



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS (PPGCTA)

ANTÔNIO JOSÉ DE SOUSA CAMINHA

**DETECÇÃO DE *Listeria monocytogenes* EM PRODUTOS CÁRNEOS NO
TOCANTINS E POTENCIAL USO DE LEVEDURAS SELVAGENS AMAZÔNICAS
COMO AGENTES DE BIOCONTROLE**

Palmas/TO
2025

ANTONIO JOSÉ DE SOUSA CAMINHA

**DETECÇÃO DE *Listeria monocytogenes* EM PRODUTOS CÁRNEOS NO
TOCANTINS E POTENCIAL USO DE LEVEDURAS SELVAGENS
AMAZÔNICAS COMO AGENTES DE BIOCONTROLE**

Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal do Tocantins, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador (a): Prof.^a Dr^a Claudia C. Auler do A. Santos

Coorientador: Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Junior

Linha de Pesquisa: Controle de Qualidade e Segurança Alimentar

Palmas/TO

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

D467d De Sousa Caminha, Antônio José.
DETECÇÃO DE *Listeria monocytogenes* EM PRODUTOS
CÁRNEOS NO TOCANTINS E POTENCIAL USO DE LEVEDURAS
SELVAGENS AMAZÔNICAS COMO AGENTES DE BIOCONTROLE. /
Antônio José De Sousa Caminha. – Palmas, TO, 2025.
60 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do
Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-
Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2025.
Orientadora : Dr^a Claudia C. Auler do A. Santos
Coorientador: Dr^o. José Carlos Ribeiro Junior

1. Antagonismo. 2. Antimicrobianos. 3. DTHA. 4. Listeriose. I.
Título

CDD 664

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de
qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde
que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime
estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha
catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

ANTÔNIO JOSÉ DE SOUSA CAMINHA

**DETECÇÃO DE *Listeria monocytogenes* EM PRODUTOS CÁRNEOS NO
TOCANTINS E POTENCIAL USO DE LEVEDURAS SELVAGENS AMAZÔNICAS
COMO AGENTES DE BIOCONTROLE**

Dissertação/Tese apresentado à Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Palmas, curso de Engenharia de Alimentos. Foi avaliada para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, e aprovado em sua forma final pelo(a) orientador(a) e pela banca examinadora.

Data de aprovação: 03 / 02 / 2025

Banca examinadora: Defesa em 03/02/2025

Profa. Dra. Bruna Alexandrino - UFNT

Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta - UFT

Profa. Dra. Claudia C. Auler do A. Santos, Orientadora – UFT

Dedico este trabalho ao Senhor da minha vida, Jesus Cristo, pois quando nada existia ele disse “haja” (Gn1:3) e tudo passou a existir, pois todas as coisas vieram Dele, existem por meio Dele e é para Ele todas as coisas, inclusive minha vida (Rm 11:36)

À minha esposa Simone, maior incentivadora deste projeto, nem eu acreditava e ela sempre insistente me deu a força propulsora necessária! Te amo até a eternidade!

Aos quatro motivos de vida que Deus me deu aqui na terra, Marcus, Thainara, Rebeca e Samuel, vocês são meu orgulho e minha força, obrigado por me amar e me compreender!

Finalmente a meus pais, Antonio e Francisca dois retirantes da seca do nordeste, órfãos de pai, semi-analfabetos, criados pelos outros e que me deram o que nem eles tiveram, vocês são meu exemplo de amor e superação neste mundo!

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos vão para um grupo muito grande de pessoas que Deus usou para me abençoar nesta jornada! Profa. Dra Claudia Auler, não tenho palavras para descrever o tamanho da sua dedicação e ensino, você me abriu os olhos e me deu asas na pesquisa, minha eterna gratidão.

Agradeço a amizade, apoio e ensino da equipe do LMA/UFT, especialmente do amigo Jhonatan, que me ensinou a trabalhar na prática cada experimento, valeu demais Dr.!

Aos colegas de bancada sempre presente e que participaram ativamente desse trabalho, Letycia, Nayane, Felipe e Albert, todos contribuíram para esses resultados, louvo a Deus por suas vidas e também por aqueles que passaram pelo LMA e sempre ajudaram, a todos minha gratidão!

Aos colegas Mestrandos que foram apoio, parceria e conforto nas horas dos apertos! Aos professores do PPGCTA pelos ensinamentos e doação neste projeto!

Ao governo do Estado do Tocantins, ADAPEC e todos os colegas de trabalho do Serviço de Inspeção Estadual -SIE, pela liberação, apoio institucional e torcida, vocês são a melhor equipe do mundo!

Encerro com um agradecimento especial ao Prof. Dr. José Carlos e sua equipe da UFNT em Araguaína, especialmente a Cris, minha “mãe” no laboratório, e sua “filha” a Kariny, obrigado pela humildade, apoio e torcida, vocês salvaram minha pesquisa em um momento fundamental, jamais vou esquecer!

Minha gratidão também aos meus irmãos (Sandra, Clemilda e Francisco) e a todos os meus familiares pela torcida e palavras de incentivo!

RESUMO

Doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) são um conjunto de infecções ou intoxicações causadas por microrganismos patogênicos presentes nos alimentos e na água. Dentre estes, podemos destacar a bactéria *Listeria monocytogenes*, causadora da listeriose, doença grave em humanos, com altas taxas de hospitalização e mortalidade. Este trabalho visou detectar a presença e avaliar a formação de biofilmes de *L. monocytogenes* em produtos cárneos manipulados no comércio, disponíveis ao consumidor no estado do Tocantins, e o potencial de inibição de leveduras isoladas de frutos amazônicos na produção de micocinas e sensibilidade a compostos antimicrobianos. Foram analisadas 60 amostras de produtos cárneos prontos para consumo, advindas dos maiores municípios das regiões norte, sul e central do estado, usando a metodologia oficial do Ministério da Agricultura (ISO 11290:2017), para detecção de *L. monocytogenes*. Os isolados sugestivos da bactéria patogênica foram submetidos a confirmação por reação em cadeia da polimerase e três isolados submetidos à amplificação parcial do gene 16S rRNA, seguido do sequenciamento. A capacidade de formação de biofilmes, foi avaliada por meio de crescimento em microplaca de 96 poços, seguido de coloração com cristal violeta, e realizada leitura em Elisa com absorbância de 570 nm. O antagonismo das leveduras frente a *L. monocytogenes* ATCC 7644 foi avaliado pelo método de "Cross-streak" ademais foi realizado o teste de sensibilidade a antibióticos por meio de disco-difusão. Como resultado, observou-se que 38% das amostras analisadas estavam contaminadas com *L. monocytogenes* sendo a região norte de maior prevalência (65%). Aproximadamente 35% dos isolados formaram biofilmes, dentre estes, 25% apresentaram fraca capacidade, 37,5% moderada capacidade e 37,5% forte capacidade de formação de biofilmes. Das 185 leveduras avaliadas, nenhuma apresentou antagonismo frente a cepa de *L. monocytogenes*. No teste de sensibilidade a antimicrobianos, foi observado resistência das cepas de *L. monocytogenes* isoladas a gentamicina – 10 µg (60%), tetraciclina – 30 µg (13,4%), trimetoprima-sulfametoxazol – 25 µg (80%), rifampicina – 10 µg (53,4%). Todas as 30 cepas apresentaram sensibilidade à penicilina, sendo apenas um isolado resistente à ampicilina e ao cloranfenicol. A pesquisa atende a uma região carente de dados atualizados sobre a ocorrência do patógeno, buscando também na riqueza da biodiversidade amazônica soluções para os problemas da contaminação de alimentos.

Palavras-Chave:; Antagonismo; Antimicrobianos; DTHA; Listeriose; Micocinas;

ABSTRACT

Foodborne and Waterborne Diseases (FWD) are a group of infections or poisonings caused by pathogenic microorganisms present in food and water. Among these, we can highlight the bacterium *Listeria monocytogenes*, which causes listeriosis, a serious disease in humans, with high rates of hospitalization and mortality. This study aimed to detect the presence and evaluate the formation of biofilms of *L. monocytogenes* in commercially handled meat products available to consumers in the state of Tocantins, and the potential for inhibition of yeasts isolated from Amazonian fruits in the production of mycocins and sensitivity to antimicrobial compounds. Sixty samples of ready-to-eat meat products from the largest municipalities in the north, south and central regions of the state were analyzed using the official methodology of the Ministry of Agriculture (ISO 11290:2017) for the detection of *L. monocytogenes*. The isolates suggestive of the pathogenic bacteria were submitted to confirmation by polymerase chain reaction and three isolates were subjected to partial amplification of the 16S rRNA gene, followed by sequencing. The biofilm formation capacity was evaluated by growth in a 96-well microplate, followed by staining with crystal violet, and reading performed in Elisa with absorbance at 570 nm. The antagonism of yeasts against *L. monocytogenes* ATCC 7644 was evaluated by the "Cross-streak" method, and the antibiotic sensitivity test was also performed by disk diffusion. As a result, it was observed that 38% of the analyzed samples were contaminated with *L. monocytogenes*, with the northern region having the highest prevalence (65%). Approximately 35% of the isolates formed biofilms, of which 25% showed weak capacity, 37.5% moderate capacity and 37.5% strong capacity to form biofilms. Of the 185 yeasts evaluated, none showed antagonism against the *L. monocytogenes* strain. In the antimicrobial sensitivity test, resistance of the isolated *L. monocytogenes* strains to gentamicin – 10 µg (60%), tetracycline – 30 µg (13.4%), trimethoprim-sulfamethoxazole – 25 µg (80%), rifampicin – 10 µg (53.4%). All 30 strains were sensitive to penicillin, and only one isolate was resistant to ampicillin and chloramphenicol. The research serves a region lacking updated data on the occurrence of the pathogen, also seeking solutions to the problems of food contamination in the richness of Amazonian biodiversity.

Keywords: Antagonism; Antimicrobials, Listeriosis; Mycokines, FWDs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Registros de casos confirmados e óbitos por DTHAs no Brasil entre 2000 e 2021.....	19
Figura 2 - Disseminação célula a célula de <i>L. monocytogenes</i>	21
Figura 3 - Locais de aquisição das amostras de produtos cárneos prontos para consumo no estado do Tocantins, Brasil... ..	28
Figura 4 - Colônias típicas de <i>L. monocytogenes</i> em Agar Oxford (A) e Agar Listeria Seletivo (B).....	30
Figura 5 - Resultado de Eletroforese com Gel de Agarose com o perfil de banda para <i>L. Monocytogenes</i> , (Pb 1450-1600) isoladas de produtos cárneos prontos para consumo comercializadas no Tocantins no período de maio a julho de 2024	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições experimentais utilizadas na PCR das colônias presuntivas de <i>L. monocytogenes</i> isoladas das amostras de produtos cárneos prontos para o consumo no estado do Tocantins...	30
Tabela 2 - Sequenciamento de isolados de <i>L. monocytogenes</i> das amostras de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil, no período de maio a junho de 2024	36
Tabela 3 - Presença de <i>L. monocytogenes</i> por categoria de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil, período de maio a julho de 2024.....	37
Tabela 4 - Quantitativo de amostras de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil, contaminadas com <i>L. monocytogenes</i> em análises realizadas de maio a julho de 2024.....	38
Tabela 5 - Capacidade de formação de biofilmes por isolados de <i>L. monocytogenes</i> de produtos cárneos prontos para consumo no Tocantins em placas de policloreto de vinil (PVC)	40
Tabela 6 - Perfil de resistência a antibióticos para <i>L. monocytogenes</i> isolados de produtos cárneos prontos para consumo, nas regiões norte, sul e central do estado do Tocantins no período de maio a julho de 2024	43
Tabela 7 - Detecção de <i>L. monocytogenes</i> em produtos cárneos prontos para o consumo comercializados nas regiões norte, sul e central do Tocantins...	52
Tabela 8 - Relação de amostras testadas de leveduras selvagens isoladas do fruto amazônico Tucumã (<i>Garcinia gardneriana</i>), pertencentes à coleção do LMA/UFT testadas em antagonismo contra <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644.....	55
Tabela 9 - Relação de amostras testadas de leveduras selvagens isoladas do fruto amazônico Pupunha (<i>Bactris gasipaes Kunth</i>), pertencentes à coleção do LMA/UFT	

testadas em antagonismo contra <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644.....	56
---	----

Tabela 10 - Suscetibilidade de isolados de <i>L. monocytogenes</i> de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil a antimicrobianos em disco-difusão	57
---	----

LISTA DE SIGLAS

DTHA	Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
OMS	Organização Mundial da Saúde
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
CDC	Center for Disease Control
FDA	Federal Drug Administration
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
CGAL	Coordenação-Geral de Laboratórios Agropecuários
PCR	Polymerase Chain Reaction
PVC	Policloreto de vinila

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO.....	6
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	8
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 DTHA.....	16
2.1 Listeriose como DTHA.....	18
3 JUSTIFICATIVA	23
4 OBJETIVOS.....	24
4.1 Objetivo Geral.....	24
4.2 Objetivos Específicos	25
5 METODOLOGIA.....	25
5.1 Procedimento de coleta de amostras	25
5.3 Identificação Molecular	28
5.5 Reativação de leveduras autóctones de frutos amazônicos	30
5.6 Análise de coexistência das cepas.....	31
5.7 Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão.....	31
5.8 Análises Estatísticas.....	32
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6.1 Detecção de <i>L. monocytogenes</i> em amostras de produtos cárneos prontos para consumo no estado do Tocantins.....	32
6.2 Capacidade de formação de biofilmes dos isolados de <i>L. monocytogenes</i>	38
6.3 Testes de antagonismo de leveduras autóctones de frutos amazônicos contra <i>L. monocytogenes</i>	40
6.4 Sensibilidade a antimicrobianos	40
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

BrCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos. Disponível em: 45

APÊNDICES..... 51

APÊNDICE I 51

APÊNDICE II 54

APÊNDICE III 56

1 INTRODUÇÃO

Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) são síndromes causadas por cerca de 250 microrganismos, que são reconhecidamente contaminantes de alimentos e água, usando esses meios como veículos para causar infecções e intoxicações ao ser humano (Brasil, 2023). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 600 milhões de pessoas, ou seja 1 em cada 10 habitantes do planeta, contraem DTHA por ano. Desses doentes, cerca de 420 mil morrem em função da doença (PAHO, 2022).

