



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E BIOCÊNCIAS

Mariana Alves Elois

Bioprospecção de bacteriófagos para biocontrole de *Listeria* spp. na indústria de alimentos

Florianópolis
2023

Mariana Alves Elois

Bioprospecção de bacteriófagos para biocontrole de *Listeria* spp. na indústria de alimentos

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestra em Biotecnologia e Biociências.

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) Gislaine Fongaro

Florianópolis

2023

Elois, Mariana Alves

Bioprospecção de bacteriófagos para biocontrole de *Listeria* spp. na indústria de alimentos / Mariana Alves Elois ; orientadora, Gislaine Fongaro, 2023.
106 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Biotecnologia e Biociências. 2. *Listeria monocytogenes*. 3. Vírus bacterianos. 4. Redução. 5. Aço inox. I. Fongaro, Gislaine . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências. III. Título.

Mariana Alves Elois

Bioprospecção de bacteriófagos para biocontrole de *Listeria* spp. na indústria de alimentos

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 30 de junho de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Rafael Rodrigues de Oliveira, Dr.(a)
Neoprosecta

Prof.(a) Juliano De Dea Lindner, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia e Biociências.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof.(a) Gislaine Fongaro, Dr.(a)
Orientador(a)

Florianópolis, 2023

Este trabalho é dedicado à minha querida e inesquecível avó Maria de Lourdes Elois.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Biotecnologia e Biociências que possibilitaram a minha formação e trabalham para um ensino de qualidade acessível a todos. Agradeço também ao CNPq pelo fomento da bolsa que me permitiu qualidade de vida.

Gostaria de agradecer à minha orientadora, Prof.(a) Dr.(a) Gislaine Fongaro, por me receber de braços abertos no Laboratório de Virologia Aplicada, me guiar, apoiar e contribuir com o meu crescimento profissional e pessoal. Obrigada pela dedicação, pelas oportunidades que me proporcionou ao longo destes dois anos e por me apresentar ao mundo acadêmico.

Agradeço à Prof.(a) Dr.(a) Ariadne Cruz e Prof.(a) Dr.(a) Izabella por sempre estarem dispostas a ajudar ao longo desta jornada da pós-graduação.

Gostaria de agradecer ao Prof. Dr. David Rodríguez-Lázaro pela recepção em sua casa e em seu laboratório, na Espanha, e pela alegria em compartilhar sua cultura. Foram momentos incríveis que estarão guardados para sempre em minha memória e que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Gostaria de agradecer aos amigos que compartilho os dias no laboratório. Bea, muito obrigada pela parceria em inúmeros experimentos, obrigada pelas risadas, pelas dancinhas, por tornar todos os dias mais leves e por ser esse ser humano incrível. Cati, sou muito grata por te conhecer e ter a sua amizade. Você é exemplo de perseverança e determinação. Obrigada por todos os momentos e por todos os roles. Giulia, muito obrigada pela parceria de sempre, em experimentos, disciplinas, seminários, escritas, almoços, e viagens internacionais. Obrigada por ser tão verdadeira e dedicada. Iara, obrigada pela sua leveza, espontaneidade e por fazer todos os momentos únicos. Obrigada por todas as conversas dentro e fora do laboratório. Isa, muito obrigada por ser tão altruísta, por me ajudar em tantos momentos e em situações diferentes. E além disso, ser uma amiga incrível, sempre disposta a ouvir, compartilhar momentos e nos levar pro bar. Rafa, obrigada por ser único, obrigada pelo seu prazer em ensinar e ajudar, obrigada por sempre me tranquilizar independente da situação e enxergar o mundo com leveza. Paula, convivemos tão pouco no laboratório, mas o suficiente para que eu pudesse enxergar o tamanho do teu coração e para que você pudesse me cativar com a sua luz e alegria. Muito obrigada por me ensinar e me acolher logo que cheguei no laboratório.

Agradeço todas as pessoas que fazem parte do laboratório, que diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e compartilharam momentos comigo. Muito obrigada Helena, Raphael, Júlia Kinetz, Doris e Mari Dahmer.

Gostaria de agradecer aos meus pais, Ana Claudia e Sergio. Mãe, muito obrigada por sempre me ouvir, me ajudar, me acalmar e me inspirar. Pai, muito obrigada por me apoiar, me tranquilizar e me ensinar a ser forte. Palavras nunca serão suficientes para expressar o meu amor, gratidão e admiração por vocês. Eu sou grata e espero, um dia, retribuir ao menos, um por cento de tudo que vocês já fizeram por mim. Eu vivo por vocês.

Gostaria de agradecer ao meu irmão, Artur, por todo companheirismo. Obrigada por ser esse ser humano iluminado que aprecia as coisas simples e preciosas da vida, que leva a vida com leveza e vive um dia de cada vez. Obrigada pelo apoio e por sempre me ajudar quando preciso.

Gostaria de agradecer meu companheiro, Lucas, por todo amor, companheirismo, paciência e momentos compartilhados. Muito obrigada por sempre me ajudar, por sempre estar comigo e me confortar. Eu te amo.

Gostaria de agradecer à minha amiga, Natália. Muito obrigada por estar presente na minha vida por tantos anos e por todos os momentos. Obrigada por me entender, me escutar e me ajudar. Você é exemplo de determinação e força e eu tenho muito orgulho de você.

Agradeço ao meu amigo, Matheus. Muito obrigada por tantos anos de amizade, muito obrigada por todos os momentos, por todo amor e por não permitir que a distância nos separe.

RESUMO

A *Listeria* é um gênero que compreende bactérias com morfologia de bastonete, gram-positivas e anaeróbias facultativas. Esse gênero inclui diversas espécies, sendo a *Listeria monocytogenes* a mais estudada em função da sua patogenia. *Listeria monocytogenes* é um patógeno de origem alimentar que se destaca nas indústrias de alimentos dada sua alta resistência à salinidade e baixo pH, capacidade de crescimento em baixas temperaturas e habilidade de formar biofilmes. A sobrevivência e persistência deste patógeno em ambientes de processamento de alimentos estão diretamente relacionados com o aumento do risco de contaminação cruzada dos produtos alimentícios, potenciais mecanismos de resistência e a criação de microambientes protegidos que culminam na persistência de certas cepas. Diante dos desafios acerca de *L. monocytogenes* nas indústrias de alimentos aliado à crescente prevalência da resistência bacteriana aos antibióticos, novas abordagens biotecnológicas devem ser desenvolvidas e aprimoradas para controlar o crescimento microbiano. Neste contexto, os bacteriófagos surgem como uma alternativa útil e eficaz para o biocontrole bacteriano, visto sua atividade autorreguladora, baixa toxicidade para células eucarióticas e capacidade de lise do hospedeiro alvo. O presente trabalho teve como objetivo bioprospectar novos fagos e aplicá-los em superfícies visando o biocontrole de *Listeria monocytogenes*. Para tanto, foram feitas induções de infecções de bacteriófagos *in vitro* a partir de amostras ambientais de diversas matrizes, seguido da propagação e isolamento dos mesmos. Cento e oito (108) fagos foram isolados e baseados na estabilidade e título viral, vinte e quatro (24) fagos foram caracterizados morfológicamente e molecularmente. As caracterizações morfológicas e moleculares revelaram fagos pertencentes às famílias *Microviridae*, *Inoviridae*, *Peduviridae* e *Casjensviridae*. Além disso, com os estudos moleculares foi possível avaliar a presença de genes de resistência a antibióticos associados aos fagos isolados. Os resultados confirmaram a presença de genes relacionados à resistência à beta-lactâmicos nos isolados 22 (SMLM9), 26 (PLLM1) e 31 (SMLM7). Foi avaliado o controle de *L. monocytogenes* em superfícies de aço inox com albumina de soro bovino (BSA) utilizando os fagos 5 (OYLM1), 19 (SULM4), 24 (SULM5), 34 (SULM6) e 37 (SMLM8). O tratamento com bacteriófagos em amostras consideradas contaminadas com matéria orgânica (3 mg/mL de proteína sérica bovina) alcançou reduções variando de 0.005–1.273 logs UFC/mL de *L. monocytogenes*, em relação ao grupo controle não tratado com fagos. Este estudo destaca a eficiência dos bacteriófagos 5 (OYLM1), 19 (SULM4), 24 (SULM5), 34 (SULM6) e 37 (SMLM8) no controle de *L. monocytogenes* em meio líquido e em superfície de inox, o que incentiva o escalonamento dos testes em plantas de processamento de alimentos.

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*; vírus bacterianos; redução; superfícies; aço inox.

ABSTRACT

Listeria is a genus comprising rod-shaped, gram-positive, and facultative anaerobic bacteria. This genus includes several species, with *Listeria monocytogenes* being the most studied due to its pathogenesis. *Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen that stands out in the food industry due to its high resistance to salinity and low pH, ability to grow at low temperatures, and ability to form biofilms. The survival and persistence of this pathogen in food processing environments are directly related to the increased risk of cross-contamination of food products, potential mechanisms of resistance, and the creation of protected microenvironments that culminates in the persistence of certain strains. Faced with the challenges surrounding *L. monocytogenes* in the food industry, coupled with the increasing prevalence of bacterial resistance to antibiotics, new biotechnological approaches must be developed and improved to control microbial growth. In this context, bacteriophages emerge as a useful and effective alternative for bacterial biocontrol, given their self-regulatory activity, low toxicity to eukaryotic cells, and ability to lyse the target host. The present work aimed to bioprospect new phages and apply them on surfaces aiming at the biocontrol of *Listeria monocytogenes*. For this purpose, induction of *in vitro* bacteriophage infections was performed using environmental samples from different matrices, followed by their propagation and isolation. One hundred and eight (108) phages were isolated and based on stability and viral titer, twenty-four (24) phages were characterized morphologically and molecularly. Morphological and molecular characterizations revealed phages belonging to the *Microviridae*, *Inoviridae*, *Peduviridae*, and *Casjensviridae* families. In addition, with molecular studies, it was possible to evaluate the presence of antibiotic resistance genes associated with isolated phages. The results confirmed the presence of genes related to beta-lactam resistance in isolates 22 (SMLM9), 26 (PLLM1), and 31 (SMLM7). The control of *L. monocytogenes* on stainless steel surfaces with bovine serum protein (BSA) was evaluated using phages 5 (OYLM1), 19 (SULM4), 24 (SULM5), 34 (SULM6) and 37 (SMLM8). Treatment with bacteriophages in samples considered to be contaminated with organic matter (3 mg/mL of bovine serum protein) achieved reductions ranging from 0.005–1.273 logs CFU/mL of *L. monocytogenes*, in relation to the control group not treated with phages. This study highlights the efficiency of bacteriophages 5 (OYLM1), 19 (SULM4), 24 (SULM5), 34 (SULM6), and 37 (SMLM8) in the control of *L. monocytogenes* in a liquid medium and on stainless steel surface, which encourages the scaling up testing in food processing plants.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; bacterial viruses; reduction; surfaces; stainless steel.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Linha do tempo acerca dos eventos envolvendo <i>Listeria monocytogenes</i> e a listeriose.	24
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Listeria monocytogenes</i> em células de mamíferos.	26
Figura 3. Nova classificação dos fagos com cauda.	37
Figura 4. Caracterização dos ciclos de vida dos fagos.	39
Figura 5. Fagos anteriormente pertencentes à família <i>Myoviridae</i> .	53
Figura 6. Fagos anteriormente pertencentes à família <i>Siphoviridae</i> .	54
Figura 7. Fagos pertencentes à família <i>Casjensviridae</i> e <i>Microviridae</i> .	54
Figura 8. Fagos não classificados.	55
Figura 9. Contagem de colônias de <i>Listeria monocytogenes</i> após aplicação dos bacteriófagos em superfícies de aço inox com BSA.	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies do gênero <i>Listeria</i> .	21
Tabela 2. Exemplos de surtos de listeriose ao redor do mundo atribuídos a diferentes alimentos nos últimos dez anos (2013-2023).	31
Tabela 3. Classificação dos bacteriófagos baseada em morfologia e material genético.	35
Tabela 4. Bactérias do gênero <i>Listeria</i> usadas no isolamento de bacteriófagos e seu local de obtenção/isolamento.	44
Tabela 5. Resultados da bioprospecção e caracterização dos bacteriófagos.	50
Tabela 6. Características das sequências dos genomas dos fagos.	60
Tabela 7. Genes de resistência associados a bacteriófagos.	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ActA: *Actin assembly-inducing protein* (Proteína indutora de montagem de actina)
- ANOVA: Análise de Variância
- ATCC: *American Type Culture Collection*
- BHI: *Brain Heart Infusion* (Infusão Cérebro e Coração)
- pb: Pares de bases
- BSA: *Bovine Serum Albumin* (Albumina de soro bovino)
- C: Circular
- CDC: *Centers for Disease Control and Prevention* (Centros de Controle e Prevenção de Doenças)
- cDNA: DNA complementar
- CE: *Conformité Européenne* (Conformidade Europeia)
- CF: *Chicken Feces* (Fezes de galinhas)
- cm²: Centímetro quadrado
- cMet: *Mesenchymal-epithelial transition factor* (Fator de transição mesenquimal-epitelial)
- CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- DNA: *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido desoxirribonucleico)
- dNTP: Desoxirribonucleotídeos fosfatados
- DO: Densidade Ótica
- dsDNA: DNA de fita dupla
- dsRNA: RNA de fita dupla
- DTAs: Doenças transmitidas por alimentos
- Ecad: E-caderina
- EFSA: *European Food Safety Authority* (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)
- EN: *European Norm* (Norma Europeia)
- FAO: *Food and Agriculture Organization* (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)
- FDA: *Food and Drug Administration*
- g: Força G
- g: grama
- IN: Instrução Normativa
- InlA: Internalinas A
- inlAB: Internalina (operon)

