.; IMM, J. Y. *et al*. Microbial contamination of food products consumed by infants and babies in Korea. **Letters in Applied Microbiology,** v. 53, n. 5, p. 532-538, 2011.

KINDE, H.; MIKOLON, A.; RODRIGUEZ-LAINZ, A.; ADAMS, C. *et al*. Recovery of Salmonella, *Listeria monocytogenes*, and *Mycobacterium bovis* from cheese entering the United States through a noncommercial land port of entry. **Journal of food protection,** v. 70, n. 1, p. 47-52, 2007.

KISS, R.; PAPP, N. E.; VÁMOS, G.; RODLER, M. *Listeria monocytogenes* isolation from food in Hungary. **Acta Alimentaria,** v. 25, n. 1, p. 83-91, 1996.

KOTZEKIDOU, P. Microbiological examination of ready-to-eat foods and ready-to-bake frozen pastries from university canteens. **Food microbiology,** v. 34, n. 2, p. 337-343, 2013.

KOTZEKIDOU P. Survey of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 in raw ingredients and ready-to-eat products by commercial real-time PCR kits. **Food microbiology**, v. 35, n. 2, p. 86-91, 2013.

KRAMARENKO, T., ROASTO, M., KETO-TIMONENC, R., MÄESAARA, M., *et al*. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat vacuum and modified atmosphere packaged meat and fish products of Estonian origin at retail level. **Food Control**. v. 67, p. 48-52, 2016.

LACIAR, A. L.; DE CENTORBI, O. N. P. Listeria species in seafood: Isolation and characterization of *Listeria* spp. from seafood in San Luis, Argentina. **Food Microbiology,** v. 19, n. 6, p. 645-651, 2002.

LAPPI, V. R.; HO, A.; GALL, K.; WIEDMANN, M. Prevalence and growth of Listeria on naturally contaminated smoked salmon over 28 days of storage at 4 degrees C. **Journal of food protection,** v. 67, n. 5, p. 1022-1026, 2004.

LEONG D, ALVAREZ-ORDOÑEZ A, ZAOUALI S, JORDAN AK. Examination of *Listeria monocytogenes* in Seafood Processing Facilities and Smoked Salmon in the Republic of Ireland. **Journal of Food Protection**. v. 78, p. 2184–2190. 2015.

LIANDRIS, E.; GAZOULI, M.; TAKA, S.; ANDREADOU, M. et al. Evaluation of the microbial safety of child food of animal origin in Greece. **Journal of food science,** v. 79, n. 3, p. M362-8, 2014.

LOSIO, M. N.; PAVONI, E.; BILEI, S.; BERTASI, B. *et al*. Microbiological survey of raw and ready-to-eat leafy green vegetables marketed in Italy. **International journal of food microbiology,** v. 210, p. 88-91, 2015.

MAKLON, K.; MINAMI, A.; KUSUMOTO, A.; TAKESHI, K. *et al*. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from commercial asazuke (Japanese light pickles). **International journal of food microbiology,** v. 139, n. 3, p. 134-139, 2010.

MANFREDA, G.; MIONI, R.; FORNASIERO, E.; DE CESARE, A. *et al*. Prevalence and characterisation of populations of *Listeria monocytogenes* during sausage ripening. **Veterinary Research Communications,** v. 31, n. SUPPL. 1, p. 377-379, 2007.

MANTILLA, S. P. S., FRANCOII, R. M., OLIVEIRA, L. A. T., SANTOS, E. B. Occurrence of *Listeria* spp. in bovine ground meat samples commercialized in Niterói, RJ, Brazil. **Ciênc. Agrotec**. v. 31, p. 1225-1230, 2007.

MELDRUM, R. J.; ELLIS, P. W.; MANNION, P. T.; HALSTEAD, D. *et al*. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods sampled from the point of sale in Wales, United Kingdom. **Journal of food protection**, v. 73, n. 8, p. 1515-1518, 2010.

MELDRUM, R. J.; SMITH, R. M. M.; ELLIS, P.; GARSIDE, J. Microbiological quality of randomly selected ready-to-eat foods sampled between 2003 and 2005 in Wales, UK. **International journal of food microbiology**, v. 108, n. 3, p. 397-400, 2006.

MELONI, D.; GALLUZZO, P.; MUREDDU, A.; PIRAS, F. *et al*. *Listeria monocytogenes* in RTE foods marketed in Italy: prevalence and automated EcoRI ribotyping of the isolates. **International journal of food microbiology**. v. 129, p. 166-73, 2009.

MENA, C., ALMEIDA, G., CARNEIRO, L., TEIXEIRA, P. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. **Food Microbiology**. v. 21, p. 213–216, 2004.

MAHAMOODI, M. M. Occurence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and diary products in Noorabad, Iran. **Journal of Animal and Veterinary Advances**. v. 9, p. 16-19, 2010.

MOHAREM, A. S., RAJ, A. P. C., JANARDHANA, G. R. Incidence of Listeria Species In Seafood Products Of Mysore, India. **Journal of Food Safety**. v. 27, p. 362–372, 2007.

MOLLA, B., YILMA, R., ALEMAYEHU, D. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria species* in retail meat and milk products in Addis Ababa, Ethiopia. **Ethiop J Health Dev**. v. 18, p. 208-212, 2004.

MONTAÑEZ, C. D. A., LOZANO, M. S. R, ESPINOSA, F. N., MORALES, R. A. A. Detection of *Salmonella* spp and *Listeria monocytogenes* in fresh and semi-cured cheeses that are sold on the street markets in Mexico City. **Vet Méx**. v.37, p. 417-429, 2006.

MONTERO, D.; BODERO, M.; RIVEROS, G.; LAPIERRE, L. *et al*. Molecular epidemiology and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from a wide variety of ready-to-eat foods and their relationship to clinical strains from listeriosis outbreaks in Chile. **Frontiers in microbiology,** v. 6, p. 384-384, 2015.

MORAES, P. M., VIÇOSA, G. N., YAMAZI, A. K, ORTOLANI, M. B., NERO, L. A. Foodborne Pathogens and Microbiological Characteristics of Raw Milk Soft Cheese Produced and on Retail Sale in Brazil. **Foodborne Pathogens And Disease**. v. 6, p. 245-250, 2009.

MOSHTAGHI, H.; MOHAMADPOUR, A. A. Incidence of *Listeria* spp. in raw milk in Shahrekord, Iran. **Foodborne Pathogens and Disease,** v. 4, n. 1, p. 107-110, 2007.

MOURA, S. M., DESTRO, M. T., FRANCO, B.D.G.M. Incidence of Listeria species in raw and pasteurized milk produced in Sao Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**. v. 13, p. 229-237, 1993.

NAYAK, D. N.; SAVALIA, C. V.; KALYANI, I. H.; KUMAR, R. et al. Isolation, identification, and characterization of *Listeria* spp. from various animal origin foods. **Veterinary World,** v. 8, n. 6, p. 695-701, 2015.

NDAHI, M. D.; KWAGA, J. K. P.; BELLO, M.; KABIR, J. *et al*. 'Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* and methicillin-resistant

*Staphylococcus aureus* strains from raw meat and meat products in Zaria, Nigeria. **Letters in applied microbiology,** v. 58, n. 3, p. 262-269, 2014.

NG, D. L. K.; SEAH, H. L. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from a range of foods in Singapore. **Food Control,** v. 6, n. 3, p. 171-173, 1995

ÖKTEM, A. B., BAYRAM, G., CEYLAN, A. E., YENTÜR, G. Prevalence of *Listeria monocytogenes* In Some Turkish Foodstuffs. **Journal of Food Quality**. v. 29, p. 76–86, 2006.

OSAILI, T. M.; AL-NABULSI, A. A.; TAHA, M. H.; AL-HOLY, M. A. *et al*. Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from brined white cheese in Jordan. **Journal of food science,** v. 77, n. 9, p. M528-32, 2012.

OZBEY, G.; ERTAS, H. B.; KOK, F. Prevalence of Listeria species in camel sausages from retail markets in Aydin province in Turkey and RAPD analysis of Listeria monocytogenes isolates. **Irish veterinary journal,** v. 59, n. 6, p. 342-344, 2006.

PAGADALA, S.; PARVEEN, S.; RIPPEN, T.; LUCHANSKY, J. B. *et al*. Prevalence, characterization and sources of *Listeria monocytogenes* in blue crab (Callinectus sapidus) meat and blue crab processing plants. **Food microbiology,** v. 31, n. 2, p. 263-270, 2012

PARIHAR, V. S.; BARBUDDHE, S. B.; DANIELSSON-THAM, M. L.; THAM, W. Isolation and characterization of Listeria species from tropical seafoods. **Food Control,** v. 19, n. 6, p. 566-569, 2008.

PELLICER, K.; COPES, J.; MALVESTITI, L.; LANFRANCHI, M. *et al*. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* and Listeria spp. in dry sausages obtained from markets of La Plata, Argentina. **Revista Argentina de Microbiologia,** v. 34, n. 4, p. 219-221, 2002.

PETTINATI, N. N., TELLES, E. O., BALLIAN, S. C. *Listeria monocytogenes* in Hot Dog Sausages Obtained From Groceries Stores in the city of São Paulo – A Comparative And Retrospective Analysis Of Human Listeriosis Isolates. **Vet. e Zootec**. v. 13, p.182-191, 2006.

PIERI, F. A.; COLOMBO, M.; MERHI, C. M.; JULIATI, V. A. *et al*. Risky consumption habits and safety of fluid milk available in retail sales outlets in Vicosa, Minas Gerais State, Brazil. **Foodborne pathogens and disease,** v. 11, n. 6, p. 490-496, 2014.

PONNIAH, J. *Listeria monocytogenes* in raw salad vegetables sold at retail level in Malaysia. **Food Control**. v. 21, p. 774–778, 2010.

RAPOSO, A.; CARRASCOSA, C.; PÉREZ, E.; SAAVEDRA, P. *et al*. Vending machines: Food safety and quality assessment focused on food handlers and the variables involved in the industry. **Food Control,** v. 56, p. 177-185, 2015.

REDA, W. W., ABDEL-MOEIN, K., HEGAZI, A., MOHAMED, Y., ABDEL-RAZIK, K. *Listeria monocytogenes*: An emerging food-borne pathogen and its public health implications. **J Infect Dev Ctries**. 2016;10:149-154.

RIVERA, C. S.; BLANCO, D.; ORIA, R.; VENTURINI, M. E. Diversity of culturable microorganisms and occurrence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in *Tuber aestivum* and *Tuber melanosporum* ascocarps. **Food microbiology,** v. 27, n. 2, p. 286-293, 2010.

RIVOAL, K.; FABLET, A.; COURTILLON, C.; BOUGEARD, S. et al. Detection of *Listeria* spp. in liquid egg products and in the egg breaking plants environment and tracking of Listeria monocytogenes by PFGE. **International Journal of Food Microbiology,** v. 166, n. 1, p. 109-116, 2013.

RIVOAL, K.; QUÉGUINER, S.; BOSCHER, E.; BOUGEARD, S. et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurized liquid whole eggs and characterization by PFGE. **International Journal of Food Microbiology,** v. 138, n. 1-2, p. 56-62, 2010.

RODRIGUES, J.; KALEKAR, S.; DOIJAD, S.; POHARKAR, K. et al. Prevalence and characterisation of Listeria spp. from seafood. **Indian Journal of Fisheries,** v. 62, n. 1, p. 139-143, 2015. ISSN 0970-6011.

RUDOLF, M., SCHERER, S. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. **International Journal of Food Microbiology**. v. 63, p. 91–98, 2001.

SADO, P. N.; JINNEMAN, K. C.; HUSBY, G. J.; SORG, S. M. *et al*. Identification of *Listeria monocytogenes* from unpasteurized apple juice using rapid test kits. **Journal of Food Protection,** v. 61, n. 9, p. 1199-1202, 1998.

SAFAEI, H. G.; JALALI, M.; HOSSEINI, A.; NARIMANI, T. *et al*. The prevalence of bacterial contamination of table eggs from retails markets by *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli* in Shahrekord, Iran. **Jundishapur Journal of Microbiology,** v. 4, n. 4, 2011.

SAGOO, S. K.; LITTLE, C. L.; MITCHELL, R. T. The microbiological examination of ready-to-eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. **Letters in Applied Microbiology,** v. 33, n. 6, p. 434-439, 2001.

SAKATE, R. I.; ARAGON, L. C.; RAGHIANTE, F.; LANDGRAF, M. *et al*. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in pre-sliced vacuum-packaged salami in São Paulo - Brazil. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion,** v. 53, n. 2, p. 184-187, 2003.

SANT'ANA, A. S.; IGARASHI, M. C.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. *et al*. Prevalence, populations and pheno- and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat vegetables marketed in Sao Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology,** v. 155, n. 1-2, p. 1-9, 2012

SAUDERS, B. D.; SANCHEZ, M. D.; RICE, D. H.; CORBY, J. *et al*. Prevalence and molecular diversity of *Listeria monocytogenes* in retail establishments. **Journal of food protection,** v. 72, n. 11, p. 2337-2349, 2009.

SEYOUM, E. T., WOLDETSADIK, D. A., MEKONEN, T. K., GEZAHEGN, H. A., *et al*. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw bovine milk and milk products from central highlands of Ethiopia. **J Infect Dev Ctries**. v. 9, p. 1204-1209, 2015.

SHEN, Y.; LIU, Y.; ZHANG, Y.; CRIPE, J. *et al*. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from ready-to-eat foods in Florida. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 72, n. 7, p. 5073-5076, 2006.

SORIANO, J. M.; RICO, H.; MOLTÓ, J. C.; MAÑES, J. Listeria species in raw and ready-to-eat foods from restaurants. **Journal of Food Protection,** v. 64, n. 4, p. 551-553, 2001.

SWETHA, C. S., RAO, T. M., KRISHNAIAH, N., KUMAR, V. A. Detection of *Listeria monocytogenes* in fish samples by PCR assay. **Annals of Biological Research**. v. 3, n. 4, p.1880-1884, 2012.

SYNE, S. M.; RAMSUBHAG, A.; ADESIYUN, A. A. Occurrence and genetic relatedness of Listeria spp. in two brands of locally processed ready-to-eat meats in Trinidad. **Epidemiology and Infection,** v. 139, n. 5, p. 718-727, 2011.

THIMOTHE, J.; WALKER, J.; SUVANICH, V.; GALL, K. L. *et al*. Detection of Listeria in crawfish processing plants and in raw, whole crawfish and processed crawfish (*Procambarus spp*.). **Journal of food protection,** v. 65, n. 11, p. 1735-1739, 2002.