Nas Américas, segundo dados da Organização Panamericana de Saúde (PAHO, 2022), órgão vinculado à OMS, 77 milhões de pessoas sofrem com DTHA. No Brasil, no ano de 2022, foram registradas 7.932 notificações de doenças transmitidas por meio de alimentos ou bebidas (DATASUS, 2024). Sendo o maior número de notificações ocorridas nas regiões Sul e Sudeste, com cerca de 83% dos casos, muito embora esse dado seja atribuído à maior notificação e maior desenvolvimento destas regiões, além de melhor acesso à informação. Este fato demonstra a carência de informações em regiões menos desenvolvidas, como ocorre com a região Norte e Nordeste do Brasil, que apresentam dados de internações por infecções gastrointestinais mais elevados que as regiões Sul e Sudeste, esse fator pode ser associado também às baixas taxas de esgotamento sanitário e menor Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) das regiões Norte e Nordeste do país (BATISTA 2022; IBGE 2023).

Dentre os microrganismos causadores de DTHA, a *L. monocytogenes*, agente etiológico da listeriose, tem uma importância singular para a saúde pública. Nos seres humanos esta enfermidade ocorre de duas formas básicas, em adultos com sintomas leves e quase inaparentes e em mulheres grávidas e pessoas imunossuprimidas, provocando infecção no feto e recém-nascidos, levando a ocorrência de meningites como um dos quadros mais graves da doença e por isso um índice elevado de mortalidade (HOFER 2006; TORTORA *et al.*, 2017; SANTATIVONGCHAI *et al.*, 2023).

A habilidade da *L. Monocytogenes* em formar biofilmes é responsável pela sobrevivência do patógeno mesmo em condições severas de estresse físico e químico, elevando também o risco de contaminação cruzada de alimentos armazenados mesmo em baixas temperaturas (2 a 4°C) (KIRAN *et al.*, 2020; SANTATIVONGCHAI *et al.*, 2023).

Para aprimorar o controle sanitário e eliminar patógenos que representam risco ao consumidor, especialmente aqueles que formam biofilmes em superfícies de trabalho, a indústria de alimentos têm buscado novas tecnologias. Entre as abordagens emergentes, destacam-se o biocontrole, a produção de compostos bioativos e a descoberta de microrganismos e metabólitos microbianos com potencial para melhorar a segurança dos alimentos (ABDEL-KAREEM *et al.*, 2021). Além disso, pesquisas têm revelado o potencial das micocinas, compostos naturais produzidos por leveduras com fator *killer*, como agentes de inibição de bactérias e fungos (PEDONESE *et al.*, 2022; SANTATIVONGCHAI *et al.*, 2023).

Dado o impacto direto das soluções biotecnológicas na proteção da saúde pública, o bioma amazônico oferece um vasto campo de pesquisa. Suas condições climáticas, diversidade de espécies e riqueza microbiológica possibilitam a identificação de novos microrganismos e biocompostos que, por meio da biotecnologia, podem atender a diversas demandas sociais, promovendo o desenvolvimento sustentável da região (RODRIGUES *et al.*, 2022).

Tendo em vista o exposto, esta pesquisa tem como objetivo detectar, isolar, identificar *L. monocytogenes* de produtos cárneos prontos para o consumo comercializados no Tocantins, assim como avaliar o potencial de Leveduras autóctones de frutos amazônicos serem utilizadas como inibidores de *L. monocytogenes*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DTHA

Alimentos contaminados com microrganismos patogênicos causam danos não só a saúde humana, mas também prejuízos econômicos, perda de produtividade, perdas comerciais, além das despesas médicas, somando-se a isso podemos citar a sobrecarga do Sistema Único de Saúde no Brasil. São relevantes também os impactos negativos no turismo e imagem do país, segundo o Banco Mundial, as perdas econômicas causadas por DTHA tem custo anual em torno de R\$39 milhões/ano no Brasil (SOUZA *et al.*, 2021). Conforme Oliveira *et al.*, (2010), os dados são subestimados na maioria dos países, as notificações ocorrem apenas nos casos mais graves ou quando o transtorno de saúde se prolonga, já que em sua maioria as DTHAs causam desconfortos leves e rápida recuperação do indivíduo.

Segundo o Manual de Treinamento em Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde (2021), o comportamento da sociedade nas últimas décadas é um fator importante na compreensão das DTHAs. Os hábitos de consumo das populações, que variam entre os países e regiões, são importantes e muitas vezes explicam as diferenças de etiologia dos surtos notificados.

O surto de uma DTHA está estabelecido quando um grupo de pessoas apresenta sintomas de doenças relacionadas a uma origem comum, ou em casos de microrganismo de alta patogenicidade como o *Clostridium botulinum* e a *Escherichia coli* O157:H7, para os quais o diagnóstico de apenas um caso é considerado um surto epidêmico (OLIVEIRA *et al.*, 2010; BRASIL, 2023).

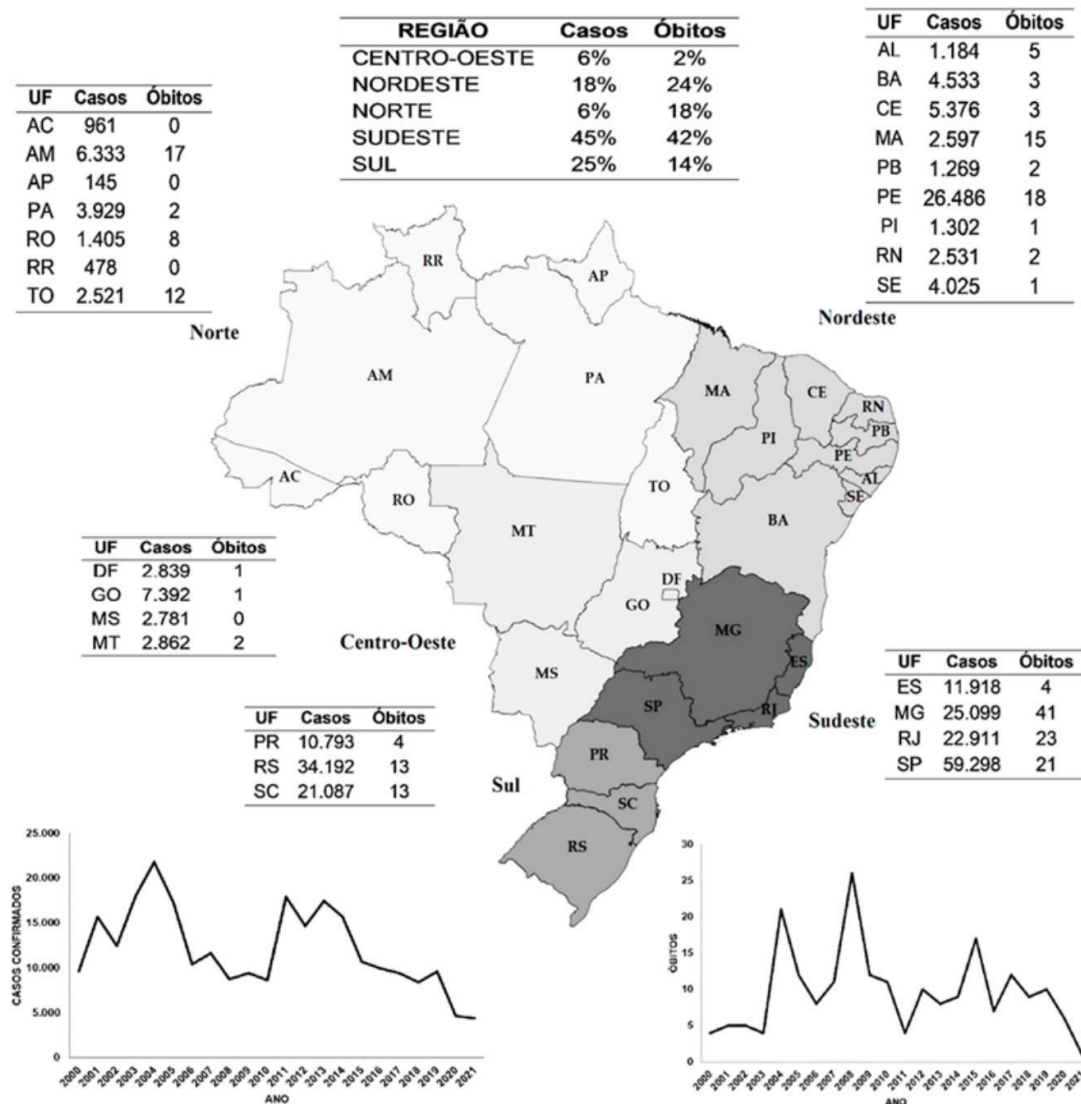
Em relação aos alimentos envolvidos nos surtos de DTHA no Brasil entre 2000 e 2021, dos casos confirmados, predominaram a água (11,83%), seguida por alimentos mistos (9,90%) e múltiplos alimentos (9,54%), porém, a maioria (42,70%) dos alimentos envolvidos nos surtos é desconhecido ou ignorado. Enquanto isso, os alimentos associados à maioria dos óbitos, foram também a água (17,92%), os alimentos mistos (9,43%), seguidos pelos produtos alimentícios para usos nutricionais especiais (9,43%) e mais uma vez a maioria dos alimentos envolvidos é desconhecido ou ignorado em (38,68%) dos óbitos.

No que tange à identificação dos agentes etiológicos responsáveis pelos surtos, salvo os ignorados, que representaram 39,43% dos eventos e 40,09% dos óbitos, predominaram os alimentos contaminados por *Salmonella spp.* (14,77%), Rotavírus (9,43%) e *Escherichia coli* (8,72%), enquanto as proporções de mortes causadas por estes agentes foram, respectivamente, 16,04%, 7,55% e 10,38% (MARQUES e TRINDADE, 2022). Devido a elevada incidência de agentes etiológicos ignorados ou desconhecidos nos surtos, pode-se constatar a fragilidade das investigações e o isolamento de patógenos alimentares no Brasil.

Os dados do levantamento de Marques e Trindade (2022) também indicam que os registros realizados no Brasil, apontam as regiões Sul e Sudeste com o maior número de casos, porém também deve ser levada em consideração a sensibilidade do sistema público de saúde para detecção e registro dos casos, que está intimamente ligada à estrutura pública e desenvolvimento destas regiões (Figura 1)

Ademais, os surtos cada vez mais frequentes na sociedade podem ser compreendidos em virtude do surgimento de novos hábitos alimentares, somado a fatores como globalização, urbanização, modernização da sociedade, crescendo exponencialmente a busca por alimentos cada vez mais processados. A implicação desta mudança nos hábitos da população forçou alterações na indústria de alimentos, obrigando o alimento a permanecer mais tempo nas indústrias, em decorrência de muitas etapas de fabricação para atender a demanda desse modelo de consumo, uso cada vez mais amplo de aditivos e dependência vital de meios adequados de conservação. Todos esses fatores se somam e colocam em evidência o potencial de risco que a contaminação de alimentos pode causar às sociedades, havendo ampla necessidade de pesquisas e desenvolvimento de ferramentas que promovam a segurança alimentar dessas populações (DOS SANTOS, 2021).

Figura 1 - Registros de casos confirmados e óbitos por DTHAs no Brasil entre 2000 e 2021.



Fonte: Marques e Trindade, 2022.

2.1 Listeriose como DTHA

As DTHAs têm ganhado maior importância em saúde pública, dentre elas destaca-se a listeriose, que passou de doença de importância muito limitada a uma grande preocupação para as indústrias de alimentos e para as autoridades de saúde, levando-se em consideração a capacidade do microrganismo de se multiplicar em temperaturas de refrigeração e o alto índice de hospitalização e óbitos da doença (TORTORA *et al.*, 2017; KIRAN *et al.*, 2020; SANTATIVONGCHAI *et al.*, 2023).

O gênero *Listeria* compreende seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi*, porém apenas a *L. monocytogenes* tem importância na saúde pública. *L. monocytogenes* é relatada ao longo da história causando aborto e fetos natimortos em animais, à medida que pesquisas sobre o patógeno evoluíram, passou a ser detectado em casos em humanos. A bactéria está presente nas fezes dos animais, sendo amplamente distribuída no solo e na água (TORTORA *et al.*, 2017).

No Brasil, a listeriose humana é subdiagnosticada e subnotificada, não havendo registros de casos transmitidos por alimentos embora *L. monocytogenes* esteja comprovadamente presente em diversos produtos (DOS SANTOS *et al.*, 2021). De acordo com Batista (2022), 65% dos surtos de intoxicação alimentar registrados no Brasil apresentam origem ignorada, conclui-se, portanto, que há escassez de dados sobre a ocorrência de listeriose no país, conforme é apontado pela própria OMS em sua publicação de 2022 (FAO/WHO, 2022) sobre o panorama global.

A *L. monocytogenes* é um agente patogênico de origem alimentar bem conhecido e importante nos países desenvolvidos, mas ainda não recebeu atenção suficiente nos países subdesenvolvidos em termos de testes de diagnóstico de rotina em laboratórios clínicos. Não há dados relevantes sobre casos e surtos de listeriose no Brasil por não ser uma doença de notificação compulsória, o que dificulta a investigação dos surtos.