InIB: Internalinas B

ISO: *International Organization for Standardization* (Organização Internacional de Normalização)

kb: Kilobyte

kV: Kilovolts

L: Linear

LCME: Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

LLO: Listeriolisina O

LM: *Listeria monocytogenes*

LMM: Laboratório de Moluscos Marinhos

LVA: Laboratório de Virologia Aplicada

M-MLV: *Moloney Murine Leukemia Virus* (Vírus da leucemia murina)

M: Multipartido

MAI: Mestrado Acadêmico para Inovação

MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão

mL: Mililitros

mM: milimolar

MOI: *Multiplicity Of Infection* (Índice de Multiplicidade Viral)

NaCl: Cloreto de sódio

nm: Nanômetros

ns: Não significativo

OIE: Organização Mundial para Saúde Animal

OMS: Organização Mundial da Saúde

OY: *Oysters* (Ostras)

p: *p-value* (valor-p)

PC-PLC: Fosfolipase C de amplo alcance

PCR: *Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase)

pH: Potencial Hidrogeniônico

PI-PLC: Fosfolipase C específica para fosfatidilinositol

PL: *Poultry Litter* (Camas de aviário)

PrfA: Ativador transcricional de genes de virulência

qsp: Quantidade suficiente para

RAM: Resistência antimicrobiana

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

RefSeq: *Reference Sequence* (Banco de sequências de referência)

RNA: *Ribonucleic Acid* (Ácido ribonucleico)

rpm: Rotações por minuto

RT: *Reverse transcriptase* (Transcriptase reversa)

RTE: *Ready-to-Eat* (Prontos para comer)

S: Superenrolado

SE: *Sewage* (Esgoto)

SH1: *Serpentine-Lake-Hispanica* (Vírus Haloarcula hispanica SH1)

SM: *Swine Manure* (Dejeto suíno)

ssDNA: DNA de fita simples

ssRNA: RNA de fita simples

STEC: *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga

STIV: *Sulfolobus-Icosahedral-Turreted-Virus* (Vírus icosaédrico com torreta Sulfolobus)

SU: *Surfaces* (Superfícies)

TEM: *Transmission electron microscopy* (Microscópio eletrônico de transmissão)

TMV: *Tobacco mosaic virus* (Vírus do mosaico do tabaco nativo)

U: Unidade

UFC: Unidade Formadora de Colônia

UFP: Unidade Formadora de Placa

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina

UNSIC: *United Nations System Influenza Coordination* (Coordenação do Sistema de Influenza das Nações Unidas)

USDA: *United States Department of Agriculture* (Departamento de Agricultura dos EUA)

µg: Micrograma

µL: Microlitro

µm: Micrômetro

LISTA DE SÍMBOLOS

°C: Graus Celsius

%: Por cento

™: Trademark (Marca registrada)

®: Marca Registrada Oficial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 Zoonoses alimentares e sua relação com a Saúde Única	18
2.2 Gênero <i>Listeria</i> spp.	20
2.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	22
2.4 Listeriose	23
2.5 Mecanismo de ação	24
2.6 Disseminação sistêmica	26
2.7 Atravessamento da barreira placentária	27
2.8 <i>Listeria monocytogenes</i> em ambientes agrícolas e em animais	27
2.9 <i>Listeria monocytogenes</i> em plantas de processamento de alimentos	28
2.10 <i>Listeria monocytogenes</i> nos alimentos	30
2.11 Bacteriófagos	33
2.12 Biologia dos bacteriófagos	35
3 OBJETIVOS	42
3.1 Objetivo geral	42
3.2 Objetivos específicos	42
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1. <i>Listeria</i> spp. e condições de cultivo	43
4.2 Bioprospecção de bacteriófagos	45
4.2.1 Proveniência das amostras	45
4.2.2 Indução de infecção <i>in vitro</i> dos bacteriófagos	45
4.2.3 Isolamento dos bacteriófagos	45
4.2.4 Titulação dos fagos e determinação da virulência	46
4.3 Caracterização por microscopia eletrônica de transmissão (MET)	46
4.4 Extração do material genético dos fagos e sequenciamento genômico	46
4.5 Síntese de cDNA	47
4.6 Montagem e anotação dos genomas	48
4.7 Controle de <i>Listeria monocytogenes</i> em superfícies	48
4.9 Análises estatísticas	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1 Bioprospecção de bacteriófagos	49
5.2 Microscopia eletrônica de transmissão	52
5.3 Sequenciamento genômico dos fagos	56
5.4 Genes de resistência a antibióticos mediados por fagos	62
5.5 Controle de <i>Listeria monocytogenes</i> em superfícies	66
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
7 PERSPECTIVAS DO ESTUDO	70
8 REFERÊNCIAS	71

9 APÊNDICE - MATERIAL COMPLEMENTAR	102
9.1 Publicações e participações em eventos	103
9.1.1 Artigos completos publicados em periódicos	103
9.1.2 Capítulos de livros	104
9.1.3 Resumos publicados em anais de eventos	105
9.2 Estágio Internacional	106

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma zoonose é qualquer doença ou infecção naturalmente transmissível de animais vertebrados para humanos ou vice-versa. Os patógenos zoonóticos podem ser bacterianos, virais ou parasitários, podem envolver agentes não convencionais, como agentes patogênicos não virais acelulares, e podem ser transmitidos para os seres humanos por contato direto ou por meio de alimentos, água e meio ambiente (WHO, 2020b). As zoonoses são de grande interesse no âmbito de Saúde Única, visto que esse conceito compreende a conexão entre a medicina humana e animal, associados ao cuidado e conservação ambiental (BERKES; DOUBLEDAY; CUMMING, 2012; RYU *et al.*, 2017).

Muitas doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são causadas por patógenos zoonóticos e geram inúmeros impactos sociais e econômicos. Dentre os patógenos zoonóticos de origem alimentar se destacam *Salmonella* spp. (*Salmonella enterica* serovar Enteritidis), *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC), vírus da hepatite E e *Listeria* spp. (BESHEARSE *et al.*, 2021; BINTSIS, 2017; GRUDLEWSKA-BUDA *et al.*, 2023).

O gênero *Listeria* compreende bactérias com morfologia de bastonete, gram-positivas e anaeróbias facultativas. Dentre as espécies descritas dentro deste gênero, *Listeria monocytogenes* é mais patogênica e está frequentemente associada a surtos alimentares ao redor do mundo. *Listeria monocytogenes* é responsável pela doença conhecida como listeriose e apesar de causar poucos casos, está associada a uma alta taxa de mortalidade. A listeriose é uma infecção grave que afeta principalmente pessoas com sistemas imunológicos enfraquecidos, como idosos, grávidas, recém-nascidos e indivíduos com doenças crônicas (RADOSHEVICH; COSSART, 2017).

Listeria monocytogenes é uma bactéria que pode ser encontrada em diversos ambientes, incluindo solo, água e vegetação, entretanto, a resistência desta bactéria a condições adversas, como altas concentrações de sal e baixo pH, bem como sua capacidade de formar biofilmes, contribuem para sua sobrevivência e persistência em ambientes de processamento de alimentos, aumentando o risco de contaminação cruzada (KHELEF *et al.*, 2006). A contaminação cruzada é um dos principais fatores que contribuem para as doenças de origem alimentar. Ela ocorre quando microrganismos são transferidos de uma superfície contaminada para um alimento não contaminado. Equipamentos e superfícies em contato com

alimentos, como máquinas de corte, tábuas de corte e pisos, podem se tornar reservatórios da *Listeria monocytogenes* e facilitar a contaminação dos produtos alimentícios (LONDERO *et al.*, 2019; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2008).

A resistência da *Listeria monocytogenes* a agentes antimicrobianos e biocidas também é uma preocupação, pois dificulta a eliminação da bactéria durante os processos de limpeza e desinfecção. Além disso, a formação de biofilmes e a presença de nichos não alcançados pelos desinfetantes contribuem para a persistência da *Listeria monocytogenes* em ambientes de processamento de alimentos (MØRETRØ, T.; LANGSRUD, 2004; PAN; BREIDT; KATHARIOU, 2006; TOMPKIN, 2002).

Nesse contexto, os bacteriófagos têm sido estudados como uma alternativa para o controle da *Listeria monocytogenes* em ambientes de processamento de alimentos. Estes vírus são capazes de infectar bactérias e, por meio do seu ciclo lítico, levam a lise bacteriana. Os fagos ainda possuem atividade autorreguladora, baixa toxicidade para células eucarióticas e não regeneração do hospedeiro alvo devido à lise bacteriana (HOBBS; ABEDON, 2016; JASSIM; LIMOGES, 2013; LOC-CARRILLO; ABEDON, 2011).

Os fagos possuem diversas aplicações biotecnológicas que se estendem desde tratamentos para infecções bacterianas em humanos e animais até aplicações para controle bacteriano em alimentos, superfícies e equipamentos (ANAND *et al.*, 2020; GENG *et al.*, 2020; GÓRSKI *et al.*, 2016; SALMOND; FINERAN, 2015). Além disso, as próprias proteínas fágicas, responsáveis pelo rompimento da parede celular bacteriana, podem ser utilizadas para controle de patógenos (SALMOND; FINERAN, 2015).