TOBÍA, M. B.; MENGONI, G. B.; PELLÓN, H. S. *Listeria monocytogenes* and *Listeria* sp in heat-processed products. **Revista Argentina de microbiología,** v. 29, n. 2, p. 109-113, 1997.

TORRES-VITELA, M. R.; MENDOZA-BERNARDO, M.; CASTRO-ROSAS, J.; GOMEZ-ALDAPA, C. A. *et al*. Incidence of Salmonella, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Staphylococcal enterotoxin* in two types of Mexican fresh cheeses. **Journal of food protection,** v. 75, n. 1, p. 79-84, 2012.

VALDIMARSSON, G.; EINARSSON, H.; GUDBJÖRNSDOTTIR, B.; MAGNUSSON, H. Microbiological quality of Icelandic cooked-peeled shrimp (*Pandalus borealis*). **International Journal of Food Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 157-161, 1998.

VOIDAROU, C.; ALEXOPOULOS, A.; PLESSAS, S.; STAVROPOULOU, E. *et al*. Hygienic quality and antibiotic resistance profile of sliced butchery. **Anaerobe,** v. 17, n. 6, p. 344-350, 2011..

WAAK, E.; THAM, W.; DANIELSSON-THAM, M. L. Prevalence and fingerprinting of *Listeria monocytogenes* strains isolated from raw whole milk in farm bulk tanks and in dairy plant receiving tanks. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 68, n. 7, p. 3366-3370, 2002.

WANG, X. M.; LÜ, X. F.; YIN, L.; LIU, H. F. *et al*. Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolates from retail raw foods. **Food Control,** v. 32, n. 1, p. 153-158, 2013.

WESLEY, I. V., HARMON, K. M., DICKSON, J. S., SCHWARTZ, A. R. Application of a Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay for the Simultaneous Con rmation of *Listeria monocytogenes* and Other Listeria Species in Turkey Sample Surveillance. **Journal of Food Protection**. v. 65, p. 780–785, 2012.

WONG, T. L., CAREY-SMITH, G. V., HOLLIS, L., HUDSON, J. Á. Microbiological survey of prepackaged paté and ham in New Zealand. **Letters in Applied Microbiology**. v. 41, p. 106–111, 2005.

YEHIA, H. M., IBRAHEIM, S. M., HASSANEIN, W. A. Prevalence of Listeria species in some foods and their rapid identification. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. v. 15, p. 1047-1052, 2016.

YU, T.; JIANG, X. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail food in Henan, China. **Food Control,** v. 37, n. 1, p. 228-231, 2014.

ZADERNOWSKA, A., ANIEWSKA-TROKENHEIM, CHAJĘCKA, W. Detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* sp. rods in fish and fish products using the mini Vidas system. Med Weter. v.66, n. 4, p. 264–7.

### b) Taxa de contaminação por *L. monocytogenes* por grupo de alimentos

| AUTOR/ANO | N | POSITIVOS | LOCAL |
|---|---|---|---|
| **LEITE E DERIVADOS** | | | |
| Adetungi,2011 | 58 | 12 | Nigéria |
| Allmann,1995 | 90 | 12 | Suiça |
| Arrese,2013 | 51 | 0 | Espanha |
| Carrascosa, 2016 | 855 | 4 | Espanha |
| Costa, 2012 | 155 | 0 | Brasil |
| Donnely, 1988 | 939 | 15 | EUA |
| Farouk, 2015a | 80 | 3 | Egito |
| Gebretsadik, 2011a | 200 | 14 | Etiópia |
| Hamdi, 2007 | 153 | 4 | Argélia |
| Ibrahim, 1991a | 150 | 0 | Austrália |
| Kamana, 2014 | 330 | 0 | Ruanda |
| khan, 2013a | 250 | 3 | Índia |
| kinde, 2007 | 204 | 4 | EUA |
| kiss, 2006ª | 2299 | 88 | Hungria |
| Iannett, 2016 | 894 | 19 | Itália |
| Liandris, 2014a | 725 | 4 | Grécia |
| Mena, 2004ª | 455 | 9 | Portugal |
| Moshtaghi, 2007 | 500 | 8 | Iran |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Mohammad, 2010 | 360 | 6 | Iran |
| Molla, 2004ª | 107 | 9 | Etiópia |
| Montañes, 2006 | 120 | 0 | México |
| Moraes, 2009 | 55 | 0 | Brasil |
| Moura, 1993 | 440 | 21 | Brasil |
| Nayak, 2015ª | 85 | 3 | Índia |
| Ng, 1995a | 221 | 0 | Singapura |
| Okten, 2006a | 100 | 4 | Turquia |
| Osaili, 2012 | 350 | 39 | Jordânia |
| Pierri, 2014 | 229 | 0 | Brasil |
| Reda, 2016 1ª | 100 | 4 | Egito |
| Rudolf, 2001 | 329 | 21 | vários |
| Seyoum, 2015 | 443 | 25 | Etiópia |
| Torres-Vitela, 2012 | 200 | 18 | México |
| Villalobos, 2007 | 60 | 2 | Venezuela |
| Waak, 2002 | 294 | 3 | Suécia |
| Yehia, 2016 | 10 | 0 | Egito |
| **CÁRNEOS** | | | |
| Adiguzel,2015 | 250 | 19 | Turquia |
| Andrade,2014 | 162 | 12 | Brasil |
| Andritsos | 100 | 22 | Grécia |
| Autio,2000 | 300 | 32 | Finlândia |
| Benetti, 2013 | 51 | 7 | Brasil |
| Borges, 1999 | 81 | 11 | Brasil |
| Cohen, 2008 | 250 | 8 | Marrocos |
| Colak, 2005 | 300 | 35 | Turquia |
| De Cesare, 2007 | 525 | 148 | Itália |
| De Simon, 1992a | 168 | 29 | Espanha |
| El-malek, 2010 | 100 | 5 | Egito |
| Fai, 2011 | 40 | 17 | Brasil |
| Farouk, 2015b | 20 | 0 | Egito |
| Gebretsadik, 2011b | 76 | 2 | Etiópia |
| Goh, 2012 | 210 | 42 | Malásia |
| Ibrahim, 1991b | 150 | 25 | Austrália |
| Ichiro, 2003 | 45 | 3 | Brasil |
| Inoue, 2000a | 137 | 33 | Japão |
| khan, 2013b | 400 | 22 | Índia |
| kiss, 2006b | 12 | 2 | Hungria |
| Iannett, 2016 | 901 | 15 | Itália |
| Liandris, 2014b | 125 | 1 | Grécia |
| Manfreda, 2007 | 470 | 30 | Itália |
| Mantilla, 2007 | 30 | 2 | Brasil |
| Mena, 2004b | 164 | 16 | Portugal |
| Molla, 2004b | 166 | 6 | Etiópia |
| Nayak, 2015b | 50 | 0 | Índia |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ndahi, 2014 | 300 | 12 | Nigéria |
| Ng, 1995b | 95 | 8 | Singapura |
| Okten, 2006b | 80 | 11 | Turquia |
| Ozbey, 2006 | 100 | 9 | Turquia |
| Pellicer, 2002 | 60 | 1 | Argentina |
| Pettinati, 2012 | 394 | 56 | Brasil |
| Reda, 2016 2ª | 150 | 6 | Egito |
| Sakate, 2003 | 45 | 3 | Brasil |
| Tobia, 1997 | 30 | 5 | Argentina |
| Voidarou, 2011 | 200 | 2 | Grécia |
| Wang, 2013a | 417 | 50 | China |
| Wesley, 2002 | 150 | 57 | EUA |
| Wong, 2005 | 109 | 2 | Nova Zelândia |
| Yehia, 2016 | 30 | 2 | Egito |
| Yu,2014a | 821 | 56 | China |
| **FRUTOS DO MAR** | | | |
| Aguado,2001ª | 52 | 16 | Espanha |
| Ahmed,2013 | 71 | 20 | Egito |
| Beaufort,2007 | 626 | 41 | França |
| Bianchini, 1999 | 135 | 46 | Costa Rica |
| De Simon, 1992b | 40 | 3 | Espanha |
| Dillon, 1994 | 258 | 12 | Canadá |
| Gonzalez-Rodrigues, 2002 | 54 | 0 | Espanha |
| Hoffman, 2003 | 315 | 46 | EUA |
| Inoue, 2000b | 295 | 12 | Japão |
| Jeyasekaran, 1996 | 65 | 9 | Índia |
| Laciar, 2002 | 71 | 1 | Argentina |
| Lappi, 2004 | 72 | 30 | EUA |
| Leong, 2015 | 75 | 2 | Irlanda do Sul |
| Mena, 2004c | 33 | 3 | Portugal |
| Moharem, 2007 | 164 | 3 | Índia |
| Molla, 2004c | 43 | 1 | Etiópia |
| Nayak, 2015c | 50 | 0 | Índia |
| Pagdala, 2012 | 1112 | 23 | EUA |
| Parihar, 2008 | 115 | 10 | Índia |
| Rodrigues, 2015 | 221 | 4 | Índia |
| Valdimarson, 1998 | 7913 | 49 | Islândia |
| Wang, 2013b | 109 | 15 | China |
| Yu,2014b | 75 | 2 | China |
| Zadernoska, 2010 | 112 | 2 | Polônia |
| **HORTIFRUTIGRANJEIROS** | | | |
| Aparecida de Oliveira, 2010 | 162 | 2 | Brasil |
| Cardamone, 2015 | 125 | 3 | Itália |
| De Simon, 1992c | 103 | 8 | Espanha |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Inoue, 2000c | 285 | 0 | Japão |
| Johnston, 2005 | 398 | 0 | EUA |
| Losio, 2015a | 1372 | 51 | Itália |
| Mena, 2004d | 271 | 35 | Portugal |
| Okten, 2006c | 100 | 2 | Turquia |
| Yu, 2014c | 58 | 1 | China |
| Gebretsadik, 2011c | 115 | 5 | Etiópia |
| Rivoal, 2013 | 564 | 25 | França |
| Rivoal, 2010 | 432 | 31 | França |
| Safaei, 2011 | 100 | 0 | Iran |
| Sayed, 2012 | 300 | 21 | Egito |
| Kiss, 2006c | 26 | 1 | Hungria |
| **ALIMENTOS PRONTOS PARA O CONSUMO** | | | |
| Aguado,2001b | 369 | 34 | Espanha |
| Angelides, 2006 | 209 | 17 | Grécia |
| Awaisheh,2010 | 240 | 41 | Jordânia |
| Berrada, 2006 | 77 | 3 | Espanha |
| Bērziņš, 2009 | 211 | 38 | Letônia |
| Caggiano,2015 | 108 | 9 | Itália |
| Campos, 2015 | 20 | 4 | Portugal |
| Caponigro, 2010 | 1158 | 0 | Itália |
| Cordano, 2009 | 715 | 110 | Chile |
| Cho, 2004 | 402 | 2 | Coreia do Sul |
| Dababneh, 2012 | 60 | 2 | Jordânia |
| Eglezos, 2010 | 564 | 2 | Austrália |
| El-Shenawy, 2016 | 20 | 4 | Egito |
| Garcia-gimeno, 1996 | 70 | 21 | Espanha |
| Gelbíčová, 2009 | 2180 | 55 | República Checa |
| keeratipul, 2012 | 865 | 0 | Tailândia |
| kim, 2011 | 315 | 0 | Coréia do Sul |
| kotzekidou, 2013-1 | 206 | 14 | Grécia |
| kotzekidou, 2013-2[a] | 279 | 28 | Grécia |
| Kramarenko, 2016 | 370 | 42 | Estonia |
| Losio, 2015b | 1160 | 21 | Itália |
| Maklon, 2010 | 108 | 12 | Japão |
| Medrun, 2010 | 5840 | 11 | Reino Unido |
| Meldrun, 2006 | 3391 | 2 | Reino Unido |
| Meloni, 2009 | 200 | 19 | Itália |
| Montero, 2015 | 850 | 212 | Chile |
| Ng, 1995c | 316 | 6 | Singapura |
| Ponniah, 2010 | 306 | 69 | Malásia |
| Raposo, 2015 | 105 | 6 | Espanha |
| Sado, 1998 | 50 | 2 | EUA |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sagoo, 2001 | 3200 | 0 | Reino Unido |
| Sant'Ana, 2012 | 512 | 16 | Brasil |
| Sauders, 2009 | 183 | 5 | EUA |
| Shen, 2006 | 3063 | 91 | EUA |
| Soriano, 2001 | 103 | 3 | Espanha |
| Syne, 2011 | 480 | 39 | Trinida-Tobago |
| Swetha, 2012 | 60 | 2 | Índia |
| Thimothe, 2002 | 78 | 4 | EUA |
| **OUTROS** | | | |
| Farouk, 2015c | 50 | 1 | Egito |
| Rivera, 2010 | 40 | 3 | Espanha |
| Derra, 2013 | 240 | 10 | Etiópia |
| kiss, 2006d | 151 | 12 | Hungria |
| kotzekidou, 2013-2a | 78 | 11 | Grécia |
| Mena, 2004e | 112 | 4 | Portugal |

**Capítulo 03: Estudos de desenvolvimento**

AGERSBORG, A.; DAHL, R.; MARTINEZ, I. Sample preparation and DNA extraction procedures for polymerase chain reaction identification of *Listeria monocytogenes* in seafoods. **International Journal of Food Microbiology,** v. 35, n. 3, p. 275-280, 1997.

AMAGLIANI, G., OMICCIOLI, E., CAMPO, A., BRUCE, I. J., *et al*. Development of a magnetic capture hybridization-PCR assay for *Listeria monocytogenes* direct detection in milk samples. **Journal of Applied Microbiology**. 2006;100:375-83. doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02761.x.

ASLAM, M., HOGAN, J., SMITH, K. L. Development of a PCR-based assay to detect Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in milk. **Food Microbiology**. v. 20, p. 345–350, 2003.

AVOYNE, C.; BUTIN, M.; DELAVAL, J.; BIND, J. L. Specificity of a rapid method for the identification of *Listeria monocytogenes*: The Mono Confirm test. **Lait**, v. 76, n. 4, p. 405-411, 1996.

BADOSA, E.; CHICO, N.; PLA, M.; PARES, D. *et al*. Evaluation of ISO enrichment real-time PCR methods with internal amplification control for detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in fresh fruit and vegetables. **Letters in applied microbiology,** v. 49, n. 1, p. 105-111, 2009.

BANG, J.; BEUCHAT, L. R.; SONG, H.; GU, M. B. *et al*. Development of a random genomic DNA microarray for the detection and identification of *Listeria*

*monocytogenes* in milk. **International Journal of Food Microbiology,** v. 161, n. 2, p. 134-141, 2013.