O controle oficial da *L. monocytogenes* foi instituído por meio da Instrução Normativa SDA/MAPA nº 9, de 8 de abril de 2009 (BRASIL, 2009), com o objetivo de detectar a presença desse patógeno em produtos de origem animal prontos para consumo.

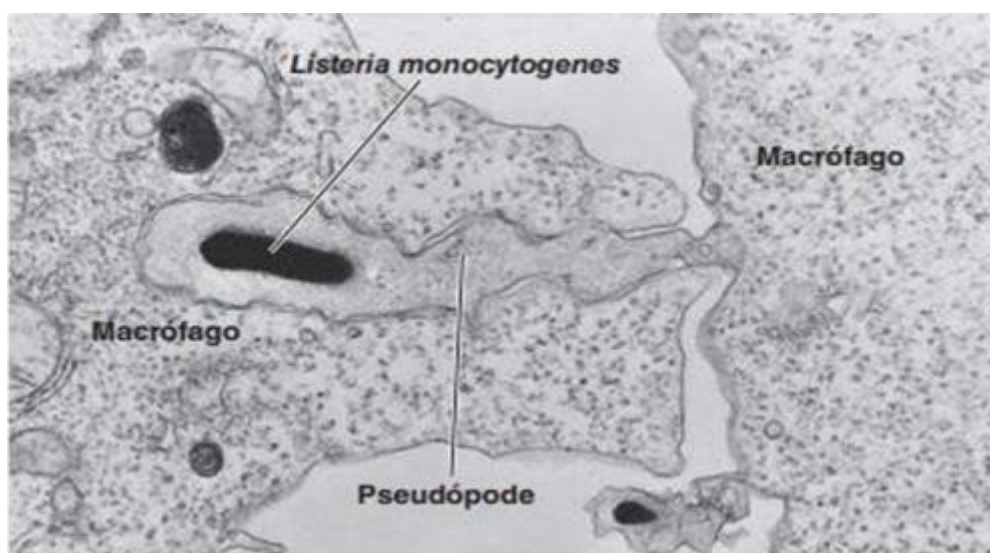
Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, em seu Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), a *L. monocytogenes* é encontrada mesmo em alimentos processados em empresas sob fiscalização federal, apresentando taxas de contaminação de 2,74% em produtos cárneos prontos para consumo no ano de 2023 (BRASIL, 2024). Ressalta-se, que seguindo as diretrizes da legislação nacional e internacional, a pesquisa de *L. monocytogenes* é focada em produtos prontos para consumo.

A *L. monocytogenes* é um bacilo gram positivo, pequeno, com extremidades arredondadas e não produz esporos ou cápsulas, móvel quando cultivada entre 20 e 25° C, porém é imóvel ou apresenta fraca motilidade a 37° C, tem a capacidade incomum de se mover de um monócito para outro (TORTORA *et al.*, 2017; JIBO *et al.*, 2022).

Nos seres humanos a listeriose ocorre de duas formas básicas, em adultos com sintomas leves e quase inaparentes e em mulheres grávidas e pessoas imunossuprimidas, provocando infecção no feto e recém-nascidos, tendo a ocorrência de meningites como um dos quadros mais graves da doença e por isso um índice elevado de mortalidade (TORTORA *et al.*, 2017; TOWNSEND *et al.*, 2021).

Linhagens patogênicas de *L. monocytogenes* produzem uma proteína chamada listeriolisina que permite que as bactérias escapem das vesículas para dentro do citosol. Esse mecanismo de escape foi desenvolvido pelas bactérias para resistir ao processo de fagocitose (*killing*), por meio dos mecanismos microbicidas dos fagócitos, a maioria dos quais está concentrada nos fagolisossomos. Além disso, o patógeno possui a habilidade de se transferir de um monócito para outro conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2 - Disseminação célula a célula de *L. monocytogenes*.



Fonte: TORTORA *et al.*, 2017.

A listeriose é essencialmente transmitida através do consumo de alimentos contaminados, especialmente alimentos prontos para consumo, também ocorre pelo

contato com animais, o ser humano pode ser portador assintomático da bactéria, o que eleva a preocupação com a manipulação de alimentos nas indústrias (KURELJUSIC *et al.*, 2019). Assim, a contaminação de matérias-primas e de alimentos não processados é frequente. Os alimentos associados com a transmissão da doença são vários, no entanto, àqueles cujas características permitem o crescimento da bactéria e que apresentam vida de prateleira longa, mesmo que em temperaturas de refrigeração, merecem particular atenção (PORTUGAL, 2024) .

O grande consumo de produtos cárneos no Brasil, principalmente de aves, bovinos e suínos, é um fator de risco para a ocorrência de listeriose, por isso é essencial obter informações atualizadas na literatura sobre a prevalência deste patógeno em diferentes tipos de produtos cárneos para orientar a adoção de estratégias e mitigar esse risco (PENTEADO *et al.*, 2018; EMBRAPA, 2023).

Nos últimos vinte anos foram descritos vários surtos de listeriose associados ao consumo de diversos alimentos como saladas, patês, queijos, leite pasteurizado, camarões e manteiga. Todavia, os produtos que representam maior risco são aqueles cujo processo de fabricação não inclui qualquer etapa de redução/eliminação de microrganismos, como uso de tratamento térmico e cujas matérias-primas apresentam elevada incidência/concentrações da bactéria (PORTUGAL, 2024).

Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, CDC (2024), a estimativa é que a cada ano nos Estados Unidos, 1.600 pessoas são contaminadas com *L. monocytogenes* provocando o óbito de cerca de 260 pessoas por ano. A listeriose foi a quinta zoonose mais notificada na União Europeia em 2022, com aumento significativo dos casos, principalmente entre idosos e mulheres em idade fértil (EFSA, 2022). A ingestão de alimentos prontos para consumo contaminados com mais de 2×10^3 UFC/g de *L. monocytogenes* é responsável por mais de 90% dos casos de listeriose invasiva (SCHODER *et al.*, 2022).

A habilidade deste agente formar biofilmes é responsável pela sobrevivência do patógeno mesmo em condições severas de stress físico e químico, elevando também o risco de contaminação cruzada de alimentos armazenados mesmo em baixas temperaturas (2 a 4°C) (VILLANUEVA e SALAZAR, 2017). Eliminar biofilmes nas indústrias de alimentos tem sido um desafio enfrentado com o emprego de métodos químicos, físicos e biológicos, com resultados diversos, porém sem uma

definição clara de eficácia para a indústria. Após detecção de cepas resistentes a diversos métodos empregados na indústria, torna-se indispensável a pesquisa e desenvolvimento de métodos alternativos para combate a formação de biofilmes, entre esses esforços incluem uso de fagos, extratos de plantas, produtos bacterianos e enzimas (KIRAN *et al.*, 2020; SANTATIVONGCHAI *et al.*, 2023).

Da busca por compostos naturais que reduzam a degradação dos alimentos, promovam maior biossegurança e que não afetem negativamente os alimentos, foram descobertos compostos como a nisina, que é considerada um dos marcos mais importantes da pesquisa envolvendo bacteriocinas, conjunto de compostos celulares com potencial microbicida. Comercializada desde 1953, é utilizada até hoje na produção de diferentes alimentos em escala industrial. É o único peptídeo antimicrobiano natural aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso como conservante de alimentos.

Rodrigues *et al.*, (2022), em suas pesquisas com *Aspergillus* sp, isolados do bioma amazônico, isolaram o ácido kójico, resultado inédito para fungos amazônicos, reforçando o potencial de fungos amazônicos como fontes alternativas viáveis para produção de compostos que sejam importantes para o setor industrial e para a saúde pública. Vieira *et al.* (2021), ressalta que leveduras produtoras de micocinas como *Wickerhamomyces anomalus*, tem mecanismos de funcionamento alterados dependendo do ambiente e que muitos mecanismos permanecem desconhecidos e ainda necessitam de mais estudos.

Por meio de competição, o uso de bactérias, leveduras e seus compostos, tem sido empregado em muitos estudos com resultados promissores na prevenção, controle e eliminação de biofilmes, levando-se em consideração que a *L. monocytogenes* é o microrganismo de baixa competitividade, esse método apresenta um potencial ainda maior. Compostos bioativos são opções em estudo também muito promissoras para inibir a formação de biofilmes em superfícies na indústria de alimento (KIRAN *et al.*, 2020; SCHMIDELL *et al.*, 2021; MARTELLI *et al.*, 2022; NURIMBERG *et al.*, 2022).

Martelli *et al.*, (2022), mostraram que a levedura *Wickerhamomyces anomalus* é capaz de produzir micocinas que inibem eficazmente todos os microrganismos padrão testados em microdiluição, *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas*

aeruginosa (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Aspergillus niger* (ATCC 16404). . Outros estudos também evidenciam o potencial das micocinas produzidas por *W. anomalus* na inibição de uma ampla gama de patógenos, incluindo *Candida albicans*, *Plasmodium berghei*, *Monilinia spp.*, *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea*, *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus* (VIEIRA *et al.*, 2021).

Tendo em vista o apresentado, pode-se afirmar que prevenção e o consumo de alimentos mais seguros são essenciais, e ações que visam melhorar a segurança dos alimentos são relevantes e estão de acordo com a OMS para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), como a ODS 3 (Saúde e Bem-estar) que destaca em seu item 3.3: “Até 2030, acabar com as epidemias [...] doenças transmitidas pela água, e outras doenças transmissíveis”; ODS 9 (Indústria, inovação e infraestrutura), que no seu item 9.4 ressalta: “[...] uso de recursos e maior adoção de tecnologias e processos industriais limpos e ambientalmente corretos[...]”. (ONU, 2023).

Nesta mesma vertente, no presente trabalho buscou-se dentre as leveduras autóctones dos frutos de Pupunha e Tucumã, pertencentes a coleção de culturas do LMA/UFT identificar cepas com potencial de inibir a bactéria patogênica *L. monocytogenes*. O objetivo é aumentar por meio de bioprodutos ou bionsumos a segurança dos alimentos consumidos no estado, com potencial de expansão para diversos ramos da indústria de alimentos. Muitos trabalhos têm sido publicados utilizando linhagens microbianas (*Lactobacillus* sp., *Saccharomyces* sp., *Aspergillus* sp. *Wickerhamomyces* sp.), devido ao seu potencial probiótico e biotecnológico (SILVA *et al.*, 2021; VIEIRA *et al.*, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2022; MASEBE e THANTSHA, 2022). Isolados como *Lactobacillus* sp. e *Saccharomyces* sp. têm sido obtidos da fermentação espontânea de frutos amazônicos, explorar esse potencial é fundamental para a ciência apontar caminhos e respostas para melhorar a segurança e potencial dos alimentos.

3 JUSTIFICATIVA

Diante da escassez de dados sobre DTHA nas regiões norte e nordeste do Brasil, especialmente sobre a listeriose, torna-se urgente a necessidade de mais pesquisas devido às altas taxas de hospitalização e de mortalidade associadas à essa

doença. O patógeno *L. monocytogenes*, reconhecido como emergente, representa um risco significativo para populações vulneráveis, incluindo crianças, idosos, gestantes e imunossuprimidos. A falta de dados dificulta a formulação de políticas públicas eficazes para prevenir surtos fatais.

Identificar a presença de *L. monocytogenes* em alimentos, especialmente produtos cárneos amplamente consumidos, é essencial para proteger a vida de pessoas vulneráveis, uma vez que a doença apresenta uma taxa de letalidade de 20 a 30% (SCHODER *et al.*, 2022).

A presente pesquisa busca não apenas identificar a prevalência desse patógeno em produtos cárneos no Estado do Tocantins, na região Norte do Brasil, bem como a capacidade dos isolados formarem biofilmes e sua sensibilidade aos principais antimicrobianos em uso para tratamento de pacientes com listeriose e também avaliar o potencial de leveduras selvagens, isoladas de frutos amazônicos, na inibição da formação de biofilmes por *L. monocytogenes*.

A bioprospecção de microrganismos, como essas leveduras, oferece uma alternativa promissora para o desenvolvimento de biocompostos com aplicação na indústria alimentícia, visando a melhoria das práticas de higiene e da produção de alimentos seguros para o consumo. Além disso, a pesquisa abre caminho para a criação de um produto tecnológico inovador, baseado na biodiversidade brasileira, com potencial para fortalecer a indústria de alimentos e promover o uso sustentável dos recursos naturais do país.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Detectar a presença de *L. monocytogenes* em produtos cárneos prontos para o consumo, caracterizar molecularmente cepas presuntivas isoladas e analisar sua resistência a antibióticos, com o objetivo de compreender o risco de surtos de listeriose associados. Adicionalmente avaliar o potencial de formar biofilmes, e avaliar o potencial biotecnológico de leveduras amazônicas na inibição do crescimento de *L.*

monocytogenes, visando estratégias inovadoras para controle microbiológico na indústria de alimentos.

4.2 Objetivos Específicos

- Detectar e isolar *L. monocytogenes* nas amostras de produtos cárneos prontos para consumo.
- Confirmar a identificação das culturas isoladas por meio de PCR e sequenciamento do gene 16S rRNA;
- Avaliar o perfil de resistência a antibióticos das cepas isoladas, determinando os riscos associados à saúde pública;
- Avaliar a capacidade de formação de biofilme dos isolados de *L. monocytogenes*;
- Investigar o potencial inibitório de leveduras amazônicas sobre o crescimento de *L. monocytogenes*, explorando alternativas naturais para controle microbiológico (Apendice I)
- Relacionar os resultados obtidos com as implicações para a segurança dos consumidores de alimentos cárneos prontos para o consumo no estado do Tocantins.

5 METODOLOGIA

5.1 Procedimento de coleta de amostras

Sessenta amostras de produtos cárneos prontos para o consumo foram coletadas entre os meses de maio e julho de 2024, nas maiores cidades em população e em seus entornos, localizadas nas regiões norte, sul e central do estado do Tocantins, Brasil, de acordo com dados do IBGE (2022), sendo 20 amostras de cada região. As coletas ocorreram nos municípios de Palmas e Porto Nacional na região central do estado, Araguaína e Nova Olinda na região norte, Gurupi e Aliança do Tocantins na região sul.