Dessa forma, levando em consideração i) a baixa eficiência dos tratamentos disponíveis para sanitização das áreas contaminadas por *L. monocytogenes*, ii) o grande desafio acerca da resistência antimicrobiana na civilização e iii) a possibilidade de utilização dos bacteriófagos como ferramenta biotecnológica aplicada em diferentes áreas e com diferentes finalidades, o presente estudo apresenta uma bioprospecção de novos fagos e possíveis aplicações em superfícies visando o biocontrole de patógenos, especialmente *Listeria monocytogenes*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Zoonoses alimentares e sua relação com a Saúde Única

O termo “zoonoses” deriva da palavra grega *zoon*, que significa animal, e *nosos*, que significa doença (RAHMAN *et al.*, 2020). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma zoonose é qualquer doença ou infecção naturalmente transmissível de animais vertebrados para humanos ou vice-versa. As doenças zoonóticas são causadas por diferentes patógenos, incluindo bactérias, vírus, parasitas, fungos e agentes patogênicos não virais acelulares (WHO, 2020b).

Os patógenos podem ser transmitidos de animais para os humanos de forma direta ou indireta. A gripe aviária, por exemplo, é uma doença causada por um vírus transmitido de animais para os seres humanos por meio de gotículas ou fômites. No caso da raiva, a mordida de animais contaminados (cachorros, morcegos, macacos, gambás, guaxinins ou raposas) transmitem o vírus para humanos diretamente através da saliva. Além destes exemplos, os patógenos também podem ser transmitidos através de vetores como mosquitos e carrapatos (HUANG; HIGGS; VANLANDINGHAM, 2019; MORTIMER, 2019).

Os alimentos possuem um papel importante na transmissão de patógenos e causam doenças que são responsáveis por altas taxas de morbidade e mortalidade em populações adultas e pediátricas. A mortalidade é frequentemente associada a doenças diarreicas causadas por alimentos e água potável contaminados e afetam cerca de 420.000 (7.5%) pessoas, incluindo 125.000 crianças. Além disso, estima-se que cerca de 600 milhões (7.69% indivíduos ou 1 em cada 10 pessoas no mundo) de pessoas consomem alimentos e água contaminados anualmente (NEWELL *et al.*, 2010; WHO, 2015). As zoonoses também geram inúmeros impactos na saúde humana e animal, incluindo obstáculos que afetam negativamente o desempenho diário dos indivíduos. Em animais, além de levarem à mortalidade, podem acarretar importantes perdas econômicas no setor pecuário, já que, quando não envolvidas em mortalidade, podem acarretar na diminuição do desempenho e perdas significativas de produtos de origem animal. Conseqüentemente, a economia também é fortemente afetada pelas medidas necessárias para o controle e erradicação das zoonoses, incluindo vigilância, diagnóstico, isolamento e quarentena, restrições ao transporte de animais, programas de tratamento e vacinação, inspeções e biossegurança (RAHMAN *et al.*, 2020).

Globalmente, as doenças transmitidas por alimentos causadas por bactérias (226.526.634) foram mais comuns do que as causadas por vírus (138.513.782) e parasitas (10.284.561) (WHO, 2015). Os principais patógenos zoonóticos de origem alimentar incluem *Salmonella* spp. (*Salmonella enterica* serovar Enteritidis), *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC), vírus da hepatite E e *Listeria* spp (BESHEARSE *et al.*, 2021; BINTSIS, 2017; GRUDLEWSKA-BUDA *et al.*, 2023).

Nos Estados Unidos, apesar de causar poucos casos, *Listeria monocytogenes* está associada a uma alta taxa de mortalidade, com cerca de 3 a 35 mortes no ano (9.4%–20.8%). Enquanto na Europa, as taxas de mortalidade para a mesma bactéria são ainda maiores, variando de 198 a 247 mortes no ano (15%–17.8%) (LEE; YOON, 2021).

O conceito de Saúde Única, também conhecido como *One Health*, reconhece a interdependência entre a saúde dos seres humanos, dos animais e o ambiente. Esse conceito foi adotado em 1984 por organizações e pesquisadores internacionais para investigação, prevenção e controle eficazes de doenças infecciosas (BIDAISEE; MACPHERSON, 2014).

A abordagem de Saúde Única reconhece que as zoonoses não podem ser adequadamente controladas ou prevenidas apenas por meio de esforços isolados nas áreas de saúde humana ou animal, mas através da integração da vigilância, controle e prevenção de doenças em todas as espécies envolvidas, bem como compreensão dos fatores ambientais e ecológicos que contribuem para a propagação das doenças. Além disso, o conceito de Saúde Única incentiva colaborações entre biólogos, veterinários, médicos, agricultores, ecologistas, microbiologistas, epidemiologistas e engenheiros biomédicos para garantir saúde favorável para animais, humanos e meio ambiente e prevenção e controle de doenças emergentes e reemergentes, incluindo zoonoses (GHAI *et al.*, 2022; HÄSLER *et al.*, 2014). A Organização Mundial da Saúde (OMS), Organização Mundial para Saúde Animal (OIE), Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), Departamento de Agricultura dos EUA (USDA), Coordenação do Sistema de Influenza das Nações Unidas (UNSIC) e a Comissão Europeia já reconhecem as estratégias de prevenção e controle envolvendo a abordagem de Saúde Única (WHO, 2012).

2.2 Gênero *Listeria* spp.

Bactérias pertencentes ao gênero *Listeria* são onipresentes no ambiente, anaeróbicas facultativas, gram-positivas, com formato de bastonete, não esporulantes, não capsuladas e com baixo conteúdo de guanina e citosina. Elas são resistentes a condições extremas, como baixa temperatura e alta salinidade, demonstrando uma grande adaptabilidade ao ambiente (KHELEF *et al.*, 2006).

Na última década, houve um aumento na identificação de novas espécies de diversas fontes, totalizando 29 espécies contabilizadas (Tabela 1). Embora 29 espécies sejam listadas, 2 espécies, *Listeria denitrificans* e *Listeria murrayi*, são consideradas sinônimos. A espécie *L. denitrificans* foi transferida para um novo gênero e renomeada como *Jonesia denitrificans* em 1987 e confirmada por duas emendas recentes (NOUIOUI *et al.*, 2018; OREN; GARRITY, 2019; ROCOURT, Jocelyne; WEHMEYER; STACKEBRANDT, 1987). Mais tarde, descobriu-se que existiam semelhanças de alto nível entre *Listeria grayi* e *Listeria murrayi*. Assim, ambas foram fundidas em uma única espécie, *L. grayi*, por questão de prioridade (ROCOURT, J. *et al.*, 1992).

Tabela 1. Espécies do gênero *Listeria*.

Nº	Espécie	Ano de descrição
1	<i>Listeria ilorinensis</i>	2022
2	<i>Listeria farberi</i>	2021
3	<i>Listeria rustica</i>	2021
4	<i>Listeria portnoyi</i>	2021
5	<i>Listeria immobilis</i>	2021
6	<i>Listeria cossartiae</i>	2021
7	<i>Listeria valentina</i>	2020
8	<i>Listeria thailandensis</i>	2019
9	<i>Listeria costaricensis</i>	2018
10	<i>Listeria goaensis</i>	2018
11	<i>Listeria newyorkensis</i>	2015
12	<i>Listeria booriae</i>	2015
13	<i>Listeria riparia</i>	2014
14	<i>Listeria grandensis</i>	2014
15	<i>Listeria floridensis</i>	2014
16	<i>Listeria cornellensis</i>	2014
17	<i>Listeria aquatica</i>	2014
18	<i>Listeria weihenstephanensis</i>	2013
19	<i>Listeria fleischmannii</i>	2013
20	<i>Listeria rocourtiae</i>	2010
21	<i>Listeria marthii</i>	2010
22	<i>Listeria grayi</i>	1992
23	<i>Listeria ivanovii</i>	1984
24	<i>Listeria welshimeri</i>	1983
25	<i>Listeria seeligeri</i>	1983
26	<i>Listeria innocua</i>	1983
27	<i>Listeria murrayi</i>	1971

28	<i>Listeria denitrificans</i>	1961
29	<i>Listeria monocytogenes</i>	1940

Fonte: Elaborada pela autora.

2.3 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é a bactéria mais patogênica dentro do gênero de *Listeria*. Ela foi isolada pela primeira vez pelo veterinário sueco Gustav Hülphers em 1910 a partir de lesões necróticas de fígado de coelho e nomeada como *Bacillus hapatis* (HÜLPHERS, 1911). Entretanto, em 1926, recebeu o nome *Bacterium monocytogenes* por Murray, que desconhecia o trabalho precedente de Hülphers, e investigava surtos consecutivos de mortes súbitas e doenças entre coelhos e cobaias de laboratório. A bactéria foi novamente renomeada *Listerella hepatolytica* por Pirie em 1927, em homenagem ao pioneiro cirurgião e bacteriologista Joseph Lister, mas recebeu seu nome atual pelo próprio Pirie em 1940 (MURRAY; WEBB; SWANN, 1926; PIRIE, 1940) (Figura 1).

Listeria monocytogenes possui a habilidade de crescer em um amplo espectro de temperaturas (1-45 °C), favorecendo sua sobrevivência e resistência em alimentos. Visto que essa bactéria não resiste a temperaturas superiores a 60 °C, a pasteurização se torna uma alternativa viável para sua eliminação em produtos lácteos. Este organismo possui flagelos que lhe confere motilidade apenas em uma faixa estreita de temperatura, ou seja, crescendo entre 20 e 25 °C a flagelina é produzida e montada na superfície da célula, entretanto, a 37 °C a produção de flagelina é acentuadamente reduzida (PEEL; DONACHIE; SHAW, 1988).

Além da habilidade de crescimento em diferentes temperaturas, *L. monocytogenes* também é resistente a pH extremos e altas salinidades, entretanto seu crescimento ótimo ocorre em pH neutro e 0,5% NaCl. A resistência deste patógeno a condições adversas contribui para a sua ampla distribuição em múltiplos habitats e corrobora o aumento dos surtos de origem alimentar em países industrializados (KHELEF *et al.*, 2006).

2.4 Listeriose

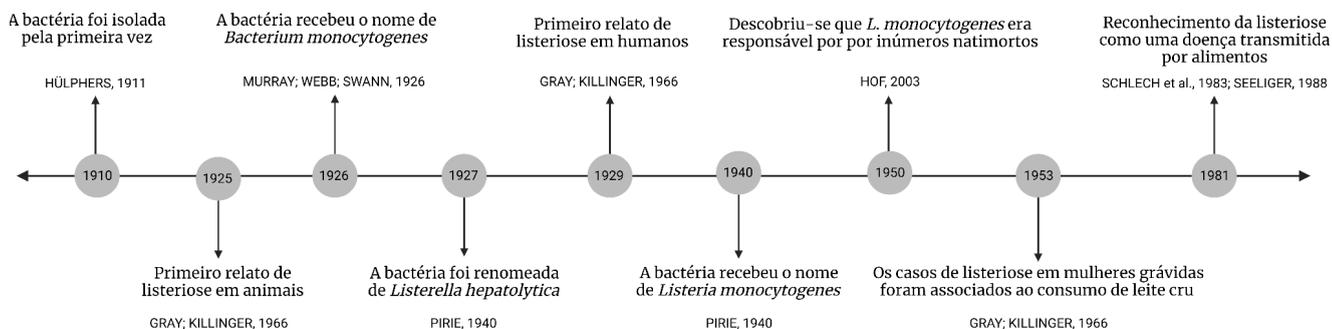
A listeriose é a doença resultante de uma infecção bacteriana causada pela bactéria *Listeria monocytogenes*. O primeiro relato de listeriose foi feito em ovelhas em 1925 e mais tarde, em 1929, em seres humanos (GRAY; KILLINGER, 1966). Entretanto, esta doença permaneceu obscura até a década de 1950, quando se descobriu que a *L. monocytogenes* era, de fato, o agente causador da doença “granulomatosa infantisséptica”, responsável por inúmeros natimortos na Alemanha Oriental pós-guerra (GRAY; KILLINGER, 1966; HOF, 2003).