BANSAL, N. S. Development of a polymerase chain reaction assay for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. **Letters in applied microbiology,** v. 22, n. 5, p. 353-356, 1996.

BANSAL, N. S.; MCDONELL, F. H.; SMITH, A.; ARNOLD, G. *et al*. Multiplex PCR assay for the routine detection of Listeria in food. **International journal of food microbiology,** v. 33, n. 2-3, p. 293-300, 1996.

BARRE, L.; BRASSEUR, E.; DOUX, C.; LOMBARD, B. *et al.* Sensitive enumeration of *Listeria monocytogenes* and other Listeria species in various naturally contaminated matrices using a membrane filtration method. **Food microbiology,** v. 48, p. 171-177, 2015

BEALE, D. J.; MORRISON, P. D.; PALOMBO, E. A. Detection of Listeria in milk using non-targeted metabolic profiling of Listeria monocytogenes: A proof-of-concept application. **Food Control,** v. 42, p. 343-346, 2014.

BECKER, B.; JORDAN, S.; HOLZAPFEL, W. H. Rapid and specific detection of *Listeria monocytogenes* in smoked salmon with BAX®-PCR. **Food Control,** v. 16, n. 8 SPEC. ISS., p. 717-721, 2005.

BERNARDI, G., Abrahão, W. M., Benetti, T. M., de Souza, V. R. Evaluation of the Detection Methods used for Investigation of Listeria and *Listeria monocytogenes*. **J Food Nutr Disor**. v. 4, p. 1-4, 2015.

BIAN, X., JINGA, F., LIA, G., FANA, X., *et al*. A microfluidic droplet digital PCR for simultaneous detection of pathogenic *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes*. Biosensors and Bioelectronics. v. 74, p. 770-777, 2015.

BIRD, P.; FLANNERY, J.; CROWLEY, E.; AGIN, J. *et al*. Evaluation of 3M Molecular Detection Assay (MDA) Listeria for the Detection of Listeria species in Selected Foods and Environmental Surfaces: Collaborative Study, First Action 2014.06. **Journal of AOAC International,** v. 98, n. 4, p. 993-1002, 2015.

BLAIS, B. W.; PHILLIPPE, L. M.; BURZYNSKI, M.; BIELECKI, J. Applicability of the PCR technique in the food testing laboratory: Identification of *Listeria monocytogenes*. **Biotechnology Techniques,** v. 9, n. 9, p. 629-632, 1995.

BÖHME, K.; FERNÁNDEZ-NO, I. C.; BARROS-VELÁZQUEZ, J.; GALLARDO, J. M. *et al*. Rapid species identification of seafood spoilage and pathogenic Gram-positive bacteria by MALDI-TOF mass fingerprinting. **Electrophoresis,** v. 32, n. 21, p. 2951-2965, 2011.

BOHNERT, M.; DILASSER, F.; DALET, C.; MENGAUD, J. *et al*. Use of specific oligonucleotides for direct enumeration of *Listeria monocytogenes* in food samples by colony hybridization and rapid detection by PCR. **Research in microbiology**, v. 143, n. 3, p. 271-280, 1992.

BRANDILY, M. L.; MONBET, V.; BUREAU, B.; BOUSSARD-PLÉDEL, C. *et al.* Identification of foodborne pathogens within food matrices by IR spectroscopy. **Sensors and Actuators, B: Chemical,** v. 160, n. 1, p. 202-206, 2011.

BRASSARD, J.; GUEVREMONT, E.; GAGNE, M.-J.; LAMOUREUX, L. Simultaneous recovery of bacteria and viruses from contaminated water and spinach by a filtration method. **International journal of food microbiology,** v. 144, n. 3, p. 565-568, 2011.

BURRIS, K. P.; WU, T.-C.; VASUDEV, M.; STROSCIO, M. A. *et al*. Mega-nano detection of foodborne pathogens and transgenes using molecular beacon and semiconductor quantum dot technologies. **IEEE transactions on nanobioscience,** v. 12, n. 3, p. 233-238, 2013.

CAO, B.; LI, R.; XIONG, S.; YAO, F. *et al*. Use of a DNA microarray for detection and identification of bacterial pathogens associated with fishery products. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 77, n. 23, p. 8219-8225, 2011.

CAPELL, C. J.; KIRBY, R. M.; MOSS, M. O. A method and medium for the electrical detection of *Listeria* spp. from food. **International journal of food microbiology,** v. 25, n. 2, p. 169-177, 1995.

CHEMBURU, S.; WILKINS, E.; ABDEL-HAMID, I. Detection of pathogenic bacteria in food samples using highly-dispersed carbon particles. **Biosensors & bioelectronics,** v. 21, n. 3, p. 491-499, 2005.

CHEN, S., LI, J., SALEH-LAKHA, S., ALLEN, V., ODUMERU, J. Multiple-locus variable number of tandem repeat analysis (MLVA) of *Listeria monocytogenes* directly in food samples. **Int J Food Microbiol**. v. 148, n. 1, p. 8–14. 2011.

CHEN, R., HUANG, X., XU, H., LI, Y. Plasmonic ELISA using nanospherical brushes as a catalase container for colorimetric detection of ultralow concentrations of *Listeria monocytogenes*. **Applied Materials & Interfaces**. V. 5, p. 1-36, 2015.

CHENG, C.; PENG, Y.; BAI, J.; ZHANG, X. *et al*. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in milk by self-assembled electrochemical immunosensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical,** v. 190, p. 900-906, 2014.

CHENG, N., XU, Y., YAN, X., SHANG, Y., *et al*. An advanced visual qualitative and EVA green-based quantitative isothermal amplification method to detect *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Safety**. v. 36, p. 237-246, 2016.

CHIANG, Y.-C.; TSEN, H.-Y.; CHEN, H.-Y.; CHANG, Y.-H. *et al*. Multiplex PCR and a chromogenic DNA macroarray for the detection of *Listeria monocytogens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp. and *Pseudomonas fluoresc*. **Journal of microbiological methods,** v. 88, n. 1, p. 110-116, 2012.

CHO, I.-H.; IRUDAYARAJ, J. Lateral-flow enzyme immunoconcentration for rapid detection of *Listeria monocytogenes*. **Analytical and bioanalytical chemistry,** v. 405, n. 10, p. 3313-3319, 2013.

CHO, I.-H.; MAUER, L.; IRUDAYARAJ, J. In-situ fluorescent immunomagnetic multiplex detection of foodborne pathogens in very low numbers. **Biosensors & bioelectronics,** v. 57, p. 143-148, 2014.

CHO, K. M.; KAMBIRANDA, D. M.; KIM, S. W.; MATH, R. K. *et al*. Simultaneous detection of food-borne pathogenic bacteria in ready-to-eat Kimbab using multiplex PCR method. **Food Science and Biotechnology,** v. 17, n. 6, p. 1240-1245, 2008.

CLOKE, J.; EVANS, K.; CRABTREE, D.; HUGHES, A. *et al*. Method Modification of the Thermo Scientific SureTect *Listeria monocytogenes* Assay for Raw Meat, Dairy, Produce, and Seafood. **Journal of AOAC International,** v. 98, n. 5, p. 1315-1324, 2015.

COMI, G.; VALENTI, M.; CIVILINI, M.; FUMAGALLI, C. *et al*. Evaluation of an enzymatic method for fast identification of *Listeria* spp. in cheese and meat products. **Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin = International journal of hygiene and environmental medicine,** v. 192, n. 2, p. 134-145, 1991.

COORAY, K. J., NISHIBORI, T., XIONG, H, MATSUYAMA, T., *et al*. Detection of Multiple Virulence-Associated Genes of *Listeria monocytogenes* by PCR in Artificially Contaminated milk samples. **Applied And Environmental Microbiology**. p. 3023-3026. 1994.

COX , T., FRAZIER, C., TUTTLE, J., FLOOD, S., *et al*. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in dairy sample utilizing a PCR-based fluorogenic 5′ nuclease assay. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. v. 60, p. 3023-26.

CROWLEY, E.; BIRD, P.; FLANNERY, J.; BENZINGER, M. J., JR. *et al*. Evaluation of VIDAS *Listeria monocytogenes* Xpress (LMX) for the detection of *Listeria monocytogenes* in a variety of foods: First Action 2013.11. **Journal of AOAC International,** v. 97, n. 2, p. 442-452, 2014

CROWLEY, E., *et al*. Evaluation of VIDAS UP Listeria assay (LPT) for the detection of Listeria in a variety of foods and environmental surfaces: First Action 2013.10. Journal of AOAC International, v. 97, n. 2, p. 431-441, 2014.

DATTA, A. R., MOORE, M. A.; WENTZ, B. A.; LANE, J. Identification and enumeration of *Listeria monocytogenes* by nonradioactive DNA probe colony hybridization. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 59, n. 1, p. 144-149, 1993.

DAY, J. B., BASAVANNA, U. Real-time PCR detection of *Listeria monocytogenes* in infant formula and lettuce following macrophage-based isolation and enrichment. **Journal of applied microbiology**. v. 46, p. 564-572, 2015.

DE MARTINIS, E. C. P., DUVALL, R. E., HITCHINS, A. D. Real-time PCR detection of 16S rRNA genes speeds most-probable-number enumeration of foodborne *Listeria monocytogenes*. **Journal of food protection**. v. 70, p. 1650-5, 2007.

DELIBATO, E.; GATTUSO, A.; MINUCCI, A.; AURICCHIO, B. *et al*. PCR experion automated electrophoresis system to detect *Listeria monocytogenes* in foods. **Journal of separation science,** v. 32, n. 21, p. 3817-3821, 2009.

DEPERROIS-LAFARGE, V.; MEHEUT, T. Use of the rpoB gene as an alternative to the V3 gene for the identification of spoilage and pathogenic bacteria species in milk and milk products. **Letters in Applied Microbiology,** v. 55, n. 2, p. 99-108, 2012.

DOMÍNGUEZ, L.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F.; DEL MAR BLANCO, M.; BRIONES, V. et al. Overlay technique for direct detection and identification of haemolytic Listeria on selective plating medium - Comparison of five media. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung,** v. 191, n. 1, p. 16-19, 1990.

DONNELLY, C. W.; BAIGENT, G. J.; BRIGGS, E. H. Flow cytometry for automated analysis of milk containing Listeria monocytogenes. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists,** v. 71, n. 3, p. 655-658, 1988.

DUFFY, G., CLOAK, O. M., SHERIDANA, J. J., BLAIRB, I. S., *et al*. The development of a combined surface adhesion and polymerase chain reaction technique in the rapid detection of *Listeria monocytogenes* in meat and poultry. **International Journal of Food Microbiology**. v. 49, p. 151–159, 1999.

D'URSO, O. F.; POLTRONIERI, P.; MARSIGLIANTE, S.; STORELLI, C., *et al*. A filtration-based real-time PCR method for the quantitative detection of viable *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in food samples. **Food microbiology**. v. 26, p. 311-6, 2009.

DUVALL, R. E.; HITCHINS, A. D. Pooling of noncollaborative multilaboratory data for evaluation of the use of DNA probe test kits in identifying *Listeria monocytogenes* strains. **Journal of Food Protection,** v. 60, n. 8, p. 995-997, 1997.

ENNAJI, H.; TIMINOUNI, M.; ENNAJI, M. M.; AIT M'HAND, R. *et al*. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in food by polymerase chain reaction. **Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France),** v. 55 Suppl, p. OL1104-10, 2009.

ERICSSON, H., STILHANDSKE, P. PCR detection of *Listeria monocytogenes* in ‘gravad’ rainbow. **International Journal of Food Microbiology**. v. 35, p. 281-285, 1997.

ETAYASH, H.; JIANG, K.; THUNDAT, T.; KAUR, K. Impedimetric detection of pathogenic Gram-positive bacteria using an antimicrobial peptide from class IIa bacteriocins. **Analytical chemistry,** v. 86, n. 3, p. 1693-1700, 2014.

FITTER, S.; HEUZENROEDER, M.; THOMAS, C. J. A combined PCR and selective enrichment method for rapid detection of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Applied Bacteriology,** v. 73, n. 1, p. 53-59, 1992.

FORGHANI, F., WEI, S., OH, D. H. A rapid multiplex Real-Time PCR high resolution melt curve assay for the simultaneous detection of *Bacilus cereus*, *Listeria monocytogenes* and *Staphilococcus aureus*. **Journal of Food Protection**. p. 810:15, 2016.

FU, Z.; ZHOU, X.; XING, D. Sensitive colorimetric detection of *Listeria monocytogenes* based on isothermal gene amplification and unmodified gold nanoparticles. **Methods (San Diego, Calif.),** v. 64, n. 3, p. 260-266, 2013.

FUCHIZAWA, I.; SHIMIZU, S.; OOTSUBO, M.; KAWAI, Y. et al. Specific and Rapid Quantification of Viable *Listeria monocytogenes* Using Fluorescence in situ Hybridization in Combination with Filter Cultivation. **Microbes and environments/JSME,** v. 24, n. 3, p. 273-275, 2009.

FURRER, B.; CANDRIAN, U.; HOEFELEIN, C.; LUETHY, J. Detection and identification of *Listeria monocytogenes* in cooked sausage products and in milk by in vitro amplification of haemolysin gene fragments. **The Journal of applied bacteriology,** v. 70, n. 5, p. 372-379, 1991.

GERMINI, A.; MASOLA, A.; CARNEVALI, P.; MARCHELLI, R. Simultaneous detection of *Escherichia coli* O175:H7, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* by multiplex PCR. **Food Control,** v. 20, n. 8, p. 733-738, 2009.

GIANNINO, M. L.; ALIPRANDI, M.; FELIGINI, M.; VANONI, L. *et al*. A DNA array based assay for the characterization of microbial community in raw milk. **Journal of microbiological methods,** v. 78, n. 2, p. 181-188, 2009.

GRAY, K. M.; BHUNIA, A. K. Specific detection of cytopathogenic *Listeria monocytogenes* using a two-step method of immunoseparation and cytotoxicity analysis. **Journal of microbiological methods,** v. 60, n. 2, p. 259-268, 2005.

GREWAL, M. K.; JAISWAL, P.; JHA, S. N. Detection of poultry meat specific bacteria using FTIR spectroscopy and chemometrics. **Journal of Food Science and Technology,** v. 52, n. 6, p. 3859-3869, 2014.

HAYASHI, M.; NATORI, T.; KUBOTA-HAYASHI, S.; MIYATA, M. *et al*. A New Protocol to Detect Multiple Foodborne Pathogens with PCR Dipstick DNA Chromatography after a Six-Hour Enrichment Culture in a Broad-Range Food Pathogen Enrichment Broth. **Biomed Research International**, 2013.