Os produtos amostrados foram presunto fatiado (13), apresuntado fatiado (18) e salsicha (29), com registro de inspeção oficial, mas que passaram por fracionamento e/ou fatiamento, e foram embalados no estabelecimento onde foram comercializados. A diferença no número de amostras por produtos coletados, resultou da variação na disponibilidade destes nos diversos mercados onde foram adquiridos.

A aquisição das amostras foi aleatória nos comércios varejistas de cada município escolhidos conforme ilustrado na Figura 3, podendo ser até duas amostras por estabelecimento, coletadas nas embalagens próprias do estabelecimento e transportadas em caixa térmica sanitizada contendo gelo reciclável e remetidas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Norte do Tocantins, Centro de Ciências Agrárias (UFNT), Campus Araguaína. Ao recepcionar as amostras no laboratório, verificou-se as condições de chegada delas, observando a integridade das embalagens, conservação e temperatura.

Figura 3 - Locais de aquisição das amostras de produtos cárneos prontos para consumo no estado do Tocantins, Brasil.



Fonte: <https://geoportal.to.gov.br/gvsigonline/>

5.2 Análises microbiológicas para detecção e isolamento de *L. monocytogenes*.

A detecção de *L. monocytogenes* seguiu o procedimento definido pela norma NBR/ISO 11290:2004, também instituída no Brasil pela Instrução Normativa SDA/MAPA nº 40 de 12/12/2005 para produtos cárneos e os Métodos Oficiais para Análise de Produtos de Origem Animal, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento conforme Manual da Coordenação Geral de Laboratórios (CGAL) (BRASIL, 2022).

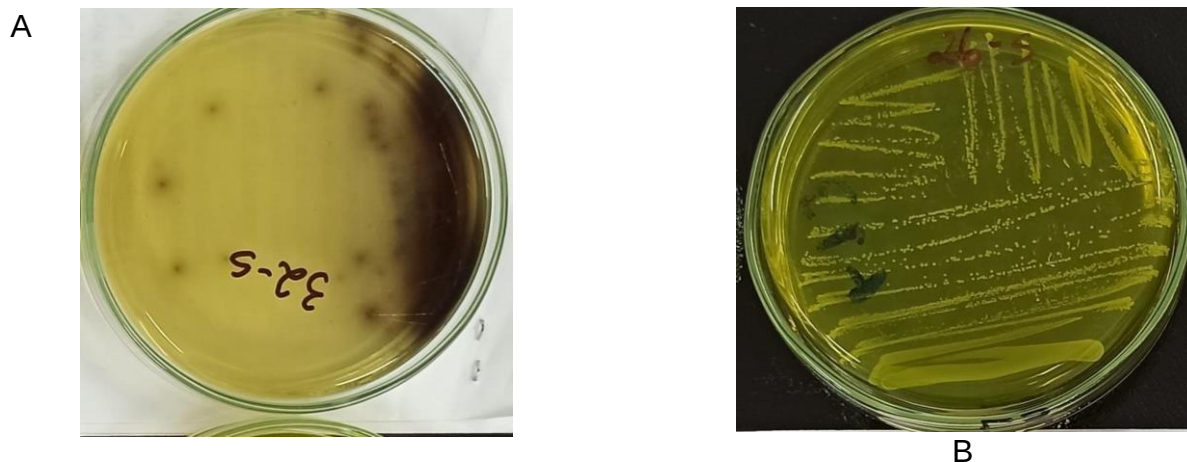
As amostras, analisadas individualmente, foram fracionadas de forma homogênea em pacotes estéreis de 25g em câmara de fluxo laminar, em condições assépticas. Procedeu-se com a diluição das amostras em 225 ml do caldo Half-Fraser (NCM0003A ACUMEDIA), caldo de enriquecimento para meio de cultura primário de *L. monocytogenes*, e então homogeneizou-as em *Stomacher* (SPlabor) 230 batidas/minuto por 3 minutos, com posterior incubação a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 h.

Após essa etapa, realizou-se o enriquecimento secundário, utilizando-se 0,1 ml de cultura primária adicionando 10 ml de Caldo Base *L. Fraser* (K25-1182 + K25-6050, KASVI) com incubação a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 h.

Na sequência foi transferido uma alçada da amostra para a superfície de duas placas de Petri, por esgotamento, uma contendo Agar LS (Himedia M1474) suplementado com substrato cromogênico *L.* (Himedia FD1631) e outra contendo Agar Oxford (ACUMEDIA NCM0056A) suplementado com *L. Supplement* (Oxford) (ACUMEDIA 7986). Ambas as placas foram incubadas à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 h.

Transcorrido o período de incubação, as colônias presuntivas de *L. monocytogenes* em ágar LS, (colônias pequenas e brancas), e no meio Oxford, (colônias verde-oliva com um halo preto), Figura 4, foram selecionadas e submetidas a identificação molecular por meio de PCR.

Figura 4 - Colônias típicas de *L. monocytogenes* em Agar Oxford (A) e Agar Listeria Seletivo (B).



Fonte: Elaboração Própria.

5.3 Identificação Molecular

Após isolamento de colônias presuntivas de *Listeria*., estas foram recuperadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (Himedia M211) por 24 horas a 35°C, submetidas à extração de DNA genômico por fervura simples (100°C/15 min.), conforme protocolo descrito por Ribeiro Júnior *et al.*, (2016).

Na sequência foi realizado o teste de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional para confirmação de *L. monocytogenes*. Os *primers* utilizados estão descritos no Tabela 1.

Tabela 1 - Condições experimentais utilizadas na PCR das colônias presuntivas de *L. monocytogenes* isoladas das amostras de produtos cárneos prontos para o consumo no estado do Tocantins.

Micro-organismo	Gene	Primers (5'-3')	Tamanho (pb)	Referência
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Lmo</i> 2234	ATGAATATGAAAAAAGCAA C TTATACGCGACCGAAGCCA AC	1450- 1600	Chen; Knabel (2007)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para cada amostra (1 µl) foi adicionado um mix (24 µl) com 18,05 µl de água MilliQ®, 2,5 µl tampão TE (Tris-HCl [10[mM]: EDTA[1mM]]) 1,0 µl de MgCl₂, 0,75 µl de DNTp, 0,75 µl de cada primer e 0,2 µl de Taq (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA).

Após o preparo das reações, as amostras seguiram para o termociclador, iniciando com aquecimento de 95° C por 5 minutos para ativação da taqDNA polimerase, seguindo para a sequência de 40 ciclos (94°C por 45", 52°C por 45", 72°C por 2'). Foi inserido em cada grupo de análises uma amostra positiva de *L. monocytogenes* American Type Culture Collection (ATCC 7644), como controle positivo.

A confirmação da espécie ocorreu por meio de eletroforese em gel de Agarose a 1,5%. Utilizou-se um padrão molecular de pares de bases de DNA (bp) (1Kb, DNA Ladder, Kasvi)

Do total de isolados confirmados na PCR-Uniplex, 6 isolados foram selecionados aleatoriamente e submetidos à amplificação parcial do gene 16S rRNA utilizando os primers 27f (5'- GAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') e 1492r (5'- GGYTACCTTGTTACGACTT – 3') (Osborne *et al.*, 2005) para o sequenciamento genético. As condições de amplificação foram: 1 ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos; 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, anelamento a 58°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto; e, 1 ciclo final de extensão a 72°C por 10 minutos.

O sequenciamento do DNA foi realizado utilizando-se o método de Sanger (SeqStudio, Applied Biosystems, Foster City, Estados Unidos) em ambas as direções. Para tanto, o produto da PCR do gene 16S rRNA, foi submetido à purificação (PureLink™ Genomic DNA Purification Kit, Invitrogen). A qualidade das sequências do 16S rRNA foi avaliada pelo software BioEdit v. 7.2.5 (Hall, 1999) e as sequências consenso foram geradas pelo CAP 3 (Huang & Madan, 1999). A identificação foi realizada utilizando o *Blast tool do National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

5.4 Classificação das cepas de *L. monocytogenes* formadoras de biofilme.

Seguindo a metodologia de Stepanović *et al.*, (2004), foram pipetados 230 µl de caldo BHI, transferidos para placa estéril de micro titulação transparente de policloreto de vinil (PVC) de fundo chato, de 96 poços. Em seguida, 20 µl de cada cultura de *L. monocytogenes* isolada foram pipetados e transferidos para cada poço da placa com o meio BHI em três repetições. Uma fileira de 12 poços foi preenchida apenas com meio BHI, para servir de controle negativo. As placas com o material

pipetado foram incubadas por 24 h na temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em aerobiose, para formação dos biofilmes.

Na sequência, o conteúdo da placa foi então despejado e os poços lavados três vezes com 300 μL de água destilada estéril. As bactérias restantes aderidas foram fixadas com 250 μL de metanol por poço, por 15 min, em seguida, as microplacas foram esvaziadas e deixadas para secar em condições ambientais. Após a secagem, os poços foram corados com 250 μL de cristal violeta, usado para coloração de Gram (conjunto de coloração de Gram para microscopia Merck) por 5 min. O excesso de corante foi retirado colocando a microplaca em água corrente da torneira. Após as microplacas serem secas ao ar, o corante ligado às células aderentes foi ressolubilizado com 250 μL de ácido acético glacial a 33% (v/v) por poço. A densidade óptica (DO) de cada poço foi medida a 570 nm usando um leitor Multiskan EX automatizado (Biochrom ASYS UVM 340).

Tomando como parâmetro a capacidade e intensidade de formação de biofilme dos isolados, estes foram divididos em quatro categorias: isolado não formador de biofilme (NF) quando a densidade óptica do isolado (DO_i) foi menor ou igual à densidade óptica da média dos poços controle negativo DO_n ($\text{DO}_i \leq \text{DO}_n$); fracamente formador de biofilme se $\text{DO}_n < \text{DO}_i \leq 2 \times \text{DO}_n$; formador de biofilme moderado se $2 \times \text{DO}_n < \text{DO}_i \leq 4 \times \text{DO}_n$ ou forte formador de biofilme se $4 \times \text{DO}_n < \text{DO}_i$ (MASEBE e THANTSHA, 2022).

5.5 Reativação de leveduras autóctones de frutos amazônicos

Foram testadas 185 leveduras selvagens, isoladas de frutos amazônicos, pupunha (*Bactris gasipaes*), tucumã (*Astrocaryum vulgare*) e bacupari (*Garcinia Gardneriana*) (RODRIGUES, 2021; OLIVEIRA, 2022), pertencentes à coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos LMA/UFT. As leveduras analisadas foram reativadas em meio *Yeast Extract Pepton Glucose* – YEPEG (Ágar, 15 g/L, Peptona bacteriológica, 20 g/L, Glicose, 20 g/L, Extrato de levedura, 10 g/L) com pH ajustado para 4,5 com Ácido HCl 1M, através de estriamento em placa e incubação por 48 h à 28-30°C.

5.6 Análise de coexistência das cepas

As culturas de leveduras e a amostra padrão de *L. monocytogenes* (ATCC 7644) foram padronizadas pela escala de Mac Farland (3 e 1, respectivamente). Para observar o antagonismo entre os isolados foi utilizado o método "Cross-streak" que consistiu em depositar 20µL do cultivo bacteriano (37°C, 24h) na parte superior da placa contendo ágar Nutriente (KASVI K25-1060), em seguida, inclina-se a placa a um ângulo de 90° para que a microgota forme uma linha uniforme até a parte inferior. Logo após, perpendicularmente a linha formada, adiciona-se outros 20µL do isolado de leveduras a serem testadas e repete-se a inclinação. Após, as placas foram incubadas à 37°C durante 48 h conforme metodologia adaptada de Guo *et al.*, (2010). Em cada placa foi possível analisar o antagonismo de 3 isolados de leveduras frente a cepa padrão de *L. monocytogenes*.

As placas com leveduras que apresentaram inibição no crescimento no ponto de cruzamento das linhas, foram consideradas potenciais inibidores.

5.7 Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão

Seguindo a metodologia descrita na Norma Global Consensual do NCCLS® NCCLS M2-A8 Vol. 23 No 1 (2003), isolados de *L. monocytogenes* foram recuperadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) por 24 horas a 35°C. Incubou-se a cultura em caldo, a 35° C, até alcançar ou exceder a turbidez de uma solução padrão de McFarland 0,5.

Ajustou-se a turbidez da cultura em crescimento com solução salina estéril de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão de McFarland a 0,5. Após isso, aguardar 15 min. para ajustar a turbidez da suspensão do inóculo, mergulhou-se um *swab* de algodão estéril na suspensão ajustada, semeado em placas de Petri com Agar BHI, esfregando-se o *swab* em toda superfície e bordas. O teste foi realizado em duas repetições.

Foram testados antibióticos de uso clínico indicados para o tratamento de pacientes com listeriose, utilizando discos impregnados com as seguintes concentrações inibitórias: tetraciclina (10mcg) ampicilina (10mcg), gentamicina

(10mcg), rifampicina (10mcg), trimetoprima/sulfametoxazol (25mcg), cloranfenicol (30mcg), penicilina G (10mcg) (PRIETO *et al*, 2016; CARUSO *et al*, 2020).

Um conjunto de sete discos antimicrobianos foi colocado na superfície de uma placa de ágar BHI semeada com o isolado de *L. monocytogenes* a ser testado, os discos foram distribuídos por igual, de maneira que a distância de centro para centro não exceda 24 mm. As placas foram invertidas e colocadas numa estufa, a 35° C/24 h.