Em 1953, o bacteriologista da Alemanha Oriental Potel descobriu que casos de listeriose em mulheres grávidas estavam frequentemente associados ao consumo de leite cru (GRAY; KILLINGER, 1966). Embora os alimentos, principalmente o leite, tenham sido postulados como a fonte da listeriose na Alemanha, a listeriose não foi globalmente reconhecida como uma doença transmitida por alimentos. Esse paradigma só mudou quando um surto de listeriose ocorreu na Nova Escócia, Canadá (SCHLECH *et al.*, 1983; SEELIGER, 1988) e a investigação epidemiológica o vinculou com o consumo de repolho de campo adubado com esterco de ovinos com listeriose (Figura 1).

A listeriose afeta principalmente idosos, gestantes, recém-nascidos e pessoas imunocomprometidas e pode causar septicemia, abortos, infecções do Sistema Nervoso Central e materno-fetal e infecções localizadas, além de induzir gastroenterites benigna e espontaneamente resolutiva em indivíduos imunocomprometidos (BUCHANAN *et al.*, 2017; VÁZQUEZ-BOLAND *et al.*, 2001a).

A listeriose feto-maternal ocorre através da disseminação da bactéria ao feto por meio da placenta, podendo ocasionar aborto, parto prematuro e óbito dos recém-nascidos. Os sintomas relacionados a esse processo na gestante incluem dores de cabeça, fadiga, calafrios, dores musculares e articulares, em alguns casos, esse processo é assintomático. A listeriose neonatal também pode ocorrer, embora seja menos frequente. Nesse caso, a ocorrência é entre a primeira e a oitava semana após o parto e os recém-nascidos podem apresentar febre, meningite, septicemia, gastroenterite e pneumonia. Por fim, em adultos, as manifestações clínicas são causadas geralmente pela sensibilização do Sistema Nervoso Central, causada pela infecção do parênquima cerebral e se apresentam na forma de meningite ou encefalite. Outras manifestações clínicas menos comuns são artrite, pleurite, miocardite, endocardite, peritonite, sinusite, otite, conjuntivite e abscessos localizados (ROCOURT, J., 1996).

Figura 1. Linha do tempo acerca dos eventos envolvendo *Listeria monocytogenes* e a listeriose.



Fonte: Elaborada pela autora.

2.5 Mecanismo de ação

L. monocytogenes apresenta um mecanismo específico para invasão de células fagocíticas e não fagocíticas. Visto que a forma mais comum de contaminação por esta bactéria é pela ingestão de alimentos contaminados, o trato gastrointestinal é a principal forma de entrada no hospedeiro. *L. monocytogenes* pode induzir sua própria internalização através de várias células não fagocíticas, incluindo enterócitos, hepatócitos, fibroblastos, células endoteliais e células gliais do Sistema Nervoso Central.

A fagocitose de *L. monocytogenes* em células epiteliais ocorre através de um mecanismo chamado *ziper-type*, caracterizado por uma íntima interação entre a bactéria e a membrana celular, seguida pela invaginação progressiva da membrana plasmática e internalização bacteriana. Esse processo ocorre através do operon *inlAB*, que codifica duas proteínas de superfície denominadas internalina (InlA e InlB) (GAILLARD, J.-L *et al.*, 1991). O receptor para InlA é a E-caderina (Ecad), uma proteína de junção aderente transmembranar expressa em células epiteliais e alguns subconjuntos de células mieloides. A interação do InlA com o Ecad envolve diretamente o 16º aminoácido (prolina) do Ecad (LECUIT *et al.*, 1999). O domínio citoplasmático do Ecad, que liga o Ecad via beta e alfa-cateninas ao citoesqueleto de actina, é crítico para a internalização (LECUIT *et al.*, 2000), e estudos identificaram

fatores-chave envolvidos na internalização mediada por InIA, incluindo ARHGAP10, vezatina, miosina 7, caveolina e clatrina (BONAZZI *et al.*, 2008; SOUSA *et al.*, 2005; VEIGA; COSSART, 2005).

A translocação de *L. monocytogenes* ao longo do lúmen intestinal acontece nas células extrusivas na ponta das vilosidades intestinais, nas dobras das vilosidades e, mais notavelmente, em torno das células caliciformes.

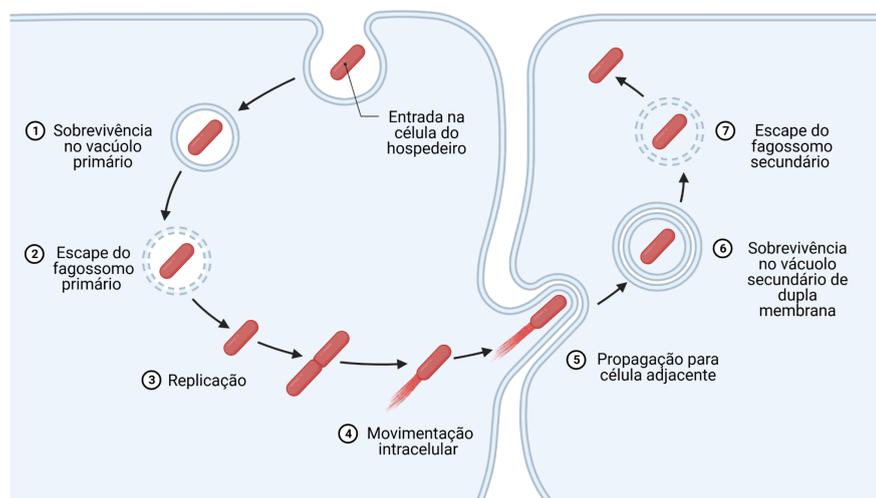
A resposta do tecido intestinal à *L. monocytogenes* é independente da invasão das vilosidades intestinais mediadas por InIA e totalmente dependente de listeriolisina O (LLO), que desencadeia a resposta do tecido hospedeiro intestinal nas placas de Peyer, onde a *L. monocytogenes* se transloca através da barreira intestinal de maneira independente de InIA via células microfenestradas.

A citolisina formadora de poros listeriolisina O (LLO), codificada por *hly*, é absolutamente necessária para a lise vacuolar (DANCZ *et al.*, 2002; PORTNOY; SUZANNE JACKS; HINRICHS, 1988; VÁZQUEZ-BOLAND *et al.*, 2001b). Além de LLO, *L. monocytogenes* secreta duas fosfolipases C (PLCs), PI-PLC e PC-PLC, codificadas por *plcA* e *plcB*, respectivamente que atuam sinergicamente auxiliando LLO na lise de vacúolos primários e secundários, respectivamente (CAMILLI; GOLDFINE; PORTNOY, 1991; GEDDE *et al.*, 2000; LEIMEISTER-WÄCHTER; DOMANN; CHAKRABORTY, 1991; MENGAUD; BRAUN-BRETON; COSSART, 1991; SMITH *et al.*, 1995; VÁZQUEZ-BOLAND *et al.*, 1992). Quando atinge o citosol, a bactéria é capaz de polimerizar a actina através da proteína de superfície ActA (*actin assembly-inducing protein*), permitindo a propagação da infecção em focos sem contato com o meio extracelular. Durante a multiplicação intracelular em células infectadas primárias, a geração da cauda de actina impulsiona as bactérias em direções aleatórias e ocasionalmente para a periferia da célula, gerando uma saliência, que contém a bactéria. Quando a bactéria em movimento encontra a membrana de uma célula adjacente, uma protrusão invagina nesta célula, gerando um vacúolo de membrana dupla contendo *L. monocytogenes* e parte da cauda de actina. O vacúolo da célula infectada secundariamente é então lisado pelas enzimas bacterianas, liberando bactérias no citosol e iniciando um novo ciclo infeccioso (TILNEY; PORTNOY, 1989) (Figura 2).

Os genes LLO e ActA são parte do genoma de *L. monocytogenes* e responsáveis pela virulência em modelos animais de infecção (GAILLARD, J. L.; BERCHE; SANSONETTI, 1986; LEVRAUD *et al.*, 2009; PORTNOY; SUZANNE JACKS; HINRICHS, 1988). Além disso, eles fazem parte da ilha-1 de patogenicidade desse patógeno e são co-regulados pelo

regulador transcricional PrfA, o principal regulador dos genes de virulência de *L. monocytogenes* (COSSART; LECUIT, 1998).

Figura 2. Ciclo de vida de *Listeria monocytogenes* em células de mamíferos.



Fonte: Adaptado de TILNEY & PORTNOY, 1989.

2.6 Disseminação sistêmica

Após atravessar a barreira intestinal, a bactéria chega ao fígado pela veia porta. Uma vez no fígado, ela é rapidamente fagocitada pelas células de Kupffer, macrófagos residentes de origem fetal que revestem os sinusóides hepáticos, induzindo sua morte precoce dependente de necrostatina-1. Esse processo desencadeia o recrutamento de monócitos que orquestram uma resposta inflamatória tipo 1 antibacteriana. A morte das células de Kupffer também desencadeia uma resposta do tipo 2 envolvendo a interleucina-33 derivada de hepatócitos e a interleucina-4 derivada de basófilos. A ativação alternativa de macrófagos derivados de monócitos recrutados para o fígado permite que eles substituam as células de Kupffer ablacionadas e restaurem a homeostase do fígado. Portanto, a morte das células de Kupffer é um sinal chave orquestrando a inflamação antibacteriana tipo 1 e o reparo hepático mediado pelo tipo 2 após a infecção (BLÉRIOT *et al.*, 2015).

2.7 Atravessamento da barreira placentária

Nas infecções materno-fetais, a infecção placentária por *L. monocytogenes* não resulta apenas de bacteremia, que pode ser favorecida pela imunossupressão associada à gravidez, mas também é consequência de um tropismo específico da bactéria pela placenta (CHARLIER *et al.*, 2017). Enquanto cepas de *L. monocytogenes* que expressam um InlA truncado e não funcional são isoladas em até 42% dos isolados de origem alimentar, apenas uma pequena minoria (4,4%) das cepas clínicas expressam um InlA truncado. Esta observação epidemiológica suporta fortemente um papel para InlA na listeriose humana. Além disso, a invasão de *L. monocytogenes* em explantes placentários humanos no terceiro trimestre é dependente de InlA, consistente com o fato de que as células placentárias situadas na interface materno-fetal e banhadas em sangue materno, o sinciciotrofoblasto e citotrofoblastos, são de origem epitelial e expressam, portanto, o receptor InlA Ecad (LECUIT *et al.*, 2004). A invasão do explante placentário humano por *L. monocytogenes* também é dependente de InlB. A InlB está situado a jusante de InlA no operon InlAB e é uma proteína de superfície que medeia a entrada em uma ampla variedade de células cultivadas (DRAMSI *et al.*, 1995) após interação com seu receptor ubiquamente expresso chamado cMet, um receptor do fator de crescimento de hepatócitos (SHEN *et al.*, 2000). Dessa forma, InlA e InlB atuam de maneira conjugada para a invasão de *L. monocytogenes* na placenta (DISSON *et al.*, 2008).

2.8 *Listeria monocytogenes* em ambientes agrícolas e em animais

A atividade humana tem um impacto significativo na prevalência e na biodiversidade de *L. monocytogenes* no solo e em ambientes aquáticos (DECLAN *et al.*, 2020; RASCHLE *et al.*, 2021). O escoamento de campos agrícolas pode contaminar as fontes de água próximas, que servem como reservatórios e transferem *L. monocytogenes* para outros ambientes, como pisciculturas. A fertilização de campos agrícolas com estrume não tratado também é uma fonte de contaminação. Em fazendas de gado, o chorume ou estrume sólido é frequentemente espalhado em campos ou nas proximidades que posteriormente são utilizados para o cultivo de alimentos forrageiros (NICHOLSON; GROVES; CHAMBERS, 2005) *L. monocytogenes* pode sobreviver por mais de 6 meses no lodo armazenado e persistir por meses em solos agrícolas (LOCATELLI *et al.*, 2013; WELSHIMER, 1960). Além da aplicação de resíduos animais no solo, muitos países permitem a aplicação do lodo de esgoto municipal e

biossólidos em terras agrícolas seguindo graus variáveis de tratamento (GHOLIPOUR *et al.*, 2020). *L. monocytogenes* pode sobreviver à digestão anaeróbica do lixo municipal e à regeneração após a aplicação no solo (GERBA, C. P.; PEPPER; WHITEHEAD, 2002). Outras fontes de contaminação por *L. monocytogenes* em campos agrícolas incluem águas de irrigação, animais silvestres, equipamentos usados para trabalhar nos campos e as superfícies utilizadas para a distribuição das rações dos animais.