HEIN, I., KLEIN, D., LEHNER, A., BUBERT, A., *et al*. Detection and quantification of the iap gene of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by a new real-time quantitative PCR assay. **Res. Microbiol**. v. 152, p. 37–46, 2001.

HEO, E. J.; SONG, B. R.; PARK, H. J.; KIM, Y. J., *et al*. Rapid detection of *Listeria monocytogene*s by real-time PCR in processed meat and dairy products. **Journal of food protection**. v. 77, p. 453-8. 2014.

HERMAN, L. M. F.; DE RIDDER, H. F. M.; VLAEMYNCK, G. M. M. A multiplex PCR method for the identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in dairy samples. **Journal of Food Protection,** v. 58, n. 8, p. 867-872, 1995

HOU, H.-M.; CUI, Y.-N.; ZHANG, G.-L.; WANG, H.-Y. Detection of *Listeria monocytogenes* in foods by SYBR Green I melting curve. In: YU, L.;GUO, J.*, et al* (Ed.), v.781-784, 2013. p.1771-1775. ISBN 1022-6680 978-3-03785-813-4.

HOUGH, A. J.; HARBISON, S.-A.; SAVILL, M. G.; MELTON, L. D. *et al*. Rapid enumeration of *Listeria monocytogenes* in artificially contaminated cabbage using real-time polymerase chain reaction. **Journal of food protection,** v. 65, n. 8, p. 1329-1332, 2002.

HSIH, H. Y.; TSEN, H. Y. Combination of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in food samples. **Journal of food protection,** v. 64, n. 11, p. 1744-1750, 2001.

HUDSON, J. A.; LAKE, R. J.; SAVILL, M. G.; SCHOLES, P. et al. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in ham samples using immunomagnetic separation followed by polymerase chain reaction. **Journal of applied microbiology,** v. 90, n. 4, p. 614-621, 2001.

IKEDA, M.; YAMAGUCHI, N.; NASU, M. Rapid on-chip flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. **Journal of Health Science,** v. 55, n. 5, p. 851-856, 2009.

INGIANNI, A.; FLORIS, M.; PALOMBA, P.; MADEDDU, M. A. *et al.* Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in foods, by a combination of PCR and DNA probe. **Molecular and cellular probes,** v. 15, n. 5, p. 275-280, 2001.

INGIANNI, A.; QUARTUCCIO, M.; MADEDDU, M. A.; SANNA, A. *et al*. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in processed meat by a combined cultural-molecular method. **American Journal of Infectious Diseases**, v. 3, n. 3, p. 159-164, 2007.

ISONHOOD, J.; DRAKE, M.; JAYKUS, L.-A. Upstream sample processing facilitates PCR detection of *Listeria monocytogenes* in mayonnaise-based ready-to-eat (RTE) salads. **Food microbiology,** v. 23, n. 6, p. 584-590, 2006.

JAAKOHUHTA, S.; HARMA, H.; TUOMOLA, M.; LOVGREN, T. Sensitive Listeria spp. immunoassay based on europium(III) nanoparticulate labels using time-resolved fluorescence. **International journal of food microbiology,** v. 114, n. 3, p. 288-294, 2007.

JADHAV, S.; GULATI, V.; FOX, E. M.; KARPE, A. *et al*. Rapid identification and source-tracking of *Listeria monocytogenes* using MALDI-TOF mass spectrometry. **International journal of food microbiology,** v. 202, p. 1-9, 2015.

JANBU, A. O.; MORETRO, T.; BERTRAND, D.; KOHLER, A. FT-IR microspectroscopy: a promising method for the rapid identification of Listeria species. 278**:** 164-170 p. 2008.

JIN, D.; LUO, Y.; ZHANG, Z.; FANG, W. et al. Rapid molecular identification of Listeria species by use of real-time PCR and high-resolution melting analysis. **FEMS microbiology letters,** v. 330, n. 1, p. 72-80, 2012.

JIN, S.-Q.; YIN, B.-C.; YE, B.-C. Multiplexed bead-based mesofluidic system for detection of food-borne pathogenic bacteria. **Applied and environmental microbiology,** v. 75, n. 21, p. 6647-6654, 2009.

JOFRE, A., MARTIN, B., GARRIGA, M., HUGAS, M., et al. Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and Salmonella by multiplex PCR in cooked ham. **Food Microbiology**. v. 22, p. 109–115, 2005.

JOKERST, J. C.; ADKINS, J. A.; BISHA, B.; MENTELE, M. M. *et al*. Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens. **Analytical chemistry**, v. 84, n. 6, p. 2900-2907, 2012.

JUNG, Y. S.; FRANK, J. F.; BRACKETT, R. E.; CHEN, J. Polymerase chain reaction detection of *Listeria monocytogenes* on frankfurters using oligonucleotide primers targeting the genes encoding internalin AB. **Journal of food protection**, v. 66, n. 2, p. 237-241, 2003.

JUNGE, B.; BERGHOF-JAGER, K. Roche/BIOTECON Diagnostics LightCycler foodproof *L. monocytogenes* detection kit in combination with ShortPrep foodproof II Kit. Performance-Tested Method 070401. **Journal of AOAC International,** v. 89, n. 2, p. 374-398, 2006.

JUNGE, B.; GRONEWALD, C.; BERGHOF-JAGER, K. BIOTECON diagnostics foodproof *Listeria monocytogenes* Detection Kit, 5' nuclease in combination with the foodproof ShortPrep II Kit. **Journal of AOAC International,** v. 95, n. 1, p. 92-99, 2012

KACLIKOVA, E.; PANGALLO, D.; DRAHOVSKA, H.; ORAVCOVA, K. *et al*. Detection of *Listeria monocytogenes* in food, equivalent to EN ISO 11290-1 or ISO 10560, by a three-days polymerase chain reaction-based method. **Food Control,** v. 14, n. 3, p. 175-179, 2003

KANAYEVA, D. A.; WANG, R.; RHOADS, D.; ERF, G. F. et al. Efficient separation and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* using an impedance immunosensor based on magnetic nanoparticles, a microfluidic chip, and an interdigitated microelectrode. **Journal of food protection,** v. 75, n. 11, p. 1951-1959, 2012.

KANG, D. H.; FUNG, D. Y. Development and evaluation of a 24 well microtitre plate method for isolation of *Listeria* spp. or *Listeria monocytogenes* from foods. **Letters in applied microbiology,** v. 28, n. 4, p. 280-284, 1999.

KARPÍŠKOVÁ, R.; PEJCHALOVÁ, M.; MOKROŠOVÁ, J.; VYTŘASOVÁ, J. *et al*. Application of a chromogenic medium and the PCR method for the rapid confirmation of *L. monocytogenes* in foodstuffs. **Journal of Microbiological Methods,** v. 41, n. 3, p. 267-271, 2000.

KAWASAKI, S.; FRATAMICO, P. M.; HORIKOSHI, N.; OKADA, Y. et al. Evaluation of a multiplex PCR system for simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in foods and in food subjected to freezing. **Foodborne pathogens and disease,** v. 6, n. 1, p. 81-89, 2009.

KAWASAKI, S., *et al*. Multiplex real-time polymerase chain reaction assay for simultaneous detection and quantification of Salmonella species, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in ground pork samples. **Foodborne pathogens and disease,** v. 7, n. 5, p. 549-554, 2010.

KAYNAK, A., SAKALAR, E. A. rapid and cost-efficient technique for simultaneous/duplex detection of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*O157:H7 using real time PCR**. Journal of Food Safety**. p.1-8, 2015.

KIM, H.; BHUNIA, A. K. SEL, a selective enrichment broth for simultaneous growth of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes*. **Applied and environmental microbiology,** v. 74, n. 15, p. 4853-4866, 2008.

KIM, J. S.; TAITT, C. R.; LIGLER, F. S.; ANDERSON, G. P. Multiplexed magnetic microsphere immunoassays for detection of pathogens in foods. **Sensing and instrumentation for food quality and safety,** v. 4, n. 2, p. 73-81, 2010.

KIM, K.-P.; SINGH, A. K.; BAI, X.; LEPRUN, L.; BHUNIA, A. K. Novel PCR Assays Complement Laser Biosensor-Based Method and Facilitate Listeria Species Detection from Food. **Sensors**, v. 15, n. 9, p. 22672–22691, 2015.

KIM, S. Y., CHUNG, B., CHANG, J. H., JUNG, G. Y., KIM, H. W. Simultaneous Identification of 13 Foodborne Pathogens by Using Capillary Electrophoresis–Single Strand Conformation Polymorphism Coupled with Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification and Its Application in Foods. **Foodborne pathogens and disease**. 2016.

KLEIN, P. G.; JUNEJA, V. K. Sensitive detection of viable *Listeria monocytogenes* by reverse transcription-PCR. **Applied and environmental microbiology**, v. 63, n. 11, p. 4441–4448, 1997.

KNABEL, S. J. Optimized, one-step, recovery-enrichment broth for enhanced detection of *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk and hot dogs. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 2, p. 501–504, 2002.

KOO, K.; JAYKUS, L.-A. Detection of *Listeria monocytogenes* from a model food by fluorescence resonance energy transfer-based PCR with an asymmetric fluorogenic probe set. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 2, p. 1082–1088, 2003.

KRETZER, J. W.; LEHMANN, R.; SCHMELCHER, M.; et al. Use of high-affinity cell wall-binding domains of bacteriophage endolysins for immobilization and separation of bacterial cells. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 6, p. 1992–2000, 2007.

KUMAR, T. D. K.; MURALI, H. S.; BATRA, H. V. Simultaneous detection of pathogenic B. cereus, S. aureus and *L. monocytogenes* by multiplex PCR. **Indian journal of microbiology**, v. 49, n. 3, p. 283–289, 2009.

LABERGE, I.; BLAIS, B. W.; PANDIAN, S. Detection of *Listeria monocytogenes* inoculated in dairy products by AmpliScript(TM). **Food Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 283–290, 1997.

LACHICA, R. V. Same-day identification scheme for colonies of *Listeria monocytogenes*. **Applied and environmental microbiology**, v. 56, n. 4, p. 1166–1168, 1990.

LAMPEL, K. A.; ORLANDI, P. A.; KORNEGAY, L. Improved template preparation for PCR-based assays for detection of food-borne bacterial pathogens. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4539–4542, 2000.

LEE, H. Y.; CHAI, L. C.; PUI, C. F.; et al. Using RAPD-PCR as molecular assessment on the performance of CHROMAgarTM Listeria and PALCAM agar on isolation of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* from foods. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 2, p. 501–556, 2011.

LEE, N.; KWON, K. Y.; OH, S. K.; et al. A multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* in Korean ready-to-eat food. **Foodborne pathogens and disease**, v. 11, n. 7, p. 574–580, 2014.

LI, X.; LV, P.; WANG, L.; et al. Application of high resolution pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry (HRPGC/MS) for detecting *Listeria monocytogenes*. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 971, p. 107–111, 2015.

Li Y. Establishment and application of a visual DNA microarray for the detection of food-borne pathogens. **Journal of Food Safety**. 2016, 32:215:18.

LIMING S. M., ZHANG Y., MENG J., BHACWAT A. A. Detection of *Listeriu monocytogene* in Fresh Produce Using Molecular Beacon-Real-time PCR Technology. Food Microbiology and Safety. Vol. 69, Nr. 8,2004.

LIU, H.; ZHAN, F.; LIU, F.; et al. Visual and sensitive detection of viable pathogenic bacteria by sensing of RNA markers in gold nanoparticles based paper platform. **Biosensors & bioelectronics**, v. 62, p. 38–46, 2014.

LIU, Z.; ZHU, J.; XIA, X.; et al. Development of a Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay Based on lmo0460 Sequence for Detection of *Listeria monocytogenes.* **Journal of Food Safety**, v. 35, n. 3, p. 362–369, 2015.

LOESSNER, M. J.; RUDOLF, M.; SCHERER, S. Evaluation of luciferase reporter bacteriophage A511::luxAB for detection of *Listeria monocytogenes* in contaminated foods. **Applied and environmental microbiology**, v. 63, n. 8, p. 2961–2965, 1997.

LONGHI, C.; MAFFEO, A.; PENTA, M.; et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in Italian-style soft cheeses. **Journal of applied microbiology**, v. 94, n. 5, p. 879–885, 2003.

MAKINO, S.-I.; OKADA, Y.; MARUYAMA, T. A new method for direct detection of *Listeria monocytogenes* from foods by PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 10, p. 3745–3747, 1995.

MANZANO, M.; COCOLIN, L.; CANTONI, C.; COMI, G. A rapid method for the identification and partial serotyping of *Listeria monocytogenes* in food by PCR and restriction enzyme analysis. **International journal of food microbiology**, v. 42, n. 3, p. 207–212, 1998.

MATTINGLY, J. A.; BUTMAN, B. T.; PLANK, M. C.; DURHAM, R. J.; ROBISON, B. J. Rapid monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Listeria in food products. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, v. 71, n. 3, p. 679–681, 1988.

MAYRL, E.; ROEDER, B.; MESTER, P.; WAGNER, M.; ROSSMANITH, P. Broad range evaluation of the matrix solubilization (matrix lysis) strategy for direct enumeration of foodborne pathogens by nucleic acids technologies. **Journal of food protection**, v. 72, n. 6, p. 1225–1233, 2009.

MURAKAMI, T. Filter-based pathogen enrichment technology for detection of multiple viable foodborne pathogens in 1 day. **Journal of food protection**, v. 75, n. 9, p. 1603–1610, 2012.

NADAL, A.; COLL, A.; COOK, N.; PLA, M. A molecular beacon-based real time NASBA assay for detection of *Listeria monocytogenes* in food products: role of target mRNA secondary structure on NASBA design. **Journal of microbiological methods**, v. 68, n. 3, p. 623–632, 2007.

NAVAS, J.; ORTIZ, S.; MARTINEZ-SUAREZ, J. V. Simultaneous detection of *listeria monocytogenes* in chicken meat enrichments by PCR and reverse-transcription PCR without DNA/RNA isolation. **Journal of food protection**, v. 68, n. 2, p. 407–410, 2005.

NGUYEN, L. T.; GILLESPIE, B. E.; NAM, H. M.; MURINDA, S. E.; OLIVER, S. P. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in beef products by real-time polymerase chain reaction. **Foodborne pathogens and disease**, v. 1, n. 4, p. 231–240, 2004.

NIEDERHAUSER, C.; LUTHY, J.; CANDRIAN, U. Direct detection of *Listeria monocytogenes* using paramagnetic bead DNA extraction and enzymatic DNA amplification. **Molecular and cellular probes**, v. 8, n. 3, p. 223–228, 1994.