Os halos formados foram medidos em triplicata usando paquímetro, na placa de Petri invertida contra um fundo claro não refletor. O resultado da medição foi comparado com os padrões da Tabela de Pontos de Corte Clínicos do BrCAST-EUCAST, válida a partir de 13-04-2024.

5.8 Análises Estatísticas

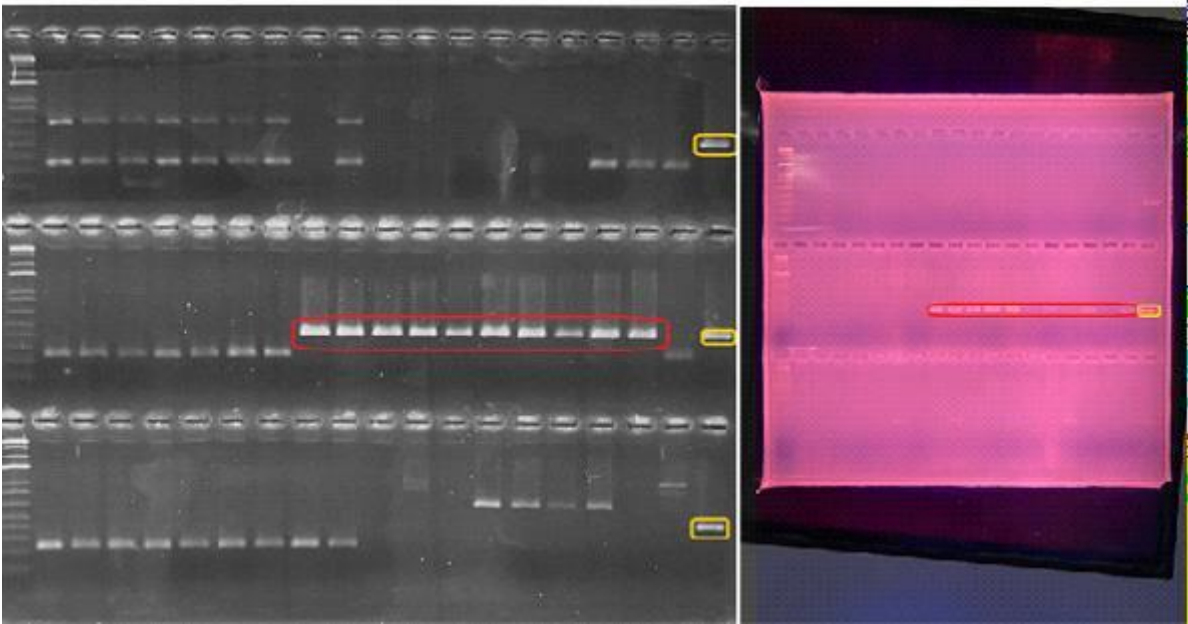
Os resultados do teste de sensibilidade a antibióticos por difusão em disco estão apresentados como médias seguidas de desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott pelo Programa Estatístico Sisvar, considerando o nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Detecção de *L. monocytogenes* em amostras de produtos cárneos prontos para consumo no estado do Tocantins.

Todas as amostras com crescimento de colônias presuntivas (50), (Tabela 1 Apêndice 1) foram submetidas a fase de confirmação de *L. monocytogenes* por PCR, o que resultou em uma amostragem de 420 isolados testados, um total de 105 isolados confirmados, pertencentes a 23 amostras testadas, o que confirma a presença do patógeno nessas, correspondendo a 38,3% de amostras positivas na pesquisa. A Figura 6, mostra os géis de agarose com o perfil de banda esperado para o patógeno em estudo.

Figura 5 - Resultado de Eletroforese com Gel de Agarose com o perfil de banda para *L. monocytogenes*, (Pb 1450-1600) isoladas de produtos cárneos prontos para consumo comercializadas no Tocantins no período de maio a julho de 2024.



Em destaque vermelho amostras positivas, em laranja *L. monocytogenes* ATCC,7644 (controle positivo). **Fonte:** Arquivo pessoal.

Dentre as 23 amostras de PCR positivas para *L. monocytogenes*, 3 colônias foram submetidas ao sequenciamento sendo confirmadas para *L. monocytogenes* conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Sequenciamento de isolados de *L. monocytogenes* das amostras de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil, no período de maio a junho de 2024.

Amostra testada	Resultados
>L 166 Foward	<i>L. monocytogenes</i> . *
Reverse	<i>L. monocytogenes</i> . *
>L255 Foward	<i>L.monocytogenes</i> *
> L100 Foward	<i>L. monocytogenes</i> .*
Reverse	<i>L. monocytogenes</i> *.

*Zheng Zhang et al, (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14. Aleksandr Morgulis et al, (2008), "Database Indexing for Production MegaBLAST Searches", Bioinformatics 24:1757-1764. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Fonte: Elaborado pelo autor.

Das amostras analisadas 38% (23/60) foram positivas para *L. monocytogenes*. A pesquisa deste patógeno nas amostras analisadas revelou níveis elevados de contaminação em produtos cárneos prontos para o consumo comercializados em estabelecimentos atacadistas do estado do Tocantins. Enquanto o anuário estatístico do MAPA (2023), relatou apenas 2,61% de contaminação em um total de 383 amostras dos produtos cárneos prontos para consumo, o presente estudo identificou um nível de contaminação significativamente maior.

A discrepância entre os resultados pode ser atribuída ao foco distinto das pesquisas. Os dados do MAPA referem-se a produtos estocados em indústrias fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), enquanto a presente pesquisa analisou produtos adquiridos no comércio varejista das três regiões do estado. Além de incluir produtos devidamente registrados nos serviços de inspeção, também se considerou a manipulação e as condições de comercialização desses produtos nos estabelecimentos, o que pode ter influenciado os níveis de contaminação detectados.

Cavalcanti *et al.*, (2022), em levantamento realizado no Brasil, relataram índices de 14% de *L. monocytogenes* em carne crua e de 11% em produtos cárneos prontos para consumo. O estudo destacou que a detecção de *L. monocytogenes* foi maior nos produtos cárneos comercializados no mercado varejista, com uma taxa de 19%. Esses resultados reforçam a hipótese de que a manipulação desses produtos no comércio varejista pode ser um fator de contaminação.

Há diferença na quantidade dos produtos amostrados (presunto e apresuntado), em função da oferta destes nos mercados, porém não foram observadas alterações nos resultados que indiquem interferência desse fator (Tabela 3). Os resultados sugerem, no entanto, que produtos com manipulação semelhantes como presunto e apresuntado, que passaram por fatiamento, apresentam similaridades nos resultados, 50% (9/18) das amostras de apresuntado, 46,15% (6/13) das amostras de presunto fatiados apresentaram-se contaminadas com *L. monocytogenes*.

Tabela 3 - Presença de *L. monocytogenes* por categoria de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil, período de maio a julho de 2024.

Produto	Resultados		
	Total de amostras	Nº de amostras positivas para <i>L. monocytogenes</i>	% de amostras positivas para <i>L. monocytogenes</i>
Presunto	13	6	46,2
Apresuntado	18	9	50,0
Salsicha	29	8	27,6
Total	60	23	38,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

A salsicha tem processo de manipulação diferente no mercado, não sofrendo fatiamento, sendo vendida à granel, apresentando como resultado 27,6% (8/29) de contaminação das amostras, sugerindo que a forma de manipulação tem maior impacto sobre a contaminação. A salsicha vendida a granel nos mercados pode ser contaminada durante a exposição em bandejas ou pela manipulação inadequada, mas, por não passar por nenhum processo adicional de corte, apresenta um menor nível de contaminação com *L. monocytogenes*.

Esses resultados ressaltam a importância de considerar a capacidade desse patógeno de formar biofilmes em equipamentos, como fatiadores, o que pode explicar os níveis elevados de contaminação em produtos que passam pelo processo de fatiamento. Produtos como presunto e apresuntado, devido ao contato com mãos do manipulador e lâminas de equipamentos contaminados, têm índices mais elevados de *L. monocytogenes*, já na salsicha, o contato com as mãos do manipulador é a principal fonte de risco de contaminação em sua maioria.

Kureljusic *et al.*, (2019), chegaram a conclusões semelhantes após analisar 489 amostras de produtos de origem animal e prontos para consumo na Sérvia, identificando superfícies de contato com alimentos, máquinas de processamento e trabalhadores como principais fontes de contaminação por *L. monocytogenes* após o processamento térmico, durante o manuseio subsequente. Destaca-se a capacidade

desta bactéria de formar biofilmes, o que aumenta sua resistência a desinfetantes e agentes antimicrobianos.

Em relação a região, o norte apresentou maior contaminação (65%), seguida da região sul (30%) e por fim a central (20%) (Tabela 04).

Tabela 4 - Quantitativo de amostras de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil, contaminadas com *L. monocytogenes* em análises realizadas de maio a julho de 2024.

Total de amostras		Nº de amostras positivas para <i>L. monocytogenes</i>	% de amostras positivas para <i>L. monocytogenes</i>
Norte	20	13	65
Central	20	4	20
Sul	20	6	30
Total	60	23	38

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados obtidos por Teles *et al.*, (2022), no qual foram avaliadas 120 amostras de produtos prontos para consumo na indústria e a mesma quantidade no comércio varejista em pesquisa realizada no Paraná, Brasil, apresentaram contaminação por *L. monocytogenes* apenas no comércio com 11,67% das amostras positivas, enquanto as amostras da indústria não apresentaram contaminação, sugerindo que a manipulação bem como a regionalização pode interferir, posto que microrganismos podem ter comportamento alterado em função da interação com o ambiente.

Os resultados obtidos nesta pesquisa diferem em percentuais da pesquisa no Paraná, sugerindo que a regionalização pode interferir nos resultados, assim como demonstrado nos maiores níveis de contaminação nos produtos presentes no comércio varejista.

Outro aspecto relevante é que, no estado do Tocantins, não existem indústrias registradas para produção destes produtos, o que resulta na necessidade de adquiri-

los de outras regiões. Esse cenário aumenta o tempo de transporte e armazenamento, elevando o risco de perda de controle de temperatura e outros fatores que podem impactar a segurança microbiológica dos produtos durante a logística de distribuição.

Os resultados encontrados no presente estudo sugerem a necessidade de uma avaliação rigorosa das práticas e controles adotados pelo comércio varejista que manipula esses produtos. É importante implementar sistemas de controle de qualidade como o APPCC (Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) e realizar monitoramentos regulares da presença do patógeno no ambiente de processamento. Além disso, é essencial fortalecer a gestão do saneamento e as Boas Práticas de Higiene (BPH) nas fases de processamento e venda a retalho, para reduzir os riscos de contaminação.

Os processadores de alimentos prontos para consumo, incluindo tanto o comércio quanto às indústrias e serviços de alimentação, devem considerar, de forma imprescindível, a introdução de um ou mais controles validados em seus sistemas de segurança de alimentos (ABDEEN *et al.*, 2021) para a eliminação de *L. monocytogenes* de seus produtos, seja por métodos físicos com uso de barreiras sanitárias (troca de equipamentos e uso de luz UV) ou químicos (saneantes testados para o patógeno).

Além disso, os órgãos públicos responsáveis pela fiscalização sanitária no comércio como a Vigilância Sanitária, desempenham um papel crucial nos resultados obtidos, posto que, por meio de ações de fiscalização mais efetivas podem reduzir esses índices no comércio. No entanto, a eficácia dessas ações pode ser comprometida se os governos negligenciarem as necessidades de uma estrutura adequada para o serviço. Esse problema é evidente quando diferentes municípios, utilizando a mesma fonte de matéria prima, apresentam elevada variação na contaminação dos alimentos.

Nesse sentido, observou-se a diferença nos resultados obtidos em cada região do estado: a região sul apresentou contaminação em 30% das amostras, região central de 20%, enquanto a região norte se destacou com 65% das amostras positivas para *L. monocytogenes*. Esses resultados demonstram que existe risco substancial para a população ao consumir produtos cárneos prontos para consumo, sem nenhum processamento sanitário ou térmico adicional.

6.2 Capacidade de formação de biofilmes dos isolados de *L. monocytogenes*.

Vinte e três isolados de *L. monocytogenes* foram avaliados quanto a sua capacidade de formar biofilme em superfície de PVC. Os resultados da avaliação da formação de biofilme em superfícies plásticas por *L. monocytogenes*, é apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Capacidade de formação de biofilmes por isolados de *L. monocytogenes* de produtos cárneos prontos para consumo no Tocantins em placas de policloreto de vinil (PVC).

Região de isolamento	Total de Isolados	Capacidade de Formação de biofilme			
		Negativa	Fraca	Média	Forte
Norte	13	5	2	3	3
Central	4	4	-	-	-
Sul	6	6	-	-	-
Total	23	15	2	3	3

Negativo: $DO \leq 0,207$; Fraco: $DO > 0,207 \leq 0,414$; Médio: $DO > 0,414 \leq 0,828$ e Forte: $DO > 0,828$

Fonte: Elaborado pelo autor.

A partir desses resultados, ficou evidente a capacidade de diversos isolados de *L. monocytogenes* formar biofilmes em superfícies inertes como o PVC. Esse patógeno tem sua capacidade de produção de biofilmes em superfícies de metal e vidro ainda maior por serem materiais hidrofílicos, diferentemente das superfícies plásticas que apresentam maior hidrofobicidade (STEPANOVIC *et al.*, 2004). Os resultados também indicam o potencial destes isolados em formar biofilmes nos ambientes de manipulação de produtos pronto para o consumo fatiados (TSIGARIDA *et al.*, 2019; TELES *et al.*, 2022).

Os biofilmes conferem proteção, adaptabilidade e resistência aos processos tecnológicos, sendo fontes de contaminação entre ambientes e produtos. Porém a formação do biofilme por bactérias é complexa e depende de uma interação entre as células bacterianas, a superfície de fixação e as condições ambientais (PEDONESE *et al.*, 2022).