Nos animais, o transporte persistente ou temporário de *L. monocytogenes* já foi documentado em mamíferos, aves, peixes, moluscos, anfíbios, répteis e insetos (IIDA *et al.*, 1991; LI *et al.*, 2018; SKOVGAARD; MORGEN, 1988; WEBER *et al.*, 1993; ZAYTSEVA; ERMOLAEVA; SOMOV, 2007).

A ocorrência de *L. monocytogenes* em animais silvestres representa um risco à segurança alimentar, pois as matérias-primas derivadas de animais estão suscetíveis à contaminação impactando diretamente as indústrias de alimentos (ROTHROCK *et al.*, 2017). Os subtipos hipervirulentos de *L. monocytogenes* são comuns em animais ruminantes e animais silvestres. Além disso, aves, roedores e outros animais silvestres podem acelerar a circulação deste patógeno entre aterros, campos agrícolas e armazéns de alimentos e rações, facilitando sua entrada na cadeia de produção de alimentos.

Estudos demonstram que o gado possui uma alta prevalência fecal de *L. monocytogenes*, variando de 6 a 25%. A contaminação fecal do ambiente predispõe as vacas à reinfecção e à persistência de *L. monocytogenes* em fazendas leiteiras (NIGHTINGALE *et al.*, 2004), contribuindo para a contaminação dos equipamentos de ordenha e do próprio leite.

2.9 *Listeria monocytogenes* em plantas de processamento de alimentos

Considerando que a *L. monocytogenes* possui resistência a alta salinidade e baixo pH, é capaz de crescer em baixas temperaturas e possui habilidade de formar biofilmes (BUCUR *et al.*, 2018), elas se tornam destaque nas indústrias de alimentos, visto que estas características contribuem para a sua sobrevivência e persistência em ambientes de processamento de alimentos que, conseqüentemente, aumentam o risco de contaminação cruzada dos produtos alimentícios.

A contaminação cruzada é um dos principais fatores que culminam em doenças de origem alimentar, representando cerca de 91.7% dos casos registrados nos últimos anos (LONDERO *et al.*, 2019). A contaminação cruzada pode acontecer em qualquer estágio do

processamento de alimentos e é causada pela transferência de microrganismos de uma matriz contaminada, seja ela biótica ou abiótica, para um produto não-contaminado. Dada a capacidade de adesão e formação de biofilmes características de *L. monocytogenes*, equipamentos como máquinas de fatiar e triturar, tábuas de corte, facas, mesas, pisos e pias se tornam reservatório deste patógeno e foco de transferência para produtos alimentícios (FINN *et al.*, 2013; MØRETRØ, Trond *et al.*, 2013; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2008; RIPOLLES-AVILA *et al.*, 2018).

Diversos estudos já demonstraram que *L. monocytogenes* possui capacidade de se aderir em poliestireno, politetrafluoretileno, aço inoxidável e outros materiais utilizados nos equipamentos de processamento dos alimentos, como poliéster, borracha, vidro e teflon (BLACKMAN; FRANK, 1996; RIPOLLES-AVILA *et al.*, 2019). Dessa forma, a persistência de *L. monocytogenes* nestas superfícies está diretamente relacionada com potenciais mecanismos de resistência a agentes antimicrobianos, biocidas e calor (CLOETE, 2003).

A resistência de bactérias ligadas a biocidas tem sido associada principalmente à proteção mecânica devido à síntese da matriz de componentes extracelulares e aos nutrientes circundantes, ou a fatores fisiológicos intrínsecos, como a adaptação das células do biofilme e estresses como a falta de nutrientes e estresse oxidativo (PAN; BREIDT; KATHARIOU, 2006).

A resistência de *L. monocytogenes* também pode ser genotípica, neste caso, autores já caracterizaram bombas de efluxo que conferem resistências ao quaternário de amônio, por exemplo (MØRETRØ, T.; LANGSRUD, 2004). O quaternário de amônio é um composto amplamente utilizado em superfícies de contato com alimentos ou sem contato com alimentos em virtude de sua natureza não corrosiva e sua eficácia contra uma variedade de bactérias (GERBA, Charles P., 2015; TOMPKIN, 2002).

Além da aquisição de mecanismos de resistência por *L. monocytogenes*, a existência de nichos ou reservatórios nos ambientes não alcançados pelos desinfetantes, a formação de biofilmes e a criação de microambientes protegidos, podem estar associados a doses subinibitórias dos desinfetantes que conseqüentemente culminam na persistência de certas cepas (MØRETRØ, T.; LANGSRUD, 2004).

2.10 *Listeria monocytogenes* nos alimentos

Dada a presença onipresente de *L. monocytogenes* em ambientes agrícolas, nos animais e no processamento de alimentos, não é surpreendente encontrar este patógeno em uma ampla variedade de alimentos.

A *L. monocytogenes* pode ser encontrada em alimentos crus (carnes e vegetais) ou não processados ou em alimentos contaminados após o processamento, como queijos e frios. Leite ou alimentos não pasteurizados também podem abrigar esse patógeno, dessa forma, é importante realizar a pasteurização ou cozimento para eliminar a bactéria. Entretanto, em alimentos prontos para comer (RTEs), a contaminação pode ocorrer após o cozimento e antes do empacotamento. Os alimentos RTEs que suportam o crescimento de *L. monocytogenes*, ou seja, que não foram submetidos à pasteurização ou tratamento equivalente, devem ter um prazo de validade suficientemente curto que não apresente ameaça à saúde do consumidor. Na União Europeia, os fabricantes de alimentos devem demonstrar taxas de *L. monocytogenes* inferiores a 100 UFC/g no prazo final de validade do produto (CE Nº 2073, 2015). Se a possibilidade de crescimento acima de 100 UFC/g durante o prazo de validade dos produtos não pode ser eliminado, ou se o produto RTE se destina a grupos de consumidores em risco de listeriose, o produto deve estar livre de *L. monocytogenes*. Já nos Estados Unidos, a tolerância de *L. monocytogenes* aplicada a todos os produtos alimentícios RTE é zero (ARCHER, 2018).

Desde a década de 1980, vários surtos de listeriose foram relatados em todo o mundo. Vários destes surtos são multinacionais, refletindo a rápida globalização, avanços nos métodos de digitação e maior compartilhamento de dados e cooperação entre as autoridades de saúde pública de diferentes países (DESAI *et al.*, 2019; PETTENGILL *et al.*, 2020). Uma grande parcela dos surtos de listeriose é atribuída aos produtos lácteos. Sendo que entre estes, os queijos são os veículos mais comuns de listeriose (Tabela 2).

Tabela 2. Exemplos de surtos de listeriose ao redor do mundo atribuídos a diferentes alimentos nos últimos dez anos (2013-2023).

Ano(s)	País	Tipo de alimento	Número de caso(s)	Número de óbito(s)	Referência
2013	Estados Unidos	Queijo latino	9	1	(JACKSON <i>et al.</i> , 2018)
2013	Estados Unidos	Queijo latino	8	1	(JACKSON <i>et al.</i> , 2018)
2013	Estados Unidos	Queijo curado macio	6	1	(JACKSON <i>et al.</i> , 2018)
2013	Estados Unidos	Queijo	6	1	(CDC, 2013)
2014	Estados Unidos	Queijo latino	3	1	(JACKSON <i>et al.</i> , 2018)
2014	Estados Unidos	Laticínios	8	1	(CDC, 2014)
2014	Estados Unidos	Queijo	5	1	(CDC, 2014a)
2014	Estados Unidos	Leite não pasteurizado	2	1	(NICHOLS <i>et al.</i> , 2020)
2015	Estados Unidos	Queijo macio	30	3	(CDC, 2015)
2015	Estados Unidos	Sorvete	10	3	(CDC, 2015a)
2015-2016	Canadá	Achocolatado	34	4	(HANSON <i>et al.</i> , 2019)
2016	Estados Unidos	Leite cru	2	1	(CDC, 2016)
2017	USA	Queijo cru macio (Vulto Creamery)	8	2	(CDC, 2017)
2018-2020	Áustria	Queijo curado macio	34	10	(NÜESCH-INDERBINEN <i>et al.</i> , 2021)
2019	Estados Unidos	Fatias de carnes Deli e queijos	10	1	(CDC, 2019)
2021	Estados Unidos	Queijo Fresco	13	1	(CDC, 2021)
2023	Estados Unidos	Carnes Deli e queijos	16	1	(CDC, 2023)
2022	Estados Unidos	Queijo Brie e Camembert	6	0	(CDC, 2022)
2022	Estados Unidos	Sorvete	28	1	(CDC, 2022a)

2013-2014	Suécia	Charcutaria	51	0	(DAHL <i>et al.</i> , 2017)
2013-2014	Dinamarca	Charcutaria	41	17	(JENSEN <i>et al.</i> , 2016)
2013-2018	Alemanha	Produtos de carne	83	5	(LÜTH <i>et al.</i> , 2020)
2014-2019	Alemanha	Salsichas	39	3	(LACHMANN <i>et al.</i> , 2021)
2014-2019	Multinacional	Produtos de peixe	22	5	(MÄESAAR <i>et al.</i> , 2021)
2015-2016	Itália	Produtos de carne de porco	24	4	(DURANTI <i>et al.</i> , 2018)
2015-2017	Multinacional	Peixe defumado a frio	6	1	(SCHJØRRING <i>et al.</i> , 2017)
2016	Suíça	Patê de carne	7	0	(ALTHAUS <i>et al.</i> , 2017)
2016-2017	Reino Unido	Frango cozido	5	0	(MCLAUCHLIN <i>et al.</i> , 2020)
2017-2018	África do Sul	Produtos de carne polonesa	1060	216	(TCHATCHOUANG <i>et al.</i> , 2020)
2018	Áustria	Patê de fígado	32	0	(CABAL <i>et al.</i> , 2019)
2018	Estados Unidos	Produtos de carne de porco	4	0	(CDC, 2018)
2018	Estados Unidos	Presunto	4	1	(CDC, 2018a)
2018-2019	Alemanha	Salsicha de sangue	112	7	(HALBEDEL <i>et al.</i> , 2020)
2019	Estados Unidos	Ovos cozidos	8	1	(CDC, 2020)
2020	Estados Unidos	Carnes Deli	12	1	(CDC, 2021a)
2021	Estados Unidos	Produtos de frango totalmente cozidos congelados	3	1	(CDC, 2021b)
2014-2016	Estados Unidos	Maças carameladas	35	7	(ANGELO <i>et al.</i> , 2017)
2015-2016	Estados Unidos e Canadá	Salada de folhas verdes	33	1 (Estados Unidos)	(SELF <i>et al.</i> , 2019)

2021	Estados Unidos	Saladas embaladas Dole	18	3	(CDC, 2022b)
2021	Estados Unidos	Saladas embaladas Fresh Express	10	1	(CDC, 2022c)
2014	Estados Unidos	Broto de feijão	5	2	(CDC, 2015b)
2015-2018	União Europeia	Milho congelado	32	6	(EFSA, 2018)
2015-2018	Multinacional	Vegetais congelados	47	9	(EFSA <i>et al.</i> , 2018)
2016	Estados Unidos	Vegetais congelados	9	3	(CDC, 2016a)
2020	Estados Unidos	Cogumelo Enoki	36	4	(CDC, 2020a)
2023	Estados Unidos	Cogumelo Enoki	5	0	(CDC, 2023a)
2019	Estados Unidos	Fonte desconhecida	24	2	(CDC, 2019a)
2023	Estados Unidos	Fonte desconhecida	25 (Investigação ativa)	0	(CDC, 2023b)

Produtos destacados em laranja: laticínios; Produtos destacados em azul: origem animal; Produtos destacados em roxo: frutas; Produtos destacados em verde: verduras; Produtos destacados em rosa: legumes e cogumelos; Produtos destacados em cinza: fonte desconhecida. Fonte: Elaborada pela autora.