NITECKI, S. S.; TEAPE, N.; CARNEY, B. F.; SLATER, J. W.; BRUCK, W. M. A duplex qPCR for the simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* using LNA probes. **Letters in applied microbiology**, v. 61, n. 1, p. 20–27, 2015.

NIU, P. H.; ZHANG, C.; WANG, J.; TAN, W. J.; MA, X. J. Detection and identification of six foodborne bacteria by two-tube multiplex real time PCR and melting curve analysis. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 27, n. 10, p. 770–778, 2014.

NOGVA, H. K.; RUDI, K.; NATERSTAD, K.; HOLCK, A.; LILLEHAUG, D. Application of 5'-nuclease PCR for quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in pure cultures, water, skim milk, and unpasteurized whole milk. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4266–4271, 2000.

O'CONNOR, L.; JOY, J.; KANE, M.; SMITH, T.; MAHER, M. Rapid polymerase chain reaction/DNA probe membrane-based assay for the detection of Listeria and *Listeria monocytogenes* in food. **Journal of food protection**, v. 63, n. 3, p. 337–342, 2000.

O' GRADY, J.; SEDANO-BALBAS, S.; MAHER, M.; SMITH, T.; BARRY, T. Rapid real-time PCR detection of *Listeria monocytogenes* in enriched food samples based on the ssrA gene, a novel diagnostic target. **Food microbiology**, v. 25, n. 1, p. 75–84, 2008.

O'GRADY, J.; RUTTLEDGE, M.; SEDANO-BALBAS, S.; et al. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in food using culture enrichment combined with real-time PCR. **Food microbiology**, v. 26, n. 1, p. 4–7, 2009.

Oh SJ, Park BH, Choi G, Seo JH, Jung JH, Choi JS, Kim DH, Seo TS. Fully automated and colorimetric foodborne pathogen detection on na integrated centrifugal microfluid device. **Lab Chip**, 2016.

OHK, S. H.; KOO, O. K.; SEN, T.; YAMAMOTO, C. M.; BHUNIA, A. K. Antibody-aptamer functionalized fibre-optic biosensor for specific detection of *Listeria monocytogenes* from food. **Journal of applied microbiology**, v. 109, n. 3, p. 808–817, 2010.

OHK, S.-H.; BHUNIA, A. K. Multiplex fiber optic biosensor for detection of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* from ready-to-eat meat samples. **Food microbiology**, v. 33, n. 2, p. 166–171, 2013.

OKWUMABUA, O.; SWAMINATHAN, B.; EDMONDS, P.; et al. Evaluation of a chemiluminescent DNA probe assay for the rapid confirmation of *Listeria monocytogenes*. **Research in microbiology**, v. 143, n. 2, p. 183–189, 1992.

OMICCIOLI, E.; AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; MAGNANI, M. A new platform for Real-Time PCR detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in milk. **Food microbiology**, v. 26, n. 6, p. 615–622, 2009.

ORAVCOVA, K.; KUCHTA, T.; KACLIKOVA, E. A novel real-time PCR-based method for the detection of *Listeria monocytogenes* in food. **Letters in applied microbiology**, v. 45, n. 5, p. 568–573, 2007.

PARK, Y. S.; LEE, S. R.; KIM, Y. G. Detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureu*s and *Listeria monocytogenes* in Kimchi by multiplex polymerase chain reaction (mPCR). **Journal of Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 92–97, 2006.

PENG, H.; SHELEF, L. A. Automated simultaneous detection of low levels of listeriae and salmonellae in foods. **International journal of food microbiology**, v. 63, n. 3, p. 225–233, 2001

PENG, H.; SHELEF, L. A. Rapid detection of low levels of Listeria in foods and next-day confirmation of *L. monocytogenes*. **Journal of microbiological methods**, v. 41, n. 2, p. 113–120, 2000.

PERES, N. D.; LANGE, C. C.; BRITO, M. A. V. P.; et al. Detection of *Listeria monocytogenes* by PCR in artificially contaminated milk samples. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia, v. 62, n. 4, p. 973–979, 2010.

POCHOP, J.; KACANIOVA, M.; HLEBA, L.; et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food by Step One real-time polymerase chain reaction. **Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 47, n. 3, p. 212–216, 2012.

RANTSIOU, K.; ALESSANDRIA, V.; URSO, R.; DOLCI, P.; COCOLIN, L. Detection, quantification and vitality of *Listeria monocytogenes* in food as determined by quantitative PCR. **International journal of food microbiology**, v. 121, n. 1, p. 99–105, 2008.

RATTANACHAIKUNSOPON, P.; PHUMKHACHORN, P. Identification of viable Listeria species based on reverse transcription-multiplex PCR (RT-MPCR) and restriction digestion. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 76, n. 6, p. 1189–1194, 2012.

RUDI, K.., NATERSTAD, K., DRØMTORP, S. M., HOLO, H. Detection of viable and dead *Listeria monocytogenes* on gouda-like cheeses by real-time PCR. **Letters in Applied Microbiology** 2005, 40, 301–306.

RIP, D.; GOUWS, P. A. Development of an internal amplification control using multiplex PCR for the detection of *Listeria monocytogenes* in food products. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. 3, p. 190–196, 2009.

ROSSMANITH, P.; KRASSNIG, M.; WAGNER, M.; HEIN, I. Detection of *Listeria monocytogenes* in food using a combined enrichment/real-time PCR method targeting the prfA gene. **Research in microbiology**, v. 157, n. 8, p. 763–771, 2006.

RUIZ-RUEDA, O.; SOLER, M.; CALVÓ, L.; GARCÍA-GIL, J. L. Multiplex Real-time PCR for the Simultaneous Detection of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in Food Samples. **Food Analytical Methods**, v. 4, n. 2, p. 131–138, 2011.

RUSSO, P.; BOTTICELLA, G.; CAPOZZI, V.; et al. A fast, reliable, and sensitive method for detection and quantification of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia*

*coli* O157:H7 in ready-to-eat fresh-cut products by MPN-qPCR. **BioMed research international**, v. 2014, p. 608296, 2014.

RUSSO P, BOTTICELLA G, AMODIO ML, COLELLI G, CAVAIUOLO M, FERRANTE A, MASSA S, SPANO G, BENEDUCE L. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Fresh Cut Vegetables Using MPN-Real-Time PCR. **Acta Hort**. 2015, 1071:567-74.

RYU, J., PARK, S. H., YEOM, Y. S., SHRIVASTAV, A., *et al*. Simultaneous detection of Listeria species isolated from meat processed foods using multiplex PCR. **Food Control**. v. 32, p. 659-664, 2013.

SAGARZAZU GRAU, N. Optimizing the technique of High Resolution Liquid Chromatography for detection and identification of acetic-acid bacteria of interest in the production of vinegar. **Alimentaria**, n. 445, p. 40–45, 2013.

SCHMELCHER, M.; SHABAROVA, T.; EUGSTER, M. R.; et al. Rapid multiplex detection and differentiation of Listeria cells by use of fluorescent phage endolysin cell wall binding domains. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 17, p. 5745–5756, 2010.

SCHMID, M.; WALCHER, M.; BUBERT, A.; et al. Nucleic acid-based, cultivation-independent detection of Listeria spp. and genotypes of *L. monocytogenes*. **Fems Immunology and Medical Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 215–225, 2003.

SHARMA, H.; MUTHARASAN, R. Rapid and sensitive immunodetection of *Listeria monocytogenes* in milk using a novel piezoelectric cantilever sensor. **Biosensors & bioelectronics**, v. 45, p. 158–162, 2013.

SHERIDAN, J. J.; DUFFY, G.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, I. S. Development of a surface adhesion immunofluorescent technique for the rapid isolation of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat. **Journal of Applied Microbiology**, v. 82, n. 2, p. 225–232, 1997.

SHI, L.; WU, F.; WEN, Y.; et al. A novel method to detect *Listeria monocytogenes* via superparamagnetic lateral flow immunoassay. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 407, n. 2, p. 529–535, 2015.

SHIM, W.-B.; CHOI, J.-G.; KIM, J.-Y.; et al. Production of monoclonal antibody against *Listeria monocytogenes* and its application to immunochromatography strip test. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 7, p. 1152–1161, 2007.

SHU, B.; ZHANG, C.; XING, D. Segmented continuous-flow multiplex polymerase chain reaction microfluidics for high-throughput and rapid foodborne pathogen detection. **Analytica chimica acta**, v. 826, p. 51–60, 2014.

SIGERA NADUGALA, L. M. N.; RAKSHIT, S. K. DNase treated DNA multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection of viable food borne pathogens. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 35, n. 4, p. 225–233, 2007.

SINGH, J.; BATISH, V. K.; GROVER, S. A molecular beacon-based duplex real-time polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in milk and milk products. **Foodborne pathogens and disease**, v. 6, n. 10, p. 1195–1201, 2009.

SOMER, L.; KASHI, Y. A PCR method based on 16S rRNA sequence for simultaneous detection of the genus Listeria and the species *Listeria monocytogenes* in food products. **Journal of food protection**, v. 66, n. 9, p. 1658–1665, 2003.

SRIVIDYA, Y.; KINGSTON, J. J.; MURALI, H. S.; BATRA, H. V. Rapid and concurrent detection of Listeria species by multiplex PCR. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 4, n. 1, p. B106–B116, 2013.

STARBUCK, M. A.; HILL, P. J.; STEWART, G. S. Ultra sensitive detection of *Listeria monocytogenes* in milk by the polymerase chain reaction (PCR**). Letters in applied microbiology**, v. 15, n. 6, p. 248–252, 1992.

STEPHAN, R.; SCHUMACHER, S.; ZYCHOWSKA, M. A. The VIT technology for rapid detection of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. **International journal of food microbiology**, v. 89, n. 2-3, p. 287–290, 2003.

STEVENS, K. A.; JAYKUS, L.-A. Direct detection of bacterial pathogens in representative dairy products using a combined bacterial concentration-PCR approach. **Journal of applied microbiology**, v. 97, n. 6, p. 1115–1122, 2004.

SUO, B.; HE, Y.; PAOLI, G.; et al. Development of an oligonucleotide-based microarray to detect multiple foodborne pathogens. **Molecular and cellular probes**, v. 24, n. 2, p. 77–86, 2010.

TAIT, E.; PERRY, J. D.; STANFORTH, S. P.; DEAN, J. R. Bacteria detection based on the evolution of enzyme-generated volatile organic compounds: determination of *Listeria monocytogenes* in milk samples. **Analytica chimica acta**, v. 848, p. 80–87, 2014.

TANG, M.-J.; ZHOU, S.; ZHANG, X.-Y.; et al. Rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* by loop-mediated isothermal amplification. **Current microbiology**, v. 63, n. 6, p. 511–516, 2011.

TAO, T.; CHEN, Q.; BIE, X.; LU, F.; LU, Z. Mining of novel species-specific primers for PCR detection of *Listeria monocytogenes* based on genomic approach. **World journal of microbiology & biotechnology**, 2015.

THOMAS EJG, KING R, BURCHAK J, GANNON VPJ. Sensitive and Specific Detection of Listeria monocytogenes in Milk and Ground Beef with the Polymerase Chain Reaction. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Sept. 1991, p. 2576-2580.

UEDA, S.; IWASE, M.; KUWABARA, Y. Evaluation of immunochromatography for the rapid and specific identification of *Listeria monocytogenes* from food. **Biocontrol science**, v. 18, n. 3, p. 157–161, 2013.

VILLAMIZAR-RODRIGUEZ, G.; FERNANDEZ, J.; MARIN, L.; et al. Multiplex detection of nine food-borne pathogens by mPCR and capillary electrophoresis after using a universal pre-enrichment medium. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1194, 2015.

VITAS, A. I.; DIEZ-LETURIA, M.; TABAR, L.; GONZALEZ, D. Improving the methodology for *Listeria monocytogenes* detection in smoked salmon by using the wet pooling test. **International journal of food microbiology**, v. 184, p. 109–112, 2014.

VONGKAMJAN, K., FUANGPAIBOON, J., TURNER, M. P., VUDDHAKUL, V. Various Ready-to-Eat Products from Retail Stores Linked to Occurrence of Diverse *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. Isolates. **Journal of Food Protection**, v. 79,n. 2, p. 239–245, 2016.

WAN, J.; KING, K.; FORSYTH, S.; COVENTRY, M. J. Detection of *Listeria monocytogenes* in salmon using the Probelia polymerase chain reaction system. **Journal of food protection**, v. 66, n. 3, p. 436–440, 2003.

WANG, C.; HONG, C. Quantitative PCR for *Listeria monocytogenes* with colorimetric detection. **Journal of food protection**, v. 62, n. 1, p. 35–39, 1999.

WANG, H.; LI, Y.; WANG, A.; SLAVIK, M. Rapid, sensitive, and simultaneous detection of three foodborne pathogens using magnetic nanobead-based immunoseparation and quantum dot-based multiplex immunoassay. **Journal of food protection**, v. 74, n. 12, p. 2039–2047, 2011.

WANG, J.; XIE, X.; FENG, J.; et al. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in milk using confocal micro-Raman spectroscopy and chemometric analysis. **International journal of food microbiology**, v. 204, p. 66–74, 2015.

WANG, R. F.; CAO, W. W.; JOHNSON, M. G. 16S rRNA-based probes and polymerase chain reaction method to detect *Listeria monocytogenes* cells added to foods. **Applied and environmental microbiology**, v. 58, n. 9, p. 2827–2831, 1992.

WANG, Y.; WANG, Y.; MA, A.; LI, D.; YE, C. Rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* by cross-priming amplification of lmo0733 gene. **FEMS microbiology letters**, 2014.

WANG, Z.; MIU, T.; XU, H.; et al. Sensitive immunoassay of *Listeria monocytogenes* with highly fluorescent bioconjugated silica nanoparticles probe. **Journal of microbiological methods**, v. 83, n. 2, p. 179–184, 2010.

WERNARS, K., HEUVELMAN, C. J., CHAKRABORTY, T., NOTERMANS, S. H. W. Use of the polymerase chain reaction for direct detection of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. **Journal of Applied Bacteriology**. v. 70,p. 121-126, 1991.

WU, R.; LIU, X.; GUO, B.; CHEN, F.; WANG, X. Development of double loop-mediated isothermal amplification to detect *Listeria monocytogenes* in food. **Current microbiology**, v. 69, n. 6, p. 839–845, 2014.

XU, Y.; CUI, L.; TIAN, C.; et al. A multiplex polymerase chain reaction coupled with high-performance liquid chromatography assay for simultaneous detection of six foodborne pathogens. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 778–783, 2012.