Neste trabalho observamos que no Tocantins há diferenças entre as regiões pesquisadas, posto que na região Norte, onde os maiores níveis de contaminação

foram encontrados, 8 dos 13, correspondendo a 61,53% isolados de *L. monocytogenes* apresentaram capacidade de formar biofilmes nas três categorias analisadas, enquanto os isolados das demais regiões pesquisadas não apresentaram capacidade de formação de biofilmes.

Diante dos resultados encontrados, podemos inferir que há presença de biofilmes nos equipamentos utilizados no comércio para manipulação de presunto, apresuntado e salsicha, e que esta capacidade do patógeno interfere significativamente nos níveis de contaminação encontrados no estado, que esta capacidade está ligada a cepa circulante e que o comércio não está preparado para lidar com este tipo de ameaça ao consumidor. Portanto, entende-se que há riscos para a saúde dos consumidores, especialmente por não haver emprego eficaz de métodos que garantam a eliminação deste microrganismo.

No trabalho de Masebe e Thantsha (2022) com amostras de *L. monocytogenes* isoladas de abacate e pepino, observou-se com potencial para formação de biofilmes em todas as amostras analisadas, porém com variação em sua classificação, os autores também citam que essa formação está relacionada principalmente com o sorotipo da cepa envolvida.

Ciccio *et al.*, (2022) em sua pesquisa com *L. monocytogenes* utilizando 57 isolados de produtos cárneos e lácteos, observaram que particularmente 58%, 38,5% e 3,5% das cepas analisadas foram produtores de biofilmes fracos, moderados e fortes, respectivamente. Os resultados contrastam com o presente estudo, no qual obteve-se no total geral 34,75% dos isolados apresentando capacidade de formação de biofilmes. Deste total, apresentaram-se com potencial de intensidade fraca (25%), moderada (37,5%) e forte (37,5%) para formação de biofilmes em superfícies inertes. O fato de todos esses resultados estarem relacionados apenas aos isolados obtidos das amostras da região norte, indicam que há diferença entre os isolados por região, e que essa capacidade está relacionada à cepa presente em cada região.

6.3 Testes de antagonismo de leveduras autóctones de frutos amazônicos contra *L. monocytogenes*

Foram avaliadas 185 leveduras autóctones (Tabelas 6 e 7/Apêndice 2) de dois frutos amazônicos e não foi observada atividade antagônica contra o patógeno *L. monocytogenes* (ATCC,7644) utilizando a metodologia de coexistência de cepas.

Silva *et al* (2021) em pesquisa de antagonismo de isolados da fermentação espontânea do fruto amazônico Pupunha (*Bactris gasipaes kunth*), observou que todos os 95 morfotipos (*Lactobacillus* sp. e *Saccharomyces* sp) isolados reduziram a concentração do enteropatógeno *S. aureus*, 10 isolados reduziram *S. typhimurium*, quanto a *L. monocytogenes* apenas 5 isolados inibiram o seu crescimento, já para a bactéria *E. coli*, 13 isolados, apresentaram efeito antagônico.

Os resultados obtidos no presente trabalho, mostram que as leveduras isoladas da fermentação espontânea de frutos amazônicos não apresentaram potencial inibitório contra a *L. monocytogenes* (ATCC 7644), em semelhança com os resultados de Silva *et al.*, (2021) que testando isolados que incluíam leveduras como *Saccharomyces* sp. só obtiveram inibição com os morfotipos isolados compatíveis com bactérias ácido lácticas. Portanto, pesquisas com outros microrganismos isolados destes frutos como os *Lactobacillus* sp devem ser continuadas.

6.4 Sensibilidade a antimicrobianos

Os resultados da sensibilidade a antimicrobianos em disco-difusão estão descritos na Tabela 10 (Apêndice III).

Tabela 6 - Perfil de resistência a antibióticos para *L. monocytogenes* isolados de produtos cárneos prontos para consumo, nas regiões norte, sul e central do estado do Tocantins no período de maio a julho de 2024.

Resistência <i>L. monocytogenes</i> n=30		
Antibióticos	Nº Resistentes	%
Cloranfenicol	0	0,00
Tetraciclinas	4	13,33
Gentamicina	18	60,00

Sulfametoxazol-Trimetroprima	24	80,00
Ampicilina	0	0,00
Penicilina	0	0,00
Rifampicina	16	53,33

Fonte: Elaborado pelo autor.

Dos isolados pesquisados, observou-se que todos foram sensíveis (S) a penicilina (penicilina – 10 unidades), ampicilina (10 µg), e os fenicóis (cloranfenicol – 30 µg) evidenciando que estes antimicrobianos podem ser empregados com eficácia nos casos de infecção contra este patógeno. Já os demais antimicrobianos testados apresentaram variação quanto à sensibilidade aos isolados testados.

Por outro lado, 18 isolados (60%) mostraram-se resistentes aos aminoglicosídeos (gentamicina – 10 µg), 24 (80%) isolados foram resistentes a trimetoprima-sulfametoxazol (25 µg) e 16 (53,4%) isolados foram resistentes a rifamicinas (rifampicina – 10 µg); sendo, portanto, considerados antimicrobianos de baixa eficácia no estado para combater o patógeno, devido a resistência destas cepas. Apenas 4 (13,4%) isolados apresentaram-se resistentes às tetraciclinas (tetraciclina – 30 µg).

Outros pesquisadores, como Arslan e Baytur (2019), ao analisar 128 isolados de *L. monocytogenes* isoladas de carne moída e carne de frango, com a mesma metodologia e concentrações de antibióticos, observaram resistência de 1,6% dos isolados à penicilina, 18% à ampicilina, 1,6 % à gentamicina, 7,8% à tetraciclina, 14% à trimetoprima/sulfametaxazol e 0,8% à cloranfenicol. Já Prieto *et al* (2016), analisando 93 isolados em pesquisa de concentração inibitória mínima, concluíram que as cepas analisadas foram todas suscetíveis à ampicilina, penicilina, trimetoprima-sulfametoxazol, gentamicina, tetraciclina e rifampicina. As pesquisas de Caruso *et al* (2020) mostraram resistência à tetraciclina (4/317; 1,3%), todos os isolados foram suscetíveis à eritromicina, estreptomicina, vancomicina, ampicilina, gentamicina, rifampicina, trimetoprima/sulfametoxazol, cloranfenicol e penicilina.

Os resultados obtidos na presente pesquisa divergem dos resultados desses autores, posto que os isolados no Tocantins apresentaram sensibilidade a penicilinas, também a ampicilina e cloranfenicol, em todos os testes. O que chama a atenção é justamente a resistência dos isolados a gentamicina, rifampicina e trimetoprima/sulfametoxazol, considerado extremamente elevado, superando os

achados dos demais autores pesquisados. Essas diferenças de resultados também reforçam a tese que a resistência a antibióticos está associada à cepa circulante nas regiões isoladas.

O protocolo de tratamento da listeriose geralmente envolve o uso de uma penicilina ou a ampicilina em combinação com um aminoglicosídeo, considerados como a abordagem terapêutica mais eficaz na maioria dos casos (ARSLAN e BAYTUR, 2019). Diante dos resultados desta pesquisa, este protocolo fica comprometido, posto que os isolados pesquisados têm alta resistência aos aminoglicosídeos (60%).

Para pacientes alérgicos às penicilinas, consideradas a droga de eleição para o tratamento de listeriose, a terapia alternativa indicada é o uso de trimetoprima-sulfametoxazol, conforme descrito nos protocolos médicos mais amplamente utilizados (ARSLAN e BAYTUR, 2019). No entanto, os resultados obtidos no estado do Tocantins são alarmantes, uma vez que a pesquisa identificou que 80% dos isolados apresentaram resistência a esse antimicrobiano. Esses dados representam um grave alerta para as autoridades de saúde neste quesito, destacando a necessidade de ações urgentes para o monitoramento e controle da resistência antimicrobiana na região.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foi constatado que os produtos cárneos prontos para consumo comercializados no estado do Tocantins apresentam elevados níveis de contaminação com *L. monocytogenes*. Observou-se que essa contaminação varia por região, sendo a região Norte (representada por Araguaína e Nova Olinda) a mais afetada, com 65% dos produtos contaminados. É importante ressaltar que a fragilidade do poder público nas ações de fiscalização e o despreparo do comércio para lidar com estes riscos contribuem diretamente para estes resultados. A capacidade do patógeno formar biofilmes, especialmente nesta região (61,53%), é outro fator que explica os índices de contaminação encontrados.

Apesar da pesquisa de antagonismo com leveduras selvagens amazônicas não apresentar resultados com potencial de inibição, dada a importância da pesquisa do bioma amazônico, bem como a urgente necessidade de compostos que tragam maior segurança para os alimentos, é recomendado a continuidade das pesquisas com outros microrganismos e compostos próprios deste bioma.

A pesquisa de sensibilidade a antimicrobianos trouxe preocupação com alternativas terapêuticas à pacientes alérgicos aos beta-lactâmicos (penicilinas) devido à resistência de vários isolados. Além disso, são necessárias pesquisas voltadas para o desenvolvimento de produtos eficazes no combate a *L. Monocytogenes*, bem como aprofundamento do conhecimento sobre as cepas circulantes e sua resistência. Esses esforços são necessários para fornecer à sociedade instrumentos eficazes de proteção, considerando que as populações mais vulneráveis enfrentam um risco elevado de suscetibilidade à listeriose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEEN, Eman E.; MOUSA, Walid S.; HARB, Ola H.; FATH-ELBAB, Gehad A.; NOORUZZAMAN, Mohammed; GABER, Ahmed; ALSANIE, Walaa F.; ABDEEN, Ahmed. Prevalence, antibiogram and genetic characterization of *Listeria monocytogenes* from food products in Egypt. **Foods, Basel**, v. 10, n. 6, p. 1381, 15 jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10061381> . Acesso em: 25 de set. 2023

ABDEL-KAREEM, M. M.; ZOHRI, A.-N. A.; NASR, S. A. E. E. Novel marine yeast strains as plant growth-promoting agents improve defense in wheat (*Triticum aestivum*) against *Fusarium oxysporum*. **Journal of plant diseases and protection: scientific journal of the German Phytomedical Society (DPG)**, v. 128, n. 4, p. 973–988, 2021.

ARSLAN, Seza; BAYTUR, Selin. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species and subtyping and virulence factors of *Listeria monocytogenes* from retail meat. **Journal of Food Safety**, v. 39, n. 1, p. e12578, 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos — Método horizontal para a detecção e enumeração de *Listeria monocytogenes* e de *Listeria* spp. - Parte 1: Método de detecção. **NBR ISO 11290-1**, Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=437529> . Acesso em: 28 de out. 2024

BARANCELLI, Giovana Verginia et al. ***Listeria monocytogenes: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública***. Arquivos do Instituto Biológico, v. 78, n. 1, p. 155-168, 2011. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/002185748> . Acesso em: 26 fev. 2024.

^aBRASIL. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. 2023. Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br> . Acesso em: 28 de set. 2023

^bBRASIL. **Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal**. 42024. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal> . Acesso em: 05 de dez 2024

BRASIL. **Programa de Controle de *Listeria monocytogenes* em Produtos de Origem Animal Prontos para Consumo**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/controle-de-patogenos/listeria-monocytogenes> . Acesso em: 05 de dez 2024

BRASIL. Imprensa Nacional. **Instrução Normativa nº 161, de 01 de julho de 2022**. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2 . Acesso em: 27 de julho 2024.

^cBRASIL. **Métodos oficiais para análise de produtos de origem animal**. 2023c. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfda/legislacao-metodos-da-rede-lfda/poa/> . 08 de out. 2023

BRASIL. **Vigilância epidemiológica das doenças de transmissão hídrica e alimentar**: manual de treinamento. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/> . Acesso em: 02 de mar. 2024

BrCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos. Disponível em: <https://brcast.org.br/comite-brasileiro-de-testes-de-sensibilidade-aos-antimicrobianos/> . Acesso em: 11 fev. 2024.

BATISTA, Jéssica D. de S.; SILVA, Ana C. da; OLIVEIRA, Ana P. de; SOUZA, Bruna M. de; SANTOS, Camila R. dos; PEREIRA, Gabriela S.; CHEQUER, Farah M. D. Intoxicações por alimentos e bebidas e ocorrência das doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil. **Saúde e Pesquisa**, [S.l.], v. 15, n. 4, p. 1–21, 2022. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/11170>. Acesso em: 15 de março 2024.

CAVALCANTI, Aline Antas Cordeiro; LIMEIRA, Clécio Henrique; SIQUEIRA, Iara Nunes de; LIMA, Aldenir Cavalcanti de; MEDEIROS, Filipe Jordão Pereira de; SOUZA, Joyce Fagundes de; MEDEIROS, Nara Geanne de Araújo; OLIVEIRA FILHO, Abrahão Alves de; MELO, Marcia Almeida de. The prevalence of *Listeria monocytogenes* in meat products in Brazil: A systematic literature review and meta-analysis. **Research in Veterinary Science**, [S.l.], v. 145, p. 169-176, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.02.015> . Acesso em: 15 de abril de 2023.

CARUSO, Marta; FRACCALVIERI, Rosanna; PASQUALI, Francesco; SANTAGADA, Giuseppe; LATORRE, Lorenzo; DIFATO, Lucia; MICCOLUPO, Adriana; NORMANNO, Giuseppe; PARISI, Alessandro. Antimicrobial susceptibility and multilocus sequence typing of *Listeria monocytogenes* isolated over 11 years from food, humans, and the environment in Italy. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 17, n. 4, p. 284–294, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2723> . Acesso em: 09 de junho de 2023 .

Centers for Disease Control and Prevention. National Outbreak Reporting System (NORS) 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nceizid/dfwed/beam-dashboard.html> . Acesso em: 11 de maio 2024.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard—eighth edition. **CLSI document M2-A8**. Wayne, PA, 2003.