2.11 Bacteriófagos

Os bacteriófagos, também chamados de fagos, são parasitas intracelulares obrigatórios de bactérias. Eles foram descobertos de forma independente em 1915 por Frederick Twort, na Inglaterra e em 1917 por Félix d'Hérelle, na França.

A fagoterapia foi amplamente utilizada na União Soviética em pacientes de qualquer idade sofrendo de um amplo espectro de doenças (ALEXANDROVA *et al.*, 1935; BERIDZE, 1938; ERMOLIEVA, 1939; LURIE, 1938; RODIGINA, 1938; RUCHKO; TRETYAK, 1936; TSULUKIDZE, 1938, 1941, 1940). Os resultados obtidos a partir desta iniciativa foram satisfatórios e publicados, entretanto, muitas destas publicações não atingiram o mundo ocidental pois estavam escritas em russo. Quando alguns destes resultados foram traduzidos e divulgados entre cientistas de língua inglesa, eles foram vistos com ceticismo, pois a maioria

dos ensaios clínicos realizados não seguiam os padrões internacionais. A fagoterapia continuou a ser amplamente utilizada na Rússia e na Europa Oriental. Entretanto, a crescente disponibilidade de medicamentos antimicrobianos seguros e eficazes após a Segunda Guerra Mundial contribuiu para a baixa utilização dos bacteriófagos (CHANISHVILI, 2012).

Os antibióticos estão entre as intervenções terapêuticas mais bem-sucedidas da história da medicina, entretanto as resistências antimicrobianas associadas ao seu uso se tornaram um problema de saúde pública. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, aproximadamente 700.000 pessoas morrem anualmente por conta de resistência antimicrobiana e a projeção é que esses números subam rapidamente nos próximos anos (WHO, 2019).

O aumento na resistência a antibióticos em *Listeria* está em consonância com o modelo global de aumento da prevalência de resistência a antibióticos. Há relatos recorrentes de patógenos que são resistentes a quase todos os antibióticos existentes. Um estudo examinou 65 amostras de leite e derivados e os ensaios de antibiograma revelaram alta resistência de *L. monocytogenes* à sulfametoxazol, trimetoprima, eritromicina, cefotetana e oxitetraciclina (KAYODE; OKOH, 2022). Outro estudo demonstrou a alta frequência de cepas de *L. monocytogenes* resistentes à clindamicina isoladas de alimentos e em ambientes de processamento de alimentos (WIŚNIEWSKI *et al.*, 2022).

Dessa forma, o crescente número de bactérias multirresistentes, a proibição total do uso de antibióticos na alimentação animal na União Europeia, bem como a proibição parcial nos Estados Unidos, e declínio no desenvolvimento de novos agentes antibacterianos, levaram os cientistas a reconsiderarem o uso dos bacteriófagos e ampliarem as pesquisas nessa área (DHEMAN *et al.*, 2021; SNEERINGER, 2015; WHO, 2020a). A utilização dos bacteriófagos abrange diversas áreas, incluindo saúde humana e animal (ELOIS *et al.*, 2023).

2.12 Biologia dos bacteriófagos

Os bacteriófagos são organismos onipresentes no ambiente, sendo encontrados em oceanos, solos, em ambientes extremos caracterizados por temperaturas muito baixas ou muito altas e até mesmo no intestino humano (DION; OECHSLIN; MOINEAU, 2020).

Os fagos incluem vírus com DNA de fita dupla (dsDNA), DNA de fita simples (ssDNA), DNA de fita simples RNA (ssRNA) e RNA de fita dupla (dsRNA). A maioria dos fagos (cerca de 96%) possuem cauda. Os fagos que não possuem cauda são denominados como “cúbicos”, filamentosos ou pleomórficos (menos de 4%). O termo “cúbico” denota simetria cúbica em forma icosaédrica, sendo que alguns tipos contêm lipídios em envelopes ou constituintes internos (Tabela 3). Os fagos filamentosos ou pleomórficos são invariavelmente sensíveis ao éter e ao clorofórmio (ACKERMANN, 2009).

Tabela 3. Classificação dos bacteriófagos baseada em morfologia e material genético.

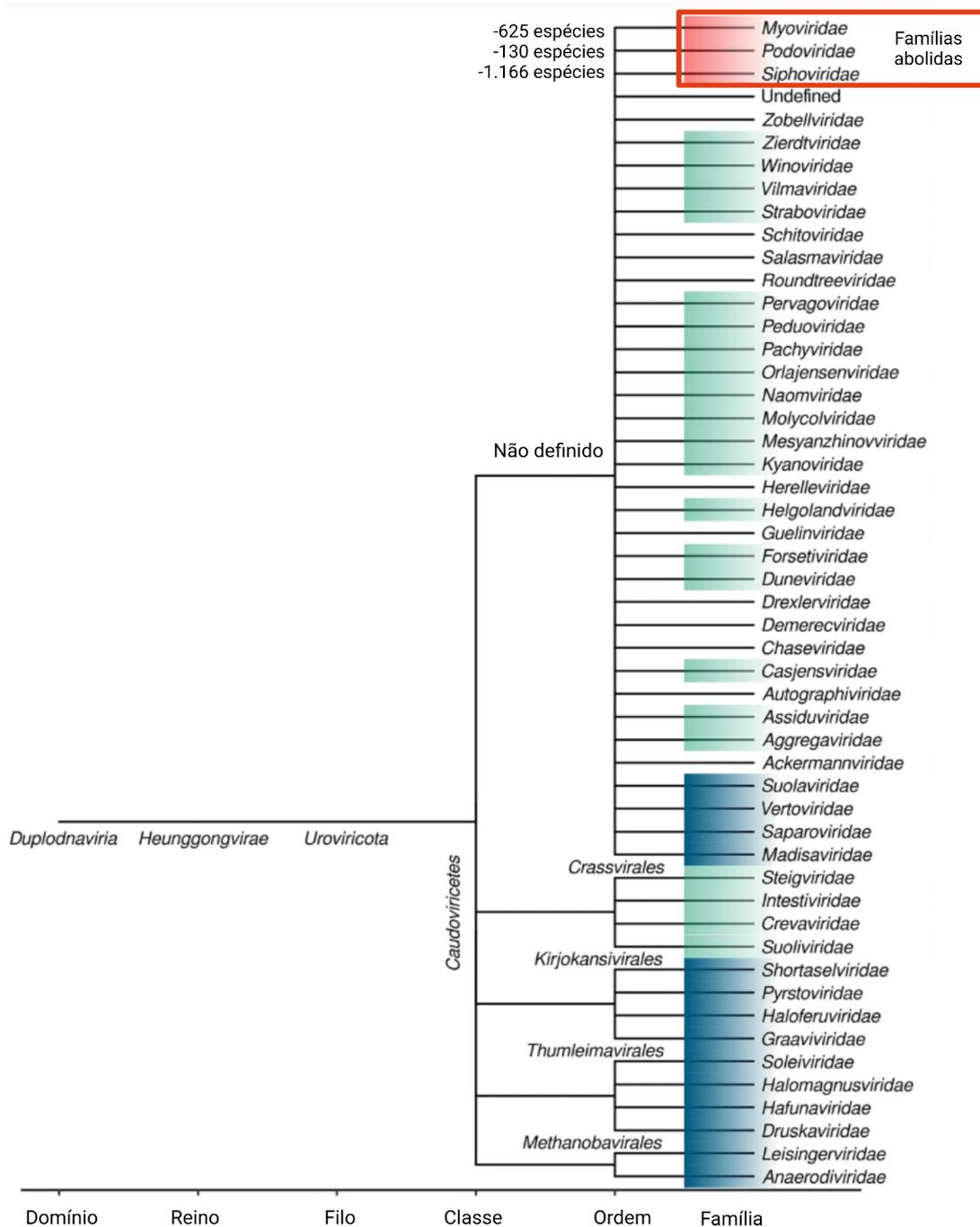
Formato	Ácido Nucleico	Família	Características
Com cauda	dsDNA (L)	<i>Myoviridae</i>	Cauda contrátil
		<i>Siphoviridae</i>	Cauda longa e não contrátil
		<i>Podoviridae</i>	Cauda curta
Poliédrico	ssDNA (C)	<i>Microviridae</i>	Capsômeros conspícuos
	dsDNA (C, S)	<i>Corticoviridae</i>	Capsídeo complexo, Lipídios
	dsDNA (L)	<i>Tectiviridae</i>	Capsídeo duplo, Lipídios, Pseudo cauda
	dsDNA (L)	SH1 *	Capsídeo duplo, Lipídios
	dsDNA (C)	STIV *	Saliências em forma de torre
	ssRNA (L)	<i>Leviviridae</i>	Semelhante ao poliovírus
	dsRNA (L, M)	<i>Cystoviridae</i>	Envelope, Lipídios
Filamentosos	ssDNA (C)	<i>Inoviridae</i>	Filamentos longos, hastes curtas

	dsDNA (L)	<i>Lipothrixviridae</i>	Envelope, Lipídios
	dsDNA (L)	<i>Rudiviridae</i>	Hastes rígidas, Tipo TMV
Pleomórfico	dsDNA (C, S)	<i>Plasmaviridae</i>	Envelope, Sem capsídeo, Lipídios
	dsDNA (C, S)	<i>Fuselloviridae</i>	Em forma de limão, envelope, Lipídios
	dsDNA (L, S)	—	Em forma de limão, envelope
	dsDNA (C, S)	<i>Guttaviridae</i>	Em forma de gota
	dsDNA (L)	<i>Ampullaviridae</i> *	Em forma de garrafa, Nucleocapsídeo helicoidal
	dsDNA (C)	<i>Bicaudaviridae</i> *	Duas caudas, Ciclo de desenvolvimento, Nucleocapsídeo helicoidal
	dsDNA (L)	<i>Globuloviridae</i> *	Envelope, esférico, Lipídios, Nucleocapsídeo helicoidal

C, circular; L, linear; M, multipartido; S, superenrolado; —, sem nome; *, não classificado; SH1, vírus *Haloarcula hispanica*; STIV, Vírus icosaédrico com torreta *Sulfolobus*; TMV, Vírus do mosaico do tabaco nativo. Fonte: Adaptado de Ackermann, 2009.

Recentemente as famílias *Myoviridae*, *Podoviridae* e *Siphoviridae* foram abolidas visto que avaliações independentes dessas famílias baseadas na morfologia são polifiléticas e não refletem com precisão histórias evolutivas compartilhadas. Ao mesmo tempo, é reconhecida a importância de identificadores morfológicos (não taxonômicos) como "miovírus", "podovírus" e "sifovírus". Portanto, estes termos podem ser usados livremente para refletir características distintivas e manter sua referência histórica, no entanto, eles não possuem significado taxonômico formal. Além disso, a ordem *Caudovirales* foi substituída pela classe *Caudoviricetes* para agrupar todos os vírus bacterianos e de arqueias com caudas, com capsídeos icosaédricos e com dupla fita de DNA (Figura 3) (TURNER *et al.*, 2023).