YANG, Y.; XU, F.; XU, H.; et al. Magnetic nano-beads based separation combined with propidium monoazide treatment and multiplex PCR assay for simultaneous detection of viable *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in food products. **Food microbiology**, v. 34, n. 2, p. 418–424, 2013.

YE, L.; LI, Y.; ZHAO, J.; et al. Development of a real-time loop-mediated isothermal amplification assay for the sensitive and rapid detection of *Listeria monocytogenes*. **Letters in applied microbiology**, v. 61, n. 1, p. 85–90, 2015.

YUAN, Y.; XU, W.; ZHAI, Z.; et al. Universal primer-multiplex PCR approach for simultaneous detection of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* spp. in food samples. **Journal of food science**, v. 74, n. 8, p. M446–52, 2009.

ZHANG, D.; ZHANG, H.; YANG, L.; et al. Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 in food samples using multiplex pcr method. **Journal of Food Safety**, v. 29, n. 3, p. 348–363, 2009.

ZHANG, L., HUANG, R., LIU, W., LIU, H., ZHOU, X., XING, D. Rapid andvisual detection of *Listeria monocytogenes* based on nanoparticle cluster catalyzed sign alamplification. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 81, p. 1–7, 2016.

**Capítulo 03: Estudos de validação**

ALLES, S.; PENG, L. X.; MOZOLA, M. A. Validation of a modification to Performance-Tested Method 010403: microwell DNA hybridization assay for detection of Listeria spp. in selected foods and selected environmental surfaces. **Journal of AOAC International**, v. 92, n. 2, p. 438–448, 2009.

ALLES, S.; CURRY, S.; ALMY, D.; et al. Reveal Listeria 2.0 test for detection of *Listeria* spp. in foods and environmental samples. **Journal of AOAC International**, v. 95, n. 2, p. 424–434, 2012.

ALLES, S.; PENG, L. X.; MOZOLA, M. A. Validation of a modification to Performance-Tested Method 070601: Reveal Listeria Test for detection of *Listeria* spp. in selected foods and selected environmental samples. **Journal of AOAC International**, v. 92, n. 2, p. 449–458, 2009.

ARIAS, M. L.; CHAVES, C.; SOLANO, G. Evaluation of the polymerase chain reaction (PCR) for the detection and identification of *Listeria monocytogens* in fresh cheese coming from the metropolitan area of San Jose, Costa Rica. **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 60, n. 4, p. 391–396, 2010.

AZNAR, R.; ALARCON, B. PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of multiple factors affecting sensitivity. **Journal of applied microbiology**, v. 95, n. 5, p. 958–966, 2003.

BANERJEE, P.; BHUNIA, A. K. Cell-based biosensor for rapid screening of pathogens and toxins. **Biosensors & bioelectronics,** v. 26, n. 1, p. 99-106, 2010.

BARBAU-PIEDNOIR, E.; BOTTELDOORN, N.; MAHILLON, J.; DIERICK, K.; ROOSENS, N. H. Fast and discriminative CoSYPS detection system of viable *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. in carcass swab samples. **International journal of food microbiology**, v. 192, p. 103–110, 2015.

BARBAU-PIEDNOIR, E.; BOTTELDOORN, N.; YDE, M.; MAHILLON, J.; ROOSENS, N. H. Development and validation of qualitative SYBR(R)Green real-time PCR for detection and discrimination of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 9, p. 4021–4037, 2013.

BURBANO, E.; SIERRA, S.; TORRES, K.; MERCADO, M.; CARRASCAL, A.; POUTOU, R. Rapid DNA extraction and pcr validation for direct detection of *Listeria monocytogenes* in raw milk. **Rev. MVZ Córdoba**, v. 11, n. 1,p. 715-724, 2006.

BRES, V.; YANG, H.; HSU, E.; et al. Atlas((R)) *Listeria monocytogenes* LmG2 Detection Assay Using Transcription Mediated Amplification to Detect *Listeria monocytogenes* in Selected Foods and Stainless Steel Surface. **Journal of AOAC International**, v. 97, n. 5, p. 1343–1358, 2014.

CABALLERO, O.; ALLES, S.; WENDORF, M.; et al. Validation of the ANSR(R) Listeria Method for Detection of *Listeria* spp. in Selected Foods. **Journal of AOAC International**, v. 98, n. 5, p. 1290–1300, 2015.

CHARLERMROJ, R.; MAKORNWATTANA, M.; GRANT, I. R.; ELLIOTT, C. T.; KAROONUTHAISIRI, N. Validation of a high-throughput immunobead array technique for multiplex detection of three foodborne pathogens in chicken products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 224, p. 47-54, 2016.

CLOKE, J.; ARIZANOVA, J.; CRABTREE, D.; SIMPSON, H.; EVANS, K.; VAAHTORANTA, L.; PALOMÄKI, J. P.; ARTIMO, P.; HUANG, F.; LIIKANEN, M.; KOSKELA, S. Validation of the Applied Biosystems 7500 Fast Instrument for Detection of Listeria monocytogenes with the SureTect *Listeria monocytogenes* PCR Assay. **J AOAC Int**., v. 99, n. 3, p. 676-85, 2016.

D'AGOSTINO, M.; WAGNER, M.; VAZQUEZ-BOLAND, J. A.; et al. A validated PCR-based method to detect *Listeria monocytogenes* using raw milk as a food model--towards an international standard. **Journal of food protection**, v. 67, n. 8, p. 1646–1655, 2004.

FELDSINE, P. T.; KERR, D. E.; LIENAU, A. H. Validation study to demonstrate the equivalence of a minor modification of Assurance Enzyme Immunoassay method, Official Method 996.14, for detection of Listeria in foods and environmental surfaces to the reference culture methods. **Journal of AOAC International**, v. 91, n. 1, p. 159–163, 2008.

FORTES, E. D.; DAVID, J.; KOERITZER, B.; WIEDMANN, M. Validation of the 3M molecular detection system for the detection of listeria in meat, seafood, dairy, and retail environments. **Journal of food protection**, v. 76, n. 5, p. 874–878, 2013.

GIANFRANCESCHI, M. V.; RODRIGUEZ-LAZARO, D.; HERNANDEZ, M.; *et al*. European validation of a real-time PCR-based method for detection of Listeria monocytogenes in soft cheese. **International journal of food microbiology**, v. 184, p. 128–133, 2014.

HOCHBERG, A. M.; ROERING, A.; GANGAR, V.; et al. Sensitivity and specificity of the BAX for screening/*Listeria monocytogenes* assay: internal validation and independent laboratory study. **Journal of AOAC International**, v. 84, n. 4, p. 1087–1097, 2001.

LAUER, W. F.; FACON, J.-P.; PATEL, A. Evaluation of a chromogenic medium for identification and differentiation of *Listeria monocytogenes* in selected foods. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 2, p. 511–517, 2005.

LONCAREVIC, S.; OKLAND, M.; SEHIC, E.; NORLI, H. S.; JOHANSSON, T. Validation of NMKL method No. 136--*Listeria monocytogenes*, detection and enumeration in foods and feed. **International journal of food microbiology**, v. 124, n. 2, p. 154–163, 2008.

OYARZABAL, O. A.; BEHNKE, N. M.; MOZOLA, M. A. Validation of a microwell DNA probe assay for detection of *Listeria* spp. in foods Performance-tested method 010403. **Journal of AOAC International**, v. 89, n. 3, p. 651–668, 2006.

PETRONE, G.; POLIDORO, M.; DONNARUMMA, G.; *et al*. Identification of *Listeria monocytogenes* by colony hybridization test using the virulence-associated hly and inlA genes as probes. Annali di igiene : medicina preventiva e di comunità, v. 9, n. 4, p. 281–288, 1997.

PORTANTI, O.; DI FEBO, T.; LUCIANI, M.; et al. Development and validation of an antigen capture ELISA based on monoclonal antibodies specific for *Listeria monocytogenes* in food. **Veterinaria italiana**, v. 47, n. 3, p. 271–280,281–290, 2011.

SCOTTER, S. L.; LANGTON, S.; LOMBARD, B.; SCHULTEN, S.; et al. Validation of ISO method 11290 part 1--detection of *Listeria monocytogenes* in foods. **International journal of food microbiology**, v. 64, n. 3, p. 295–306, 2001.

SCOTTER, S. L.; LANGTON, S.; LOMBARD, B.; LAHELLEC, C.; et al. Validation of ISO method 11290 part 2. Enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods. **International journal of food microbiology**, v. 70, n. 1-2, p. 121–129, 2001.

SHARMA, N.; BAMBUSCH, L.; LE, T.; MOREY, A. InstantLabs Listeria species food safety kit. Performance tested methods 041304. **Journal of AOAC International**, v. 97, n. 3, p. 843–851, 2014.

SHARMA, N.; BAMBUSCH, L.; LE, T.; MOREY, A. InstantLabs *Listeria monocytogenes* food safety kit. Performance tested method 051304. **Journal of AOAC International**, v. 97, n. 3, p. 852–861, 2014b.

TEBBS, R. S.; BALACHANDRAN, P.; WONG, L. Y.; et al. Evaluation of applied biosystems MicroSeq real-time PCR system for detection of *Listeria monocytogenes* in food. Performance Tested Method 011002. **Journal of AOAC International**, v. 94, n. 5, p. 1481–1489, 2011.

## APÊNDICE 3- ESTUDOS EXCLUÍDOS APÓS LEITURA NA ÍNTEGRA E JUSTIFICATIVA

| AUTOR/ANO | TÍTULO | MOTIVO DA EXCLUSAO |
|---|---|---|
| Akça e Sahin, 2011 | Investigation of *Listeria* species isolated from milk and vaginal swab samples of cows in the province of Kars, Turkey. | Idioma |
| Alarcón *et al*., 2004 | Simultaneous and sensitive detection of three foodborne pathogens by multiplex PCR, capillary gel electrophoresis, and laser-induced fluorescence. | Matriz não é alimento |
| Alexandrakis *et al*., 2011 | Detection and identification of selected bacteria, inoculated on chicken breast, using near infrared spectroscopy and chemometrics. | Trata de *L. innocua* |
| Al-Khaldi, *et al*. 2009 | Differentiation of whole bacterial cells based on high-throughput microarray chip printing and infrared microspectroscopic readout. | Matriz não é alimento |
| Al-Khaldi, *et al*. 2004 | Accelerating bacterial identification by infrared spectroscopy by employing microarray deposition of microorganisms. | Matriz não é alimento |
| Allerberger *et al*., 1997 | Nonhemolytic strains of *Listeria monocytogenes* detected in milk products using VIDAS immunoassay kit. | Trata de espécies não hemolíticas |
| Almeida & Almeida, 2000 | A PCR protocol using inl gene as a target for specific detection of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não é alimento |
| Bae *et al*., 2007 | Biophysical modeling of forward scattering from bacterial colonies using scalar diffraction theory. | Modelo biofísico |
| Auvolat & Besse, 2016 | The challenge of enumerating *Listeria monocytogenes* in food. | Revisão |
| Bae *et al*., 2011 | Microbial and pathogenic contamination of ready-to-eat fresh vegetables in Korea. | Caracteres não romanos |
| Bai *et al*., 2016 | Biocontrol and Rapid Detection of Food-Borne Pathogens Using Bacteriophages and Endolysins. | Revisão |

| | | |
|---|---|---|
| Banada *et al*., 2009 | Label-free detection of multiple bacterial pathogens using light-scattering sensor. | Matriz não é alimento |
| Banerjee *et al*., 2008 | A novel and simple cell-based detection system with a collagen-encapsulated B-lymphocyte cell line as a biosensor for rapid detection of pathogens and toxins. | Matriz não é alimento |
| Bao *et al*., 2008 | Quantification of bacterial cells based on autofluorescence on a microfluidic platform. | Matriz não é alimento |
| Barbudhe et al., 2008 | Rapid identification and typing of listeria species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. | Matriz não é alimento |
| Batt *et al*., 1997 | Molecular diagnostics for dairy-borne pathogens. | Revisão |
| Bayraktar *et al*., 2006 | Feature extraction from light-scatter patterns of Listeria colonies for identification and classification. | Matriz não é alimento |
| Belyi, Varfolomeeva e Tartakovskii, 1990 | A simple colony-blot method for identification of Listeria in food samples. | Dados imcompletos |
| Bickley *et al*., 1996 | Polymerase chain reaction (PCR) detection of *Listeria monocytogenes* in diluted milk and reversal of PCR inhibition caused by calcium ions. | Foco na inibição causada pelos íons cálcio |
| Bhat & Willayat, 2011 | Identification of *Listeria monocytogenes* isolates based on amplification of hyl-A gene. | Dados incompletos |
| Bhagwat *et al*., 2003 | Simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains by real-time PCR. | Matriz não é alimentar |
| Bolocan *et al*., 2016 | Dynamics of *Listeria monocytogenes* colonisation in a newly-opened meat processing facility. | Dados insulficientes sobre amostragem |
| Bolton, 1990 | An investigation of indirect conductimetry for detection of some food-borne bacteria. | Matriz não é alimentar |

| | | |
|---|---|---|
| Border *et al*., 1990 | Detection of Listeria species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. | Matriz não é alimentar |
| Bouayad *et al*., 2015 | Prevalence of *Listeria* spp. and Molecular Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolates from Broilers at the Abattoir. | Amostra ambiental |
| Brehm-Strecher, Hyldig-Nielsen e Johnson, 2005 | Design and evaluation of 16S rRNA-targeted peptide nucleic acid probes for whole-cell detection of members of the genus Listeria. | Matriz não é alimento |
| Bubert *et al*., 1999 | Detection and differentiation of *Listeria* spp. by a single reaction based on multiplex PCR. | Matriz não é alimento |
| Camargo *et al*., 2015 | Low occurrence of *Listeria monocytogenes* on bovine hides and carcasses in minas gerais state, brazil: Molecular characterization and antimicrobial resistance. | Matriz não é alimento |
| Cao *et al*. | Kit, useful for detecting Listeriosis-causing microorganism in food, comprises a detection solution containing primer pair. | Patente |
| Cao *et al*., 2009 | Study on rapid detection techniques of PCR-ELISA for *Listeria monocytogenes.* | Caracteres não romanos |
| Carrol *et al*., 2000 | A colony lift immunoassay for the specific identification and quantification of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Chen *et al*., 2011 | Multiple-locus variable number of tandem repeat analysis (MLVA) of *Listeria monocytogenes* directly in food samples. | Tipagem |
| Chen *et al*., 2000 | Identification of *Listeria* species in 167 kinds of foods. | Caracteres não romanos |
| Chen *et al*. | New primer, useful for detecting four food-borne pathogenics, e.g. Salmonella, Shigella, Staphylococcus aureus, and *Listeria monocytogenes.* | Patente |