DI CICCIO, Paola; VERGARA, Alessandra; ZILETTI, Lucia; GALLINA, Silvia; IANNETTA, Marcello; GRASSI, Marco Antonio; COLOSIMO, Quirino; PELLEGRINI, Maria; FORTINA, Gilberto; ABRATE, Luisa; CAGNASSO, Alessandra; DECASTELLI, Luciana. Biofilm formation and genomic features of *Listeria monocytogenes* strains isolated from meat and dairy industries located in Piedmont (Italy). **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 378, p. 109784, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35749910/>. Acesso em: 11 de maio 2024.

DATASUS. **Morbidade Hospitalar do Serviço Único de Saúde - por local de internação - Brasil**. 2024. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sih/cnv/niuf.def> . Acesso em: 21 ago. 2023

DIAS, P. A.; SILVA, D. T.; TIMM, C. D. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DE GRÃOS DE KEFIR. **Ciência animal brasileira**, v. 19, n. 0, 2018.

DISSON, O.; MOURA, A.; LECUIT, M. Making Sense of the Biodiversity and Virulence of *Listeria monocytogenes*. **Trends in microbiology**, v. 29, n. 9, p. 811–822, 2021.

DOS SANTOS, J. S.; BIDUSKI, B.; DOS SANTOS, L. R. *Listeria monocytogenes*: health risk and a challenge for food processing establishments. **Archives of microbiology**, v. 203, n. 10, p. 5907–5919, 2021.

EFSA. **Listeria**. 2022. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/listeria>. Acesso em: 21 ago. 2023.

EMBRAPA (Brasil). **Anuário CiCarne da cadeia produtiva da carne bovina - 2023**. 1. ed. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1160117/1/Anuario-CiCarne-cadeia-produtiva-2023.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2024.

FAO WHO. **L. monocytogenes in ready-to-eat (RTE) foods: attribution, characterization and monitoring**. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cc2400en>. Acesso em: 20 de jul. 2024

FILIPELLO, Virginia; MUGHINI-GRAS, Lapo; GALLINA, Silvia; VITALE, Nicoletta; MANNELLI, Alessandro; PONTELLO, Mirella; DECASTELLI, Lucia; ALLARD, Marc W.; BROWN, Eric W.; LOMONACO, Sara. Attribution of *Listeria monocytogenes* human infections to food and animal sources in Northern Italy. **Food Microbiology, [S.l.]**, v. 89, p. 103433, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103433>. Acesso em: 29 ago. 2024.

GUO, Xiao-Hua; KIM, Jong-Man; NAM, Ho-Joon; PARK, Soo-Yong; KIM, Jeong-Dong. Screening lactic acid bacteria from swine origins for multistrain probiotics based on in vitro functional properties. *Anaerobe*, [S.l.], v. 16, n. 4, p. 321–326, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20304081/>. Acesso em: 29 set. 2024.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic acids symposium series**, p. 95–98, 1999.

HOFER, E.; REIS, C. M. F. DOS; HOFER, C. B. Sorovares de *Listeria monocytogenes* e espécies relacionadas, isoladas de material clínico humano. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 32–37, 2006.

HUANG, X.; MADAN, A. CAP3: A DNA sequence assembly program. **Genome research**, v. 9, n. 9, p. 868–877, 1999.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Brasil**. 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/todos-os-produtos-estatisticas.html>. Acesso em: 21 ago. 2023.

JIBO, Garba Gidandawa; RAJI, Yakubu Egigogo; SALAWUDEEN, Adamu; AMIN-NORDIN, Syafinaz; MANSOR, Rozaihan; TENGKU JAMALUDDIN, Tengku Zetty Maztura. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of *Listeria monocytogenes* in South-East Asia; a one-health approach of human-animal-food-

environment. **One Health**, [S.l.], v. 15, p. 100417, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36277096/>. Acesso em: 21 ago. 2023.

KIRAN, Fadime; AKOĞLU, Aylin; ÇAKIR, İbrahim. Control of *Listeria monocytogenes* biofilm on industrial surfaces by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Food Processing and Preservation**, [S.l.], v. 45, n. 1, p. e15042, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.15042>. Acesso em: 22 fev. 2024.

KURELJUŠIĆ, Jasna; ROKVIĆ, Nikola; PAVLOVIĆ, M.; KURELJUŠIĆ, Branislav; NEŠIĆ, Ksenija; TASIĆ, Aleksandra; RADOVANOVIĆ, Radoslava. *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat foods. IOP Conference Series: **Earth and Environmental Science**, [S.l.], v. 333, p. 012072, 2019. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/333/1/012072>. Acesso em: 11 fev. 2024.

NURIMBERG, L. E. C.; PICINATTO, M. B.; MELATI, J.; TONIAL, I. B. Desafios e estratégias para segurança alimentar mundial. In: SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa; OLIVEIRA, Fábio Henrique Portella Corrêa de (Org.). Desafios e estratégias para segurança alimentar mundial. Campina Grande: **Editora Ampila**, 2022.

MARTELLI, Eloiza Cristina; SILVA, Jessica Cássia da; VIEIRA, Jessica; MARQUEZONI, Rafaela de Souza; GANDRA, Rinaldo Ferreira. Conservação de formulação tópica utilizando micocinas produzidas por *Wickerhamomyces anomalus*. **Scientia Plena**, [S. l.], v. 18, n. 10, 2022. DOI: 10.14808/sci.plena.2022.104502. Disponível em: <https://www.scienciaplenu.org.br/sp/article/view/6611>. Acesso em: 3 mar. 2024.

MARQUES, Paulo Ricardo Conceição; TRINDADE, Rodrigo Vieira Rodrigues. Panorama epidemiológico dos surtos de doenças transmitidas por alimentos entre 2000 e 2021 no Brasil. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S.l.], p. 1-10, 2022.

MASEBE, Reabetswe D.; THANTSHA, Mapitsi S. Anti-biofilm activity of cell free supernatants of selected lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* isolated from avocado and cucumber fruits, and from an avocado processing plant. **Foods**, [S.l.], v. 11, n. 18, p. 2872, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/18/2872> . Acesso em: 11 mai. 2023.

MORGULIS, Aleksandr; COULOURIS, George; RAYTSIN, Alexander; MADDEN, Thomas L.; AGARWALA, Richa; SCHÄFFER, Alejandro A. Database indexing for production MegaBLAST searches. **Bioinformatics**, [S.l.], v. 24, n. 16, p. 1757-1764, 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/24/16/1757/203655> . Acesso em: 7 jun. 2024.

OLIVEIRA, Ana Beatriz Almeida de; SANTOS, Luciana Maria dos; SILVA, Maria Fernanda. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA**, Porto Alegre, v. 30, n. 3, p. 279-285, jul./set. 2010.

ONU (Brasil). Nações Unidas (org.). Como as Nações Unidas apoiam os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil: Os Objetivos de Desenvolvimento

Sustentável no Brasil. [S.l.: s.n.], 2023. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 12 dez. 2024.

OSBORNE, Catherine A.; HUNTER, Peter D.; JONES, Kevin. PCR-generated artefact from 16S rRNA gene-specific primers. **FEMS Microbiology Letters**, v. 248, n. 2, p. 183-187, 2005.

PAHO; WHO. Panaftosa alerta que doenças transmitidas por alimentos podem ser evitadas com ações preventivas do campo à mesa. **2022**. Disponível em: <https://www.PAHO.org/pt/noticias/7-6-2022-panaftosa-alerta-que-doencas-transmitidas-por-alimentos-podem-ser-evitadas-com>. Acesso em: 04 jan. 2023.

PEDONESE, F.; ROSSI, M.; BIANCHI, F.; ALBERTINI, M. C.; BLASA, M.; LEONARDI, D.; VECCHIO, D.; MONTESANO, C.; MONTESANO, D. Antimicrobial and anti-biofilm activity of manuka essential oil against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* of food origin. **Italian Journal of Food Safety**, v. 11, n. 1, p. 10039, 2022.

PENTEADO, Julia. Contaminação pelo consumo de produtos cárneos: revisão de literatura. [S.l.: s.n.], **2018**. Disponível em: <https://www.schenautomacao.com.br/ssa/envio/files/278>. Acesso em: 12 nov. 2024.

PORTUGAL. Órgão de Polícia Criminal. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. **Autoridade de segurança alimentar e económica**. [S.l.: s.n.], 2024. Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/listeria-monocytogenes.aspx>. Acesso em: 16 jul. 2024.

PRIETO, M.; KRETSCHMAR, E.; ALVAREZ, M.; FERNÁNDEZ, S.; GARCÍA, M. J.; VÁZQUEZ, F. Antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* in Argentina. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 34, n. 2, p. 91–95, 2016.

RIBEIRO JUNIOR, José Carlos; TAMANINI, Raquel; BELLO, Mariana; LEITE, Daiane de Souza; VERRUMA-BERNARDI, Marta Regina; ARAÚJO JÚNIOR, João Pessoa; LANGONI, Hélio. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. Semina: **Ciências Agrárias, Londrina**, v. 37, n. 5, p. 3069-3078, set./out. 2016. Disponível em: <https://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/24630>. Acesso em: 11 fev. 2024.

RODRIGUES, Debora dos Santos. Bioprospecção de leveduras autóctones de frutos amazônicos potencialmente produtoras de enzimas aplicáveis na área de alimentos. 2021. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Tocantins, **Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Palmas, 2021.

RODRIGUES, J. C.; LIMA DA SILVA, W.; RIBEIRO DA SILVA, D.; MAIA, C. R.; SANTOS GOIABEIRA, C. V.; FIGUEIREDO CHAGAS, H. D.; AYRES D'ELIA, G. M.; BARBOSA ALVES, G. S.; ZAHNER, V.; NUNEZ, C. V.; CRISTO FERNANDES, O. C. Antimicrobial Activity of *Aspergillus* sp. from the Amazon Biome: Isolation of Kojic Acid. **International Journal of Microbiology**, v. 2022, p. 4010018, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/4010018>. Acesso em: 14 maio. 2024.

SANTATIVONGCHAI, P.; TULAYAKUL, P.; JEON, B. Enhancement of the antibiofilm activity of nisin against *Listeria monocytogenes* using food plant extracts. **Pathogens**,

v. 12, n. 3, p. 444, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens12030444>. Acesso em: 11 fev. 2024.

SCHODER, Dagmar; GULDIMANN, Claudia; MÄRTLBAUER, Erwin. Asymptomatic carriage of *Listeria monocytogenes* by animals and humans and its impact on the food chain. **Foods**, v. 11, n. 21, p. 3472, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods11213472>. Acesso em: 22 jan. 2023.

SILVA, J. F. M.; MIRANDA, W. L.; LEÃO, G. M. A.. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *LACTOBACILLUS* SP. E *SACCHAROMYCES* SP. DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DO FRUTO AMAZÔNICO (PUPUNHA) COM POTENCIAL PROBIÓTICO E BIOTECNOLÓGICO PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS. DESAFIOS - **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, [S. l.], v. 8, n. Especial, p. 14–22, 2021. DOI: 10.20873/uftsupl2021-12530. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/12530> . Acesso em: 11 maio. 2024.

SOUZA, J. F.; SOUZA, A. C. F.; COSTA, F. N. Estudo retrospectivo de surtos de doenças veiculadas por alimentos, na região nordeste e Estado do Maranhão, no período de 2007 a 2019. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e36010111728, 2021.

STEPANOVIĆ, Slavko; ĆIRKOVIĆ, Ivana; RANĐELOVIĆ, Vladica; SVABIĆ-VLAHOVIĆ, Milica. Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, n. 5, p. 428–432, 2004.

TELES, Ana Gabriela Pereira Gomes Pereira Teles; SILVA, Maria de Fátima de Sousa; SANTOS, Maria de Jesus RODRIGUES dos; SANTOS, Maria de Fátima RODRIGUES dos; SANTOS, Maria de Fátima RODRIGUES dos. Ocorrência, quantificação e perfil de adesão de *Listeria* sp. isoladas de presuntos fatiados. **PubVet**, v. 16, n. 7, p. 1–6, 2022.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. Microbiologia. 12. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2017.

TOWNSEND, Ann; GONZALES-BARRON, Ursula; FURTADO, Ana; HENRIQUES, Angela R.; NOGUEIRA, Sara; MIMER, Lene; LINDBLOM, Ulrika; VIEIRA, Susana; CADAVEZ, Vasco. A systematic review of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* prevalence, persistence, and diversity throughout the fresh produce supply chain. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1427, 2021.

TSIGARIDA, Efstathia; SKANDAMIS, Panagiotis; NIKOLOPOULOU, Maria; GIALITAKI, Maria; KOUTOUNI, Katerina; KATIKOU, Panagiota; KOUTSOUMANIS, Konstantinos; DROSINOS, Eleftherios H.; SKANDAMIS, Panagiotis N. Evaluation of listeriosis risk related with the consumption of non-prepackaged ready-to-eat (RTE) cooked meat products handled at retail stores in Greece. **EFSA Supporting Publications**, v. 16, n. 7, 2019.

VIEIRA, J.; MARTELLI, E. C.; CAMARGO, M. C. G. D.; GANDRA, R. F. Ação antimicrobiana de micocinas produzidas por *Wickerhamomyces anomalus*: uma revisão / Antimicrobial action of mycocins produced by *Wickerhamomyces anomalus*:

a review. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 10019–10029, 2021. DOI: 10.34119/bjhrv4n3-036. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/29410>. Acesso em: 27 de dez. 2024.

VILLANUEVA, Diego; SALAZAR, María Elena. Formación de biopelículas por *Listeria monocytogenes* aisladas de queso fresco de mercados del Cercado de Lima. **Anales de la Facultad de Medicina**, v. 78, n. 3, p. 322–325, 2017. Disponível em: https://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832017000300012&script=sci_arttext. . Acesso em: 27 fev. 2023.