Figura 3. Nova classificação dos fagos com cauda.

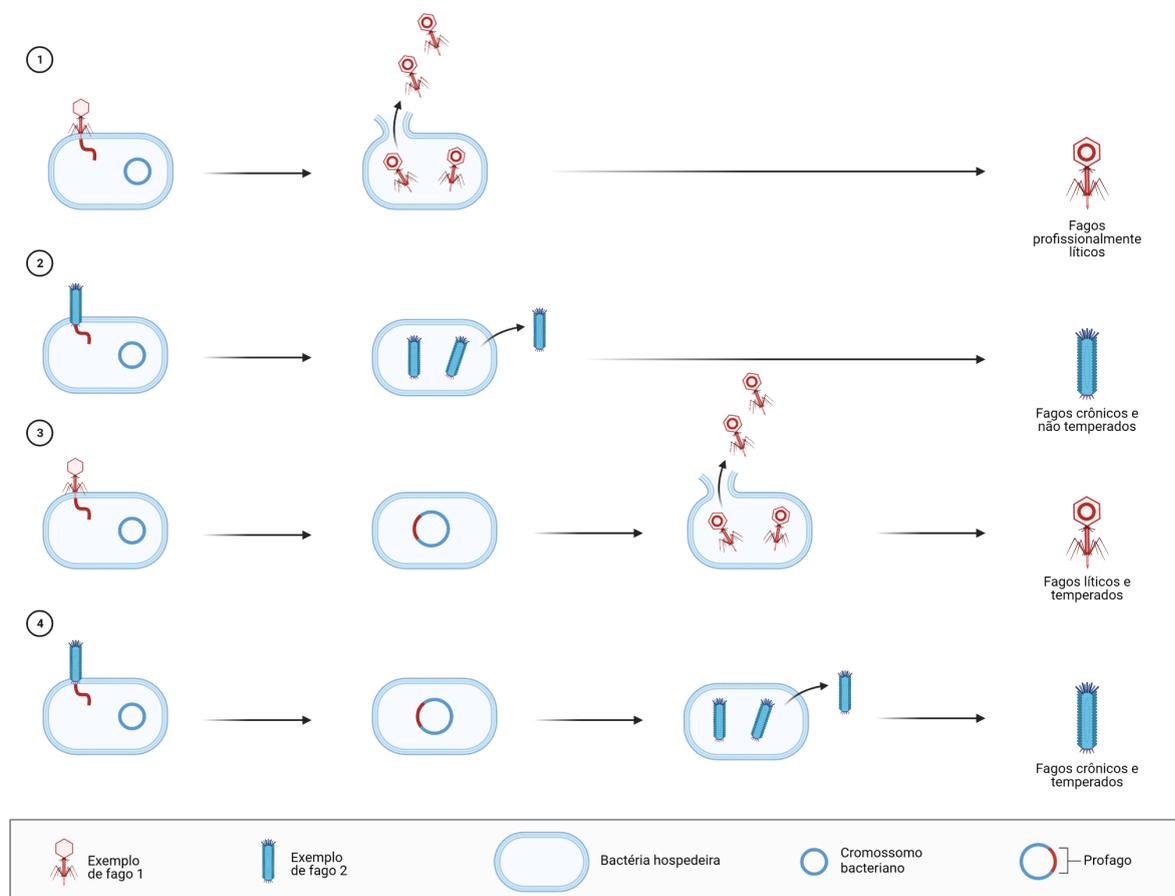


Fonte: Adaptado de Turner et al., 2023.

Em termos de caracterização dos ciclos de vida dos fagos, os fagos podem ser líticos, temperados ou crônicos. Os fagos líticos, através de um processo conhecido como adsorção, se ligam aos receptores específicos localizados na membrana celular de suas bactérias hospedeiras. Após a etapa de adsorção, os fagos injetam seu material genético (DNA ou RNA) no citoplasma bacteriano e iniciam o processo de transcrição e tradução das proteínas fágicas utilizando a maquinaria celular bacteriana para sua replicação. Quando os fagos estão completamente montados, eles induzem a lise celular do hospedeiro, liberando novos vírions responsáveis por infectar outras células bacterianas. Os fagos temperados, por sua vez, seguem as mesmas etapas de adsorção, injeção do material genético e montagem de novos fagos no genoma bacteriano. Entretanto, ao invés de lisar as células hospedeiras, os fagos temperados se integram no genoma bacteriano, formando uma estrutura chamada de profago que se replica com o cromossomo hospedeiro e é transferido verticalmente do cromossomo inicialmente infectado célula para sua progênie através da divisão celular. O ciclo lisogênico, ou seja, a replicação do fago como um profago que não resulta diretamente na produção ou liberação de vírions, pode fornecer imunidade contra uma infecção pelo mesmo tipo de fago. Além disso, condições de estresse, como luz ultravioleta, produtos químicos mutagênicos ou danos ao DNA podem induzir uma mudança para o ciclo lítico. Por fim, os fagos também podem ser crônicos e semelhante aos dois tipos de ciclos de vida apresentados anteriormente, fagos crônicos adsorvem à célula, inserem seu material genético no citoplasma e geram infecções produtivas nas quais os vírions são liberados em longos intervalos, entretanto, não há interrupção substancial das células hospedeiras (HOBBS; ABEDON, 2016).

Dentro dos ciclos de vida, os fagos podem ser i) líticos e não temperados, quando fagos líticos não exibem ciclos lisogênicos, ou ii) crônicos e não temperados, quando os fagos liberados cronicamente não exibem ciclos lisogênicos. As próximas duas estratégias de infecção e liberação de um fago incluem iii) fagos líticos e temperados, ou seja, fagos líticos que podem exibir ciclos lisogênicos, ou iv) fagos crônicos e temperados, ou seja, fagos liberados cronicamente que podem exibir ciclos lisogênicos (HOBBS; ABEDON, 2016) (Figura 4).

Figura 4. Caracterização dos ciclos de vida dos fagos.



1) Fagos que exibem ciclos produtivos e empacotamento do genoma em vírions maduros antes da liberação da progênie; 2) Fagos que exibem ciclos produtivos e empacotamento do genoma em vírions maduros durante a liberação da progênie; 3) Fagos que exibem ciclos produtivos ou formam profagos e realizam empacotamento do genoma em vírions maduros antes da liberação da progênie; 4) Fagos que exibem ciclos produtivos ou formam profagos e realizam empacotamento do genoma em vírions maduros durante a liberação da progênie. Fonte:

Adaptado de Hobbs & Abedon, 2016.

A aplicação dos fagos para controle bacteriano em ambiente ou em contextos terapêuticos deve explorar a utilização de fagos profissionalmente líticos visto que fagos que exibem ciclos lisogênicos podem atuar como portadores naturais de genes de resistência a antibióticos por meio do processo de transdução (CHEN *et al.*, 2022). A transdução é um mecanismo de transferência genética mediado por fagos com replicação independente. A aquisição de resistência antimicrobiana por transdução já foi observada em espécies bacterianas clinicamente relevantes, assim como no ambiente (BALCAZAR, 2014).

Os bacteriófagos podem ser utilizados como agentes terapêuticos para combater infecções bacterianas em humanos e animais. Há inúmeros estudos que relatam a aplicação bem-sucedida de bacteriófagos em animais, incluindo bovinos, suínos, ratos, coelhos, cachorros, gatos e cavalos. Nestes casos, os fagos foram utilizados sozinhos ou em coquetéis para tratar uma grande diversidade de infecções bacterianas como mastite (*Staphylococcus aureus*) (BREYNE *et al.*, 2017; NGASSAM-TCHAMBA *et al.*, 2020; TITZE; KRÖMKER, 2020), metrite (*Escherichia coli*) (SANTOS *et al.*, 2010), feridas crônicas (biofilmes multibacterianos) (MILHO *et al.*, 2019), infecção pulmonar, otite externa, infecções do trato urinário, queratite (*Pseudomonas aeruginosa*) (FUJIKI *et al.*, 2020; FURUSAWA *et al.*, 2016; HAWKINS *et al.*, 2010; WATERS *et al.*, 2017) e infecção sistêmica (*Acinetobacter baumannii*) (KIM *et al.*, 2020). Em humanos, há relatos de aplicações bem-sucedidas para tratar otites crônicas (WRIGHT *et al.*, 2009). Além disso, atualmente existem centros como o *Center for Innovative Phage Applications and Therapeutics* (IPATH), que tratam pacientes com infecções multirresistentes com risco de vida com terapia fágica por meio do programa de uso compassivo do FDA (*Food and Drug Administration*).

Os bacteriófagos também podem ser utilizados para o controle de patógenos em alimentos, superfícies e equipamentos e também para a detecção de bactérias. Vários estudos demonstram a eficácia de bacteriófagos em alimentos para o controle de bactérias de origem alimentar, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., e *Escherichia coli* (BAI *et al.*, 2016; MOYE; WOOLSTON; SULAKVELIDZE, 2018).

Atualmente, já existem diversos produtos contendo fagos aprovados pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e comercializados para o biocontrole de bactérias patogênicas. Para o controle de *Salmonella*, estão disponíveis formulações como SalmoFresh®, uma preparação com fagos específicos contra *Salmonella*, eficaz no tratamento de alimentos que apresentam alto risco de contaminação e capaz de matar os sorotipos mais comuns como Typhimurium, Enteritidis, Heidelberg, Newport, Hadar,

Kentucky, Thompson, Geórgia, Agona, Grampian, Senftenberg, Alachua, Infantil, Reading e Schwarzengrund (ZHANG *et al.*, 2019). Estudos já demonstraram a eficácia deste produto em frutas frescas, pepinos, frangos e costeletas de peito de peru (MAGNONE *et al.*, 2013; SHARMA *et al.*, 2017; SUKUMARAN *et al.*, 2016). Além deste, o produto SalmoFREE® também se encontra disponível e é um coquetel contendo seis fagos diferentes, eficaz contra *Salmonella* spp. (CLAVIJO *et al.*, 2019).

Visando o controle de *Escherichia coli*, há disponível no mercado EcoShield®, uma preparação de fagos eficaz contra *E. coli* e *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) (VIKRAM *et al.*, 2020). Além disso, existem formulações direcionadas à *Listeria*, como ListShield®, uma formulação de coquetel de fagos específica contra *Listeria monocytogenes* que pode ser aplicada a produtos frescos, laticínios, peixes e alimentos prontos para consumo (PERERA *et al.*, 2015). E Listex™, uma formulação de suspensão de fagos P100, também eficaz contra *Listeria monocytogenes*, para aplicação em carnes, peixes, frutos do mar, laticínios e outros alimentos prontos para consumo e também para instalações de fabricação de alimentos (EFSA, 2016; REINHARD *et al.*, 2023).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Prospectar bacteriófagos para controle de *Listeria* spp. na indústria de alimentos.

3.2 Objetivos específicos

- Isolar, propagar e identificar morfologicamente e molecularmente bacteriófagos capazes de infectar *Listeria* spp.;
- Identificar genes de resistência associados aos genomas dos fagos isolados;
- Selecionar bacteriófagos com atividade lítica contra *Listeria monocytogenes*;
- Controlar em superfícies a população de *Listeria monocytogenes* em superfícies de aço inox utilizando os bacteriófagos selecionados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. *Listeria* spp. e condições de cultivo

As bactérias do gênero *Listeria* utilizadas neste trabalho foram isoladas de indústrias frigoríficas e identificadas por meio da ISO 11290-1, PCR, *serotyping* ou oriundas do banco *American Type Culture Collection* (ATCC) (Tabela 4). Tais bactérias foram cedidas pela empresa Neopropecta Microbiome Technologies Inc., Florianópolis, Brasil, parceira do presente trabalho por meio do Mestrado Acadêmico para Inovação (MAI/CNPq), segundo Termo de Cooperação Técnica N° 23080.026100/2021-51, coordenado pela Professora Dra. Gislaine Fongaro da Universidade Federal de Santa Catarina.