| | | |
|---|---|---|
| Chen e Durst, 2006 | Simultaneous detection of Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp. and Listeria monocytogenes with an array-based immunosorbent assay using universal protein G-liposomal nanovesicles. | Matriz não alimentar |
| Chen *et al*., 2015 | Label-free NIR-SERS discrimination and detection of foodborne bacteria by in situ synthesis of Ag colloids. | Matriz não é alimentar |
| Chen e Chang, 1996 | Identification of *Listeria monocytogenes* based on the detection of a 68-kilodalton cell-surface antigen. | Matriz não alimentar |
| Chen e Knabel, 2007 | Multiplex PCR for simultaneous detection of bacteria of the genus Listeria, Listeria monocytogenes, and major serotypes and epidemic clones of *L. monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Chung *et al*., 2012 | Multiplex quantitative foodborne pathogen detection using high resolution CE-SSCP coupled stuffer-free multiplex ligation-dependent probe amplification. | Matriz não alimentar |
| Churchill *et al*., 2006 | Detection of *Listeria monocytogenes* and the toxin listeriolysin O in food. | Revisão |
| Cocolin *et al*., 2002 | Direct identification in food samples of *Listetia* spp. and *Listeria monocytogenes* by molecular methods. | Matriz não alimentar |
| Cloke *et al*., 2016 | Method Modification Study for the Thermo Scientific SureTectTM Listeria Species Assay–Matrix Extension. | Não específico para *L. monocytogenes* |
| Cook *et al*., 2003 | The use of NASBA for the detection of microbial pathogens in food and environmental samples. | Revisão |
| Curiale, 1994b | Deoxyribonucleic acid hybridization method for the detection of Listeria in dairy products, seafoods, and meats: collaborative study. | Trata de *Listeria* spp. |

| | | |
|---|---|---|
| Dallal *et al*., 2015 | Identification and frequency of *Listeria monocytogenes* in vegetables and ready to eat salads of Tehran, Iran. | Caracteres não romanos |
| Dalmasso *et al*., 2010 | Development of a biomolecular assay for the identification of Listeria at species level. | Matriz não alimentar |
| D'Amico *et al.*, 2009 | Detection, isolation, and Incidence of *Listeria* spp. in small-scale artisan cheese processing facilities: a methods comparison. | Amostras não são alimentos, são ambientais |
| De Melo *et al.*, 2015 | Microbiological detection of bacteria in animal products seized in baggage of international air passengers to Brazil. | Amostras suspeitas |
| Donnarumma *et al*., 1998 | Identification of *Listeria monocytogenes* by colony hybridization. | Matriz não alimentar |
| Donnelly *et al.*, 2002 | Detection and isolation of *Listeria monocytogenes* from food samples: implications of sublethal injury. | Revisão |
| Drebót *et al*., 1996 | Differentiation of Listeria isolates by PCR amplicon profiling and sequence analysis of 16S-23s rRNA internal transcribed spacer loci. | Matriz não alimentar |
| Duarte *et al*., 2013 | On-chip parallel detection of foodborne pathogens using loop-mediated isothermal amplification. | Matriz não alimentar |
| Du Plessis, Duvenage e Korsten, 2015 | Determining the potential link between irrigation water quality and the microbiological quality of onions by phenotypic and genotypic characterization of Escherichia coli isolates. | Foco em estabelecer um link entre a água de irrigação e qualidade das cebolas |
| Duvall e Hitchins, 1997 | Pooling of noncollaborative multilaboratory data for evaluation of the use of DNA probe test kits in identifying Listeria monocytogenes strains. | Matriz não alimentar |
| El Mati e Amariuch, 2009 | Microbiological and physicochemical characterization of the natural fermented camel meat sausage. | Dados insuficientes sobre amostragem |

| | | |
|---|---|---|
| El Marrakchi *et al.*, 2005 | Performance of a new chromogenic plating medium for the isolation of *Listeria monocytogenes* from marine environments. | Foco em meio de cultura |
| Fan *et al*., 2011 | Rapid detection of food- and waterborne bacteria using surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with silver nanosubstrates. | Matriz não é alimento |
| Farabulini *et al*., 2007 | Disposable electrochemical genosensor for the simultaneous analysis of different bacterial food contaminants. | Matriz não é alimento |
| Farber, Sanders e Speirs, 1988 | Methodology for isolation of Listeria from foods--a Canadian perspective. | Trata de *Listeria* spp. |
| Farzan *et al.*, 2010 | Occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in swine. | Matriz não é alimento |
| Feldisine *et al.*, 1997ª | Visual immunoprecipitate assay (VIP) for *Listeria monocytogenes* and related *Listeria* species detection in selected foods: collaborative study. | Comparação entre métodos |
| Feldisine *et al.*, 1997b | Assurance polyclonal enzyme immunoassay for detection of *Listeria monocytogenes* and related Listeria species in selected foods: collaborative study. | Comparação entre métodos |
| Feldisine *et al.*, 2008b | Comparative validation study to demonstrate the equivalence of a minor modification to AOAC Method 997.03 [Visual Immunoprecipitate (VIP) for Listeria to the reference culture methods. | Comparação entre métodos |
| Feldisine *et al.*, 2002 | Method extension study to validate applicability of AOAC Official Method 996.14 Assurance polyclonal enzyme immunoassay for detection of Listeria monocytogenes and related Listeria spp. from environmental surfaces: collaborative study. | Trata de *Listeria* spp. |
| Fuchisawa *et al.*, 2008 | Specific detection and quantitative enumeration of *Listeria* spp. using fluorescent in situ hybridization in combination with filter cultivation (FISHFC). | Trata de *Listeria* spp. |

| | | |
|---|---|---|
| Garrec *et al.*, 2003 | Heteroduplex mobility assay for the identification of *Listeria* sp and *Listeria monocytogenes* strains: application to characterisation of strains from sludge and food samples. | Tipagem |
| Garrido *et al*., 2013 | In-house validation of a multiplex real-time PCR method for simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Ghadge & Kamat, 2004 | Assessment of microbiological quality of some raw salad vegetables from local market. | Dados incompletos |
| Gilot e Content, 2002 | Specific identification of *Listeria welshimeri* and *Listeria monocytogenes* by PCR assays targeting a gene encoding a fibronectin-binding protein. | Matriz não alimentar |
| Glover e Harris, 1998 | The use of alkaline phosphatase-labelled oligonucleotide probes as culture confirmation reagents for identification of commercially important bacteria. | Matriz não alimentar |
| Gnanou *et al*., 2016 | Evaluation of reduction of Fraser incubation by 24 h in the EN ISO 11290-1 standard on detection and diversity of Listeria species. | Foco em meio de cultura |
| Green *et al*., 2009 | Identification of listeria species using a low-cost surface-enhanced raman scattering system with wavelet-based signal processing. | Matriz não alimentar |
| Guillard *et al*., 2016 | Validation of a predictive model coupling gas transfer and microbial growth in fresh food packed under modified atmosphere. | Foco na embalagem |
| Hancock, Bointon e Mc Athey, 1993 | Rapid detection of Listeria species by selective impedimetric assay. | Matriz não alimentar |
| Harris & Humber, 1993 | AutoMicrobic System for biochemical identification of *Listeria* species isolated from foods: collaborative study. | Trata de *Listeria* spp. |
| Hearty *et al.*, 2006 | Production, characterisation and potential application of a novel monoclonal antibody for rapid identification of virulent *Listeria monocyt.* | Foco na produção de anticorpos |

| | | |
|---|---|---|
| Hibi *et al*., 2006 | Combination of immunomagnetic separation with flow cytometry for detection of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Hu *et al*., 2014 | A modified molecular beacons-based multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of eight foodborne pathogens in a single reaction and its application. | Matriz não alimentar |
| Hua *et al.*, 2012 | Roka Listeria detection method using transcription mediated amplification to detect *Listeria* species in select foods and surfaces. Performance Tested Method(SM) 011201. | Trata de *Listeria* spp. |
| Huang, Hu e Li 2007 | Identification of 8 foodborne pathogens by multicolor combinational probe coding technology in a single real-time PCR. | Matriz não alimentar |
| Ingianni *et al.*, 2005 | Rapid identification of *Listeria monocytogenes* in food products. | Revisão |
| Jadhav *et al.*, 2014 | Detection of *Listeria monocytogenes* from selective enrichment broth using MALDI-TOF Mass Spectrometry. | Foco em meio de cultura |
| Jahangiri *et al*., 2012 | Precise detection of *L. monocytogenes* hitting its highly conserved region possessing several specific antibody binding sites. | Matriz não alimentar |
| Jiang *et al.*, 2011 | Establishment of a multiplex PCR detection method for four foodborne pathogens. | Caracteres não romanos |
| Jiang *et al.*, 1998 | Identification of *Listeria monocytogenes* by PCR method | Caracteres não romanos |
| Jo *et al*., 2015 | Label-free identification of individual bacteria using Fourier transform light scattering. | Matriz não alimentar |
| Jiang, | Quick PCR detection of five main pork pathogenic bacteria comprises e.g. extracting total meat sample bacterial DNA, designing primers, taking total bacterial DNA as template, carrying out PCR reaction, and agarose electrophoresis. | Patente |

| | | |
|---|---|---|
| Jin *et al.*, 2008 | Detection and identification of viable *Listeria monocytogenes* by real-time PCR. | Caracteres não romanos |
| Jinnerman *et al.*, 2003 | Evaluation and interlaboratory validation of a selective agar for phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity using a chromogenic substrate to detect *Listeria monocytogenes* from foods. | Foco em meio de cultura |
| Johansson, 1998 | Enhanced detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* from foodstuffs and food-processing environments. | Foco em meio de cultura e comparação entre métodos |
| Keer *et al.*, 1991 | Evaluation of the Rosco system for the identification of *Listeria* species. | Avaliação de método |
| Keer *et al.*, 1990 | Evaluation of the Mast ID and API 50CH systems for identification of *Listeria* spp. | Comparação entre métodos |
| Kim *et al*., 1991 | Evaluation of hybridization characteristics of a cloned pRF106 probe for Listeria monocytogenes detection and development of a nonisotopic colony hybridization assay. | Matriz não alimentar |
| Kim *et al*., 2008 | Rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* using a PCR-Enzymelinked immunosorbent assay. | Matriz não alimentar |
| Kim *et al*., 2012 | In situ immuno-magnetic concentration-based biosensor systems for the rapid detection of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Klancnick *et al*., 2015 | Quantification of *Listeria monocytogenes* cells with digital PCR and their biofilm cells with real-time PCR. | Matriz não alimentar |
| Knight *et al.*, 1996 | TECRA Listeria Visual Immunoassay (TLVIA) for detection of Listeria in foods: collaborative study. | Trata de *Listeria* spp. |
| Kostenko *et al.*, 2012 | Accelerated method for microbiological control of the safety of foodstuffs. | Idioma |

| | | |
|---|---|---|
| Lado *et al*., 2003 | Selection and identification of a *Listeria monocytogenes* target strain for pulsed electric field process optimization. | Matriz não alimentar |
| Lahou e Uyttendaele, 2014 | Evaluation of three swabbing devices for detection of *Listeria monocytogenes* on different types of food contact surfaces. | Matriz não é alimento |
| Lee *et al*., 2015 | Analytical bioconjugates, aptamers, enable specific quantitative detection of Listeria monocytogenes. | Matriz não é alimento |
| Liébana *et al*., 2016 | Electrochemical genosensing of *Salmonella*, *Listeria* and *Escherichia coli* on silica magnetic particles. | Matriz não alimentar |
| Liu *et al*., 2015 | Multiplex detection and genotyping of pathogenic bacteria on paper-based biosensor with a novel universal primer mediated asymmetric PCR. | Foco na genotipagem |
| Lei, Promadeji e Kathariou, 1997 | DNA fragments from regions involved in surface antigen expression specifically identify *Listeria monocytogenes* serovar 4 and a subset thereof: Cluster IIB (Serotypes 4b, 4d, and 4e). | Tipagem |
| Leonard *et al*., 2005 | Development of a surface plasmon resonance-based immunoassay for *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Leonard *et al*., 2004 | A generic approach for the detection of whole *Listeria monocytogenes* cells in contaminated samples using surface plasmon resonance. | Matriz não alimentar |
| Li *et al*. | *Listeria monocytogenes* nucleic acid chromatography detection kit, comprises a bacterial lysis solution, negative reference substance, positive reference substance and test strip. | Patente |
| Li *et al*., 2000 | Combined PCR and slot blot assay for detection of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Liu *et al*., 2014 | In vitro Selection of DNA Aptamers and Fluorescence-Based Recognition for Rapid Detection *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |

| | | |
|---|---|---|
| Livezey *et al*., 2013 | A new generation of food-borne pathogen detection based on ribosomal RNA. | Trata de *Listeria* spp. |
| Long, Zhou e Xing 2011 | Sensitive and isothermal electrochemiluminescence gene-sensing of Listeria monocytogenes with hyperbranching rolling circle amplification technology. | Matriz não alimentar |
| Lovett, 1988. | Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in dairy products. | Avaliação de método |
| Lu *et al*., 2009 | Development of single base extension-tags microarray for the detection of food-borne pathogens. | Caracteres não romanos |
| Mabilat *et al*., 1996 | Automated RNA probe assay for the identification of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Mafu, Pitre & Sirois, 2009 | Real-time PCR as a tool for detection of pathogenic bacteria on contaminated food contact surfaces by using a single enrichment medium. | Matriz não é alimento |
| Malak *et al*., 2001 | RAPD analysis, serotyping, and esterase typing indicate that the population of *Listeria monocytogenes* strains recovered from cheese and from patients with listeriosis in Belgium are different. | Amostras suspeitas |
| Malic et al., 2015 | Polymer-based microfluidic chip for rapid and efficient immunomagnetic capture and release of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não é alimento |
| Manzano, Oomi & Comi | *Listeria monocytogenes* detection by enzymatic nucleic acid amplification\|allows differentiation between L. monocytogenes and L. innocua in meat. | Patente |
| Mc Lachin, Ridley & Taylor, 1989 | The use of monoclonal antibodies against *Listeria monocytogenes* in a direct immunofluorescence technique for the rapid presumptive identification and direct demonstration of Listeria in food. | Dados incompletos |