ZHANG, Yunyi; DONG, Shilei; CHEN, Honghu; CHEN, Jiancai; ZHANG, Junyan; ZHANG, Zhen; YANG, Yong; XU, Ziyan; ZHAN, Li; MEI, Lingling. Prevalence, genotypic characteristics and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* from retail foods in bulk in Zhejiang Province, China. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1710, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01710>. Acesso em: 27 abril. 2023.

APÊNDICES

APÊNDICE I

Tabela 7 - Detecção de *L. monocytogenes* em produtos cárneos prontos para o consumo comercializados nas regiões norte, sul e central do Tocantins.

Nº da Amostra	Região	Produto	Microbiologia (ISO 11290:2004)	PCR
1	Norte	Apresuntado	ausência	*
2	Norte	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
3	Norte	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
4	Norte	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	positivo
5	Norte	Apresuntado	presença (LS +OXFORD)	positivo
6	Norte	Apresuntado	ausência	*
7	Norte	Apresuntado	presença (LS +OXFORD)	positivo
8	Norte	Salsicha	presença (LS)	positivo
9	Norte	presunto	presença (LS)	positivo
10	Norte	Salsicha	presença (LS)	positivo
11	Norte	Apresuntado	presença (LS)	positivo
12	Norte	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	positivo
13	Norte	Apresuntado	presença (LS)	positivo
14	Norte	Salsicha	presença (LS)	negativo
15	Norte	Apresuntado	presença (LS +OXFORD)	positivo
16	Norte	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	positivo
17	Norte	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
18	Norte	Apresuntado	presença (LS +OXFORD)	positivo
19	Norte	Apresuntado	presença (LS +OXFORD)	positivo
20	Norte	Salsicha	presença (LS)	negativo
21	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
22	Sul	Apresuntado	presença (LS)	negativo
23	Sul	Salsicha	ausência	*
24	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
25	Sul	presunto	presença (LS +OXFORD)	positivo
26	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo

27	Sul	presunto	presença (LS)	negativo
28	Sul	presunto	presença (LS +OXFORD)	negativo
29	Sul	Apresuntado	presença (LS)	negativo
30	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
31	Sul	Apresuntado	presença (LS)	positivo
32	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	positivo
33	Sul	presunto	presença (LS +OXFORD)	positivo
34	Sul	presunto	presença (LS +OXFORD)	positivo
35	Sul	Apresuntado	ausência	*
36	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
37	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
38	Sul	Apresuntado	ausência	*
39	Sul	Apresuntado	presença (LS)	positivo
40	Sul	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
41	Central	Apresuntado	ausência	*
42	Central	Salsicha	ausência	*
43	Central	presunto	presença (LS +OXFORD)	negativo
44	Central	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
45	Central	presunto	presença (LS +OXFORD)	positivo
46	Central	Salsicha	ausência	*
47	Central	Salsicha	presença (LS)	negativo
48	Central	presunto	presença (LS +OXFORD)	negativo
49	Central	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
50	Central	Salsicha	presença (LS)	negativo
51	Central	Apresuntado	presença (LS)	negativo
52	Central	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	positivo
53	Central	presunto	ausência	*
54	Central	presunto	presença (LS)	negativo
55	Central	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	positivo
56	Central	Apresuntado	presença (LS +OXFORD)	negativo
57	Central	Salsicha	ausência	*
58	Central	Salsicha	presença (LS +OXFORD)	negativo
59	Central	presunto	presença (LS +OXFORD)	negativo

60	Central	presunto	presença (LS +OXFORD)	positivo
----	---------	----------	--------------------------	----------

- **Ausência de isolados**

Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE II

Tabela 8 - Relação de amostras testadas de leveduras selvagens isoladas do fruto amazônico Tucumã (*Garcinia gardneriana*), pertencentes à coleção do LMA/UFT testadas em antagonismo contra *L. monocytogenes* ATCC 7644.

LEVEDURAS SELVAGENS AMAZÔNICAS (COLEÇÃO TCL LMA/UFT)					
38.2	31.5	42.1.1	36.3	30.1	46.5
18.2	27.3	46	35.2	31.5	12.2
37.2	30.1	40.2	30.1.2	32.1	52.1
29	37.2	43.1	31.2	47.1	36.1
19.3	32.1	43	37.5	52.1	45.4
20	37.1	73.2	38.1	46.2.1	33.1
15.4	38.3	40.2	33.2	51.1.2	25.5
15.2	39	45.3	36.3.1	51.1	8.2
8.4	37.1	75.1	36.4	41.1	16.2
5	37.2	76	36.2	46.2	10
24.2	32.2	73.3	30.6	42.1	6
33.2	32	75.5	33.1	48	13.2
8.1	36.4	46.1.1	38.3	8.2	44.1
1	33.2	41.2	30.4	49.1	46.4
27.2	30.1.2	46.3.1	38.1	42.2.1	40.3
9.2	36.3.1	45.1	16.3	41.3	40.1
3	38.1	40.3.1	39	48.1	2
25.3	30.4	18.6	28.2	44	45.4
37.1	31.4	15.1.1	39.1	50.2.1	41.2.1
35.3	35.2	40.1.1	32	42.2	76.1
25.2	31.1	49	73.1	72	71
8.3	38.3	70.2	47	45.2	15.1
7	37.5	14	21.2	27.3	50.1
16.1	35.2	15.3	16.5	30.6	71.1
25.4	36.2	50.2	31.3	41.3.1	70
28.2	38.3	9.1	31.4	5	36.1
16.3					

Total de Amostras	158	Resultado	Não antagônicas
-------------------	-----	-----------	-----------------

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 9 - Relação de amostras testadas de leveduras selvagens isoladas do fruto amazônico Pupunha (*Bactris gasipaes Kunth*), pertencentes à coleção do LMA/UFT testadas em antagonismo contra *L. monocytogenes* ATCC 7644.

LEVEDURAS SELVAGENS AMAZÔNICAS (COLEÇÃO PPL LMA/UFT)				
27.4	6.3	38.1	49.2	33.2
59.2	27.7	5.1	24.2	40.1
16.2	38.2	25.2	79.2	1.3
27.3	51.2	49.1	8.4	69.3
36	70.5	25.1	11.2	9.2
34	38.3			
Total	27	Resultado	Não antagônicas	

Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE III

Tabela 10 - Suscetibilidade de isolados de *L. monocytogenes* de produtos cárneos prontos para o consumo comercializadas nas regiões norte, central e sul do Tocantins, Brasil a antimicrobianos em disco-difusão.

Amostr as	CLO30 /1		TET30 /2		GEN10 /3		SUT25 /4		AMP10 /5		PEN10 /6		RIF5 /7	
26	2,8±	0,4 ^a	3,2±	0,4 ^a	1,9±	0,1 ^b	1,3±	1,3 ^b	3,1±	0,1 ^c	3,5±	0,4 ^b	2,5±	0,5 ^c
28	0±	0,1 ^a	2,7±	0,6 ^a	1,8±	0,4 ^b	1,5±	1,5 ^b	3,2±	0,2 ^c	3,2±	0,0 ^b	3,1±	0,6 ^d
29	3,1±	0,1 ^a	3,4±	0,1 ^a	1,2±	0,1 ^a	1,6±	1,6 ^b	3,2±	0,0 ^c	3,0±	0,0 ^b	2,0±	0,1 ^b
30	2,2±	0,1 ^a	2,3±	0,0 ^a	0,6±	0,6 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,5±	0,1 ^b	2,3±	0,0 ^a	0,9±	0,2 ^a
31	2,6±	0,4 ^a	3,0±	0,1 ^a	1,2±	0,1 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,7±	0,2 ^b	2,8±	0,3 ^a	3,4±	0,0 ^d
32	2,8±	0,1 ^a	3,0±	0,1 ^a	1,8±	0,0 ^b	0,0±	0,0 ^a	2,6±	0,2 ^b	2,3±	0,2 ^a	3,5±	0,1 ^d
33	1,9±	1,2 ^a	3,5±	0,0 ^a	1,7±	0,1 ^b	1,6±	1,6 ^b	3,5±	0,0 ^c	3,5±	0,0 ^b	3,3±	0,0 ^d
34	2,2±	0,3 ^a	2,5±	0,3 ^a	1,5±	0,4 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,2±	0,3 ^a	2,2±	0,2 ^a	3,0±	0,1 ^d
35	2,1±	0,1 ^a	2,9±	0,2 ^a	1,3±	0,4 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,9±	0,1 ^b	2,4±	0,1 ^a	1,3±	0,0 ^b
40	2,9±	0,3 ^a	1,7±	1,7 ^a	2,4±	0,0 ^b	2,9±	0,0 ^b	3,4±	0,3 ^c	3,3±	0,2 ^b	3,3±	0,3 ^d
43	3,1±	0,1 ^a	3,4±	0,0 ^a	2,6±	0,1 ^b	3,1±	0,0 ^b	3,6±	0,0 ^c	3,5±	0,1 ^b	3,5±	0,0 ^d
44	2,3±	0,2 ^a	2,3±	0,2 ^a	0,6±	0,6 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,7±	0,3 ^b	2,4±	0,2 ^a	1,3±	0,1 ^b
45	2,0±	0,1 ^a	2,5±	0,0 ^a	1,1±	0,4 ^a	0,0±	0,0 ^a	1,9±	0,0 ^a	2,0±	0,1 ^a	0,6±	0,6 ^a
46	2,4±	0,0 ^a	2,6±	0,0 ^a	1,3±	0,3 ^a	0,0±	0,0 ^a	1,7±	0,7 ^a	2,2±	0,0 ^a	1,5±	0,3 ^b
49	2,2±	0,0 ^a	2,4±	0,0 ^a	1,0±	0,3 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,5±	0,0 ^b	2,1±	0,3 ^a	0,5±	0,5 ^b
53	2,3±	0,0 ^a	2,4±	0,1 ^a	0,8±	0,1 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,6±	0,2 ^b	1,8±	0,3 ^a	1,1±	0,1 ^a
55	2,4±	0,0 ^a	2,5±	0,1 ^a	0,6±	0,6 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,9±	0,3 ^b	2,2±	0,2 ^a	0,7±	0,7 ^a
66	2,1±	0,0 ^a	2,4±	0,0 ^a	0,8±	0,1 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,4±	0,0 ^b	2,1±	0,1 ^a	0,8±	0,1 ^a
73	3,0±	0,0 ^a	1,7±	1,7 ^a	2,5±	0,0 ^b	2,8±	0,1 ^b	3,1±	0,0 ^c	3,3±	0,0 ^b	2,7±	0,0 ^c
78	3,0±	0,0 ^a	3,5±	0,0 ^a	2,4±	0,0 ^b	2,8±	0,0 ^b	3,3±	0,0 ^c	3,3±	0,0 ^b	2,5±	0,0 ^c
108	2,5±	0,0 ^a	2,8±	0,1 ^a	0,5±	0,5 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,9±	0,1 ^b	2,3±	0,1 ^a	1,1±	0,2 ^a
139	2,2±	0,0 ^a	0,8±	0,1 ^a	1,1±	0,1 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,4±	0,2 ^b	2,1±	0,1 ^a	1,2±	0,2 ^b
140	2,4±	0,1 ^a	2,7±	0,1 ^a	1,1±	0,1 ^a	0,0±	0,0 ^a	2,8±	0,2 ^b	2,2±	0,2 ^a	1,5	0,0 ^b

172	3,1±	0,1 ^a	3,9±	0,0 ^a	1,1±	1,1 ^b	2,9±	0,1 ^b	3,5±	0,6 ^c	3,4±	0,0 ^b	3,5±	0,0 ^d
226	2,7±	0,0 ^a	3,2±	0,0 ^a	2,6±	0,0 ^b	3,0±	0,0 ^b	3,1±	0,0 ^c	3,3±	0,0 ^b	2,7±	0,0 ^c
232	3,0±	0,0 ^a	1,8±	0,3 ^a	2,0±	1,1 ^b	1,5±	1,5 ^b	3,8±	0,2 ^c	2,1±	0,1 ^a	2,0±	0,0 ^b
233	3,2±	0,3 ^a	2,9±	0,7 ^a	2,4±	0,0 ^b	3,1±	0,1 ^b	4,0±	0,0 ^c	3,9±	0,1 ^b	3,0±	0,0 ^d
277	3,2±	0,2 ^a	3,9±	0,1 ^a	1,7±	0,9 ^b	1,6±	1,6 ^b	2,7±	0,4 ^b	3,5±	0,5 ^b	3,3±	0,0 ^d
288	3,3±	0,3 ^a	3,5±	0,4 ^a	1,8±	0,9 ^b	1,5±	1,5 ^b	2,9±	0,0 ^b	3,2±	0,4 ^b	2,6±	0,0 ^d
ATC C	3,5±	0,1 ^a	2,8±	0,6 ^a	2,9±	0,3 ^b	3,8±	0,1 ^b	3,8±	0,2 ^c	3,8±	0,5 ^b	3,4±	0,0 ^d
Pad rão BrC ast	< 1,2R *		< 2,2R *		< 1,8 R *		< 2,9 R		< 1,6 R		< 1,3 R		< 2,6 R *	
Res ulta do	S(30)		S(26) R(4)		S(12) R(18)		S(6) R(24)		S(30)		S(30)		S(14) R(16)	

S (sensível) R (resistente). *Padrão BrCast para *Staphylococcus* spp. As mesmas letras minúsculas na coluna indicam que não há diferença estatística entre os isolados avaliados com 5% de significância.

CLO /0/1 – Cloranfenicol; TET 30/2 – Tetraciclina; GEN10 /3 – Gentamicina; SUT25 /4 trimetoprima–sulfametoxazol; AMP10 /5 – ampicilina; PEN10 /6 – penicilina G; RIF5 /7 Rifampicina;

Fonte: Elaborado pelo autor.