As bactérias foram cultivadas e propagadas em 25 mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion, Kasvi) incubadas em estufa a 37 °C, por 16 horas, até atingir densidade ótica (DO) $600\text{nm} = 0,6$ a $0,9$.

Tabela 4. Bactérias do gênero *Listeria* usadas no isolamento de bacteriófagos e seu local de obtenção/isolamento.

Identificação espécie, subespécie e sorotipo	Local/Etapa de Isolamento
<i>Listeria monocytogenes</i> Ivb-v1	Carne bovina refrigerada
<i>Listeria monocytogenes</i> IIc	Ambiente de processamento (mesa)
<i>Listeria welshimeri</i>	Carcaça bovina
<i>Listeria innocua</i> 6a (1)	Carne bovina refrigerada
<i>Listeria innocua</i> 6a (2)	Faca
<i>Listeria innocua</i> 6a (3)	Carcaça bovina
<i>Listeria innocua</i> 6b	Carne bovina refrigerada
<i>Listeria seeligeri</i>	Carne bovina refrigerada
<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	Linguiça suína defumada
<i>Listeria monocytogenes</i> (2)	Asa de frango
<i>Listeria monocytogenes</i> (3)	ATCC 19111
<i>Listeria innocua</i>	ATCC 33090

Fonte: Elaborada pela autora.

4.2 Bioprospecção de bacteriófagos

4.2.1 Proveniência das amostras

Para a bioprospecção dos bacteriófagos foram utilizadas amostras de ostras provenientes do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM/UFSC), esgotos urbanos e hospitalares provenientes do estado de Santa Catarina, fezes de galinhas crioulas do Oeste de Santa Catarina, coletas de superfícies da linha de produção frigorífica (coletadas em esponjas), peles de frango provenientes de indústrias de alimentos, camas de aviário provenientes da pecuária do Sul do país, bem como bacteriófagos depositados no biobanco do Laboratório de Virologia Aplicada (LVA/UFSC).

4.2.2 Indução de infecção *in vitro* dos bacteriófagos

Para indução da infecção bacteriana por bacteriófagos presentes nas amostras ambientais, foi aplicado em uma placa de petri contendo 10 mL de meio BHI sólido (*bottom agar*), 1 mL de meio semissólido aquecido 0,7% (*top agar*), 1 mL da cultura de bactéria em fase exponencial de crescimento (DO 600nm= 0,6 a 0,9) e 1 mL da amostra (que possivelmente contém os fagos). As placas foram incubadas em estufa a 37 °C, de 12 a 16 horas para formação das placas de lises (ADAMS, 1959; KROPINSKI *et al.*, 2009).

4.2.3 Isolamento dos bacteriófagos

Para o isolamento dos bacteriófagos a partir das placas com lise, utilizou-se uma ponteira estéril para coleta das áreas de replicação viral. A área de replicação viral coletada foi transferida para um frasco Erlenmeyer contendo 25 mL de caldo BHI e 1 mL da cultura de bactéria em fase exponencial de crescimento (DO 600nm= 0,6 a 0,9). A mistura foi incubada em estufa a 37 °C por 16 horas para propagação dos fagos isolados. Posteriormente, centrifugou-se os tubos a $10.000 \times g$ por 5 minutos a 4 °C para decantação das células bacterianas. O sobrenadante foi filtrado em filtros de acetato de celulose com poros de 0,22 μm para obtenção de partículas virais purificadas e estas foram armazenadas a 4 °C.

Foram realizadas três passagens sucessivas, a fim de obter aumento da concentração de fagos. Posteriormente, os fluidos virais foram estocados na presença de meio de cultura BHI durante dois meses em temperatura entre 5 e 10 °C, a fim de avaliar a sua estabilidade e

infeciosidade (ADAMS, 1959; ANDREWS-PFANNKUCH *et al.*, 2010; HUNGARO *et al.*, 2013).

4.2.4 Titulação dos fagos e determinação da virulência

A determinação do título viral foi realizada por meio da contagem de Unidades Formadoras de Placas (UFPs) através da equação 1:

$$\text{Unidades Formadoras de Placas} = \frac{\text{Número de Placas Contabilizadas} \times \text{Recíproca da Diluição}}{\text{Volume}} \quad (1)$$

4.3 Caracterização por microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Para a caracterização morfológica dos fagos foi utilizado o microscópio eletrônico de transmissão (JEM-1011 TEM [TEM 100 kV]), através da parceria entre o Laboratório de Virologia Aplicada (LVA/UFSC) e o Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME/UFSC).

As suspensões de bacteriófagos propagadas e isoladas foram filtradas em filtros de acetato de celulose com poros de 0,22 μm para remoção das bactérias hospedeiras. Adicionou-se 10 μL da suspensão viral na superfície de uma grade (*grid*) de cobre de 200 malhas (*meshes*) revestidas com carbono. Após 24 horas, adicionou-se uma gota de acetato de uranila a 2% na superfície da grade por 15 segundos. Após o período estabelecido, o excesso de acetato de uranila foi retirado com papel absorvente comum e a grade foi submetida à secagem em temperatura ambiente por, no mínimo, 20 minutos (GREGORACCI, 2006).

4.4 Extração do material genético dos fagos e sequenciamento genômico

As suspensões de bacteriófagos propagadas e isoladas foram filtradas em filtros de acetato de celulose com poros de 0,22 para remoção das bactérias hospedeiras.

As amostras foram submetidas a um pré-tratamento enzimático para degradação do genoma bacteriano remanescente. Neste tratamento, foi utilizado 1 U/ μL de DNase I (Sigma-Aldrich), seguido do bloqueio das atividades enzimáticas utilizando inibidor de DNase/RNase (Sigma-Aldrich) e temperatura de 65 °C por 15 minutos.

A extração do material genético viral foi realizada usando kit comercial PureLink Viral RNA/DNA (Life Technologies). Resumidamente, para preparação do lisado, foram adicionados, para 200 μL de cada amostra, 25 μL de Proteinase K e 200 μL da solução de

tampão de lise com o RNA Carrier. Em seguida, os microtubos com os componentes citados foram vortexados e incubados em 56 °C por 15 minutos. Após o período de incubação, foram adicionados 250 µL de etanol 96-100% às amostras, as mesmas foram vortexadas por 15 segundos novamente e incubadas por 5 minutos em temperatura ambiente.

As amostras lisadas foram transferidas para novos tubos contendo colunas de extração e submetidas à centrifugação a 6.800 x rpm por um minuto. O tubo coletor com o filtrado foi descartado no final deste processo. A coluna de extração foi lavada com 500 µL do tampão de lavagem e centrifugada a 6.800 x rpm por um minuto. Este passo foi repetido por 3 vezes. Após a última repetição, a coluna de extração foi transferida para um microtubo estéril, os ácidos nucleicos foram coletados e adicionou-se 40 µL de água nuclease free. O microtubo foi incubado por um minuto em temperatura ambiente para a eluição dos ácidos nucleicos. O microtubo com a coluna de extração foi centrifugado na velocidade máxima da centrífuga por um minuto. Em seguida, a coluna de extração foi descartada e o microtubo com os ácidos nucleicos eluídos foram armazenados a -80 °C.

4.5 Síntese de cDNA

Para síntese do cDNA dos possíveis bacteriófagos com genoma de RNA bioprospectados, utilizou-se o kit comercial M-MLV Reverse Transcriptase (Promega). Resumidamente, adicionou-se em microtubos livre de RNases, 5 µL da amostra, 1 µL de iniciadores (hexâmeros randômicos: 500 µg/mL) e 9 µL água livre de nucleases (qsp 15 µL). Os microtubos foram incubados a 70 °C por 5 minutos para a desnaturação do RNA/iniciador. Em seguida, os microtubos foram transferidos para o gelo, mantidos por, no mínimo 5 minutos, e centrifugados brevemente. Posteriormente, foram adicionados aos microtubos, 5 µL de M-MLV 5x tampão de reação, 2.5 µL de dNTP mix (10mM), 0.2 µL de inibidor de RNase, 1 µL de M-MLV RT (200 U/µL) e 1.3 µL de água livre de nucleases (qsp 25µL). Os microtubos foram brevemente centrifugados, incubados a 37°C por 60 minutos e incubados novamente a 70 °C por 10 minutos. O cDNA sintetizado foi armazenado a -20 °C.

Posteriormente, o cDNA foi sequenciado pelo método *paired-end* através da plataforma MiSeq (Illumina).

4.6 Montagem e anotação dos genomas

As montagens dos genomas foram realizadas a partir da plataforma online *Genome Detective* versão 2.52 (VILSKER *et al.*, 2019) para análises virais. Todas as sequências pertencentes a outros organismos foram excluídas das análises. A remoção dos adaptadores foi feita com Trimmomatic e a filtragem das sequências por qualidade com a ferramenta FastQC (ANDREWS, 2010; BOLGER; LOHSE; USADEL, 2014). A predição e anotação gênica foi feita por meio do programa Prokka Online Annotation.

A busca e identificação de genes de resistência associados aos fagos foi realizada por meio da ferramenta ResFinder (FLORENSA *et al.*, 2022).

4.7 Controle de *Listeria monocytogenes* em superfícies

Para fins de ensaios em superfícies, foram utilizados dois (2) corpos de prova de metal (aço inox) de 2 x 1 cm² como tratamento e um (1) corpo de prova de metal (aço inox) de 2 x 1 cm² como controle positivo. Dessa forma, foram utilizados três (3) corpos de prova em cada coleta para cinco fagos diferentes. Os corpos de prova foram contaminados artificialmente com *Listeria monocytogenes* e avaliados quanto à capacidade de controle bacteriano na presença dos bacteriófagos, aplicados por gotejamento, na área contaminada. O aço inox foi escolhido como material para execução deste experimento visto sua frequente utilização na indústria alimentícia devido à sua estabilidade físico-química e resistência à corrosão.

Antes da inoculação, os corpos de prova foram completamente limpos e esterilizados a 121 °C por 15 minutos. A albumina de soro bovino (BSA) foi usada como um contaminante natural de alimentos orgânicos para mimetizar a superfície de contato com alimentos contaminados com proteínas. Uma solução estoque de BSA (6 mg/mL) foi preparada com água destilada e esterilizada por filtração (0,22 µm de tamanho de poro). A escolha de usar o BSA foi baseada no protocolo EN 13697:2015 para a avaliação de desinfetantes químicos, que adota o BSA como uma forma de simular condições realistas tipicamente encontradas em uma instalação de processamento de alimentos (EN 13697:2015, 2015). 200 µL (3 mg/mL de concentração final de BSA) de solução de BSA foi transferida para a superfície estéril com a subsequente aplicação de 100 µL da suspensão microbiana (10⁷ UFC mL⁻¹) e 100 µL da suspensão fágica (10⁷ UFP mL⁻¹). Todas as superfícies de aço inox inoculadas foram mantidas

em temperatura ambiente por 12 horas, com coletas realizadas em 3, 6, 9 e 12 horas de experimento. Todos os testes foram feitos em duplicatas e repetidos três vezes.

4.9 Análises estatísticas

Para análise dos resultados de ensaio de inibição do crescimento bacteriano em meio líquido foi utilizado o teste Kruskal-Wallis e o teste de comparações múltiplas de Dunn, já para as análises do ensaio de controle de *Listeria monocytogenes* em superfícies foi realizado teste t, seguido da ANOVA (Análise de Variância) de duas vias (para comparações múltiplas). As análises foram realizadas pelo software GraphPad Prism 8.0. Considerou