| | | |
|---|---|---|
| Mendonca *et al*., 2012 | Highly specific fiber optic immunosensor coupled with immunomagnetic separation for detection of low levels of *Listeria monocytogenes* and *L. ivanovii.* | Matriz não alimentar |
| Misra *et al*., 2014 | Quantitative Proteome Analyses Identify PrfA-Responsive Proteins and Phosphoproteins in *Listeria monocytogenes*. | Análise proteômica de *L. monocytogenes* |
| Morton *et al*., 2013 | Phage display-derived binders able to distinguish *Listeria monocytogenes* from other Listeria species. | Matriz não alimentar |
| Mukhopadhyay e Mukhopadhyay, 2007 | Novel multiplex PCR approaches for the simultaneous detection of human pathogens: *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Nanduri *et al*., 2007 | SPR biosensor for the detection of *L. monocytogenes* using phage-displayed antibody. | Matriz não alimentar |
| Nitcheva *et al*., 1990 | Listeria isolation from foods of animal origin. | Dados incompletos |
| Noterman, Wernars & Chakraborty, 1989 | The use of the *Listeria monocytogenes* DTH gene for the detection of pathogenic biovars in food. | Dados incompletos |
| Nucera *et al*., 2010 | A five year surveillance report on PFGE types of *Listeria monocytogenes* isolated in Italy from food and food related environments. | Tipagem |
| Oaew *et al*., 2012 | Gold nanoparticles/horseradish peroxidase encapsulated polyelectrolyte nanocapsule for signal amplification in *Listeria monocytogenes* detection. | Matriz não alimentar |
| Obaidat *et al*., 2015 | Characterization of *Listeria monocytogenes* from three countries and antibiotic resistance differences among countries and *L. monocytogenes* serogroups. | Objetivo foi caracterizar a resistência a antibioticos |
| Oh *et al*., 2012 | Simultaneous detection of 10 foodborne pathogens using capillary electrophoresis-based single strand conformation polymorphism. | Matriz não alimentar |

| | | |
|---|---|---|
| Oh *et al*., 2009 | Simultaneous identification of seven foodborne pathogens and *Escherichia coli* (pathogenic and nonpathogenic) using capillary electrophoresis-based single-strand conformation polymorphism coupled with multiplex PCR. | Matriz não alimentar |
| Ohshima *et al*., 2014 | Establishment of a simple and rapid identification method for *Listeria* spp. by using high-resolution melting analysis, and its application in food industry. | Matriz não alimentar |
| Ojima *et al*., 2016 | Matrix-assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Can Precisely Discriminate the Lineages of *Listeria monocytogenes* and Species of Listeria. | Matriz não alimentar |
| Oravcová *et al*., 2006 | Detection and quantification of *Listeria monocytogenes* by 5'-nuclease polymerase chain reaction targeting the actA gene. | Matriz não alimentar |
| Ortolani *et al*., 2010 | Microbiological quality and safety of raw milk and soft cheese and detection of autochthonous lactic acid bacteria with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Spp., and *Staphylococcus aureus*. | Trata de atividade anti-listerial |
| Owais *et al*., 2014 | An alternative chemical redox method for the production of bispecific antibodies: implication in rapid detection of food borne pathogens. | Trata do desenvolvimento de anticorpos |
| Paillard *et al*., 2003 | Rapid identification of *Listeria* species by using restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified 23S rRNA gene fragments. | Matriz não é alimento |
| Paoli *et al*., 2007 | Development of Listeria monocytogenes–Specific Immunomagnetic Beads Using a Single-Chain Antibody Fragment. | Matriz não alimentar |
| Petrauskene *et al*., 2012 | Evaluation of applied biosystems MicroSEQ real-time PCR system for detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples. | Trata de *Listeria* spp. |
| Proctor *et al*., 1995 | Use of pulsed-field gel electrophoresis to link sporadic cases of invasive listeriosis with recalled chocolate milk. | Foco em estabelecer um link entre o alimento e o surto |

| | | |
|---|---|---|
| Rebuffo *et al*., 2006 | Reliable and rapid identification of *Listeria monocytogenes* and *Listeria species* by artificial neural network-based Fourier transform infrared spectroscopy. | Matriz não alimentar |
| Rikka *et al*., 2003 | An Improved Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Protocol for Discrimination of Listeria Isolates. | Matriz não alimentar |
| Rodrígues-Lázaro *et al*., 2004 | Simultaneous quantitative detection of Listeria spp. and Listeria monocytogenes using a duplex real-time PCR-based assay. | Matriz não alimentar |
| Rodrígues-Lázaro *et al*., 2014a | Reducing time in the analysis of *Listeria monocytogenes* in meat, dairy and vegetable products. | Comparação de métodos |
| Rodrígues-Lázaro & Hernández 2014b | Confirmation of isolates of listeria by conventional and real-time PCR. | Livro |
| Rossen *et al*., 1991 | A rapid polymerase chain reaction (PCR)-based assay for the identification of *Listeria monocytogenes* in food samples. | Matriz não alimentar |
| Rossmanith *et al*., 2007 | Development of matrix lysis for concentration of gram positive bacteria from food and blood. | Método de concentração de matriz |
| Rundell *et al*., 2014 | A multiplex PCR/LDR assay for simultaneous detection and identification of the NIAID category B bacterial food and water-borne pathogens. | Matriz não é alimento |
| Sachetti, Bianucci & Ambrogiani, 2003 | Detection of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs using chromogenic isolation media. | Foco em meio de cultura |
| Sarcar *et al*., 2014 | Optical biosensors with an integrated Mach-Zehnder Interferometer for detection of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Scheu *et al*., 1999 | Rapid detection of *Listeria monocytogenes* by PCR-ELISA. | Matriz não alimentar |

| | | |
|---|---|---|
| Shearer, Strapp & Joerger, 2001 | Evaluation of a polymerase chain reaction-based system for detection of *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria* spp., and *Listeria monocytogenes* on fresh fruits and vegetables. | Dados incompletos |
| Shu *et al*., 2013 | Highly sensitive identification of foodborne pathogenic *Listeria monocytogenes* using single-phase continuous-flow nested PCR microfluidics with on-line fluorescence detection. | Matriz não alimentar |
| Simon, Gray & Cook, 1996 | DNA Extraction and PCR Methods for the Detection of *Listeria monocytogenes* in Cold-Smoked Salmon. | Avaliação de protocolos |
| Sireli e Erol, 1999 | Detection of *Listeria* Species in Minced Beef. | Idioma |
| Sireli *et al*., 2002 | Prevalence and contamination levels of *Listeria* spp. in poultry minced, poultry meatballs and poultry burgers. | Idioma |
| Skjerve *et al*., 1990 | Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods by Immunomagnetic Separation | Matriz não alimentar |
| Smith *et al*., 2001 | A new chromogenic medium for the isolation of *Listeria* spp. | Foco em meio de cultura |
| Sølve, Boel e Nørrung, 2000 | Evaluation of a monoclonal antibody able to detect live Listeria monocytogenes and *Listeria innocua*. | Foco em anticorpos |
| Stack, Gahan e Hill, 2007 | A novel promoter trap identifies *Listeria monocytogenes* promoters expressed at a low pH within the macrophage phagosome. | Foco em pH |
| Stewart e Gendel., 1998 | Specificity of the BAX polymerase chain reaction system for detection of the foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Stressl *et al*., 2009 | Performance testing of six chromogenic ALOA-type media for the detection of *Listeria monocytogenes*. | Foco em meio de cultura |

| | | |
|---|---|---|
| Strachan, Nicholson & Ogden, 1995 | An automated sampling system using ion mobility spectrometry for the rapid detection of bacteria. | Trata de *Listeria* spp. |
| Su *et al*., 2013 | Determination of *Listeria monocytogenes* in Agricultural Products by-High Resolution Pyrolysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry. | Trata de *Listeria* spp. |
| Suh *et al*., 2013 | Nucleic acid aptamers for capture and detection of *Listeria* spp. | Matriz não alimentar |
| Suli *et al*., 2014 | Detection of *Listeria monocytogenes* in food samples in Avezzano, Sulmona and Castel di Sangro (province of L'Aquila, Abruzzo, Italy) between 2000-2009. | Revisão |
| Susmel *et al*., 2003 | Demonstration of labeless detection of food pathogens using electrochemical redox probe and screen printed gold electrodes. | Matriz não alimentar |
| Szymaska & Medrala, 2003 | *Listeria monocytogenes* in meat, meat products and meat-processing environment. | Dados incompletos |
| Talon *et al*., 2008 | Safety improvement and preservation of typical sensory qualities of traditional dry fermented sausages using autochthonous starter cultures. | Trata de preservação de alimentos |
| Teo, Ziegler e Knabel, 2001 | Optimizing detection of heat-injured *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk. | Trata-se de *L. monocytogenes* que sofre injúria pelo calor |
| Tocmo *et al*., 2014 | *Listeria monocytogenes* in Vacuum-Packed Smoked Fish Products: Occurrence, Routes of Contamination, and Potential Intervention Measures. | Revisão |
| Traunsek *et al*., 2011 | Novel cost-efficient real-time PCR assays for detection and quantitation of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Tu *et al*., 2016 | Identification and characterization of species-specific nanobodies for the detection of *Listeria monocytogenes* in milk. | Foco na caracterização de nanocorpos |

| | | |
|---|---|---|
| Tully *et al*., 2008 | The development of rapid fluorescence-based immunoassays, using quantum dot-labelled antibodies for the detection of *Listeria monocytogenes* cell surface proteins. | Matriz não alimentar |
| Ueda Maruyama, Kuwabara, 2006 | Detection of *Listeria monocytogenes* from food samples by PCR after IMS-plating. | Pré-tratamento da amostra |
| Uyttendaele, Van Hoorde e Debevere, 2000 | The use of immuno-magnetic separation (IMS) as a tool in a sample preparation method for direct detection of *L. monocytogenes* in cheese. | Preparo de amostra |
| Valderrama *et al*., 2015 | Commercially Available Rapid Methods for Detection of Selected Foodborne Pathogens. | Revisão |
| Valim *et al*., 2015 | Twenty Years of *Listeria* in Brazil: Occurrence of *Listeria* Species and *Listeria monocytogenes* Serovars in Food Samples in Brazil between 1990 and 2012. | Amostras suspeitas |
| Van Neten *et al*., 1989 | Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. | Foco em meio de cultura |
| Vasques-Boland *et al*., 1990 | Revision of the validity of CAMP tests for *Listeria* identification. Proposal of an alternative method for the determination of haemolytic activity by *Listeria* strains. | Revisão |
| Vaughan *et al*., 2001 | Development of a quartz crystal microbalance (QCM) immunosensor for the detection of *Listeria monocytogenes*. | Matriz não alimentar |
| Volokhov *et al*., 2002 | Identification of Listeria Species by Microarray-Based Assay. | Matriz não alimentar |
| Wang *et al*., 1992 | Development of cell surface protein associated gene probe specific for *Listeria monocytogenes* and detection of the bacteria in food by PCR. | Matriz não alimentar |
| Wang *et al*., 2010 | Development of a DNA microarray for detecting 8 common species of food-borne bacterial pathogens in south China. | Caracteres não romanos |

| | | |
|---|---|---|
| Wang *et al*., 2010 | Rapid identification of Listeria species and screening for variants by melting curve and high-resolution melting curve analyses of the intergenic spacer region of the rRNA gene. | Matriz não alimentar |
| Wang *et al*., 2012 | Development and application of a simple loop-mediated isothermal amplification method on rapid detection of *Listeria monocytogenes* strains. | Matriz não alimentar |
| Wang *et al*., 2014 | Magnetic beads adsorption-PCR detection method of four common foodborne pathogens in food. | Caracteres não romanos |
| Wang *et al*., 2011 | Real-time PCR assay for rapid detection of *Listeria monocytogenes* in simulated milk specimens. | Caracteres não romanos |
| Wen *et al*., 2013 | Rapid detection of *Listeria monocytogenes* by immunomagnetic separation combined with selective medium. | Caracteres não romanos |
| Whittaker *et al*., 2003 | Identification of foodborne bacteria by infrared spectroscopy using cellular fatty acid methyl esters. | Matriz não alimentar |
| Winters *et al*., 1999 | Rapid detection of Listeria monocytogenes by a PCR assay specific for an aminopeptidase. | Matriz não alimentar |
| Wu *et al*., | Detection method and RT-PCR rapid-test kits for living *Listeria monocytogenes*. | Patente |
| Wu *et al*., 2009 | Multiplex PCR-capillary electrophoresis-SSCP used to identify foodborne pathogens. | Matriz não alimentar |
| Xiao *et al*., 2014 | The construction and evaluation of reference spectra for the identification of human pathogenic microorganisms by MALDI-TOF MS. | Modelo teórico |
| Xing *et al*., 2009 | Rapid detection of intestinal pathogens in fecal samples by an improved reverse dot blot method. | Amostra fecal |

| | | |
|---|---|---|
| Xue-ham *et al*., 2013 | Development of a LAMP assay for rapid detection of different intimin variants of attaching and effacing microbial pathogens. | Não específico para *L. monocytogenes* |
| Yamasaki *et al*., | Carrier useful for detecting food poisoning microbe e.g. *Escherichia coli*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Salmonella* and *Bacillus cereus*, comprises probe comprising specific base pair sequence. | Patente |
| Yang *et al*., 2008 | Rapid detection method of three types of bacterial pathogens in aquatic products established by multiplex PCR. | Caracteres não romanos |
| Yu *et al*., 2004 | Use of monoclonal antibodies that recognize p60 for identification of *Listeria monocytogenes*. | Foco no desenvolvimento de anticorpo |
| Yu *et al*., 2010 | A multipathogen selective enrichment broth for simultaneous growth of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes*. | Foco em meio de cultura |
| Zhang, Wang e Xing, 2011 | Multichannel oscillatory-flow multiplex PCR microfluidics for high-throughput and fast detection of foodborne bacterial pathogens. | Matriz não alimentar |
| Zhang *et al*., 2013 | Rapid detection of several foodborne pathogens by F0F1-ATPase molecular motor biosensor. | Matriz não alimentar |
| Zhang *et al*., 2014 | Application and evaluation of loop-mediated isothermal amplification method for detecting of *Listeria monocytogenes* in food. | Caracteres não romanos |
| Zhang *et al*., 2015 | Ultrasensitive detection and rapid identification of multiple foodborne pathogens with the naked eyes. | Matriz não alimentar |
| Yang *et al*., 2015 | Use of metagenomic shotgun sequencing technology to detect foodborne pathogens within their microbiome in beef production chain. | Foco em sequenciamento |
| Zitterman *et al*., 2016 | Assessment of Listeria sp. Interference Using a Molecular Assay to *Detect Listeria monocytogenes* in Food. | Foco na interferência |

| | | |
|---|---|---|
| Zhou *et al*., 2013 | Simultaneous detection of six food-borne pathogens by multiplex PCR with a GeXP analyzer | Matriz não alimentar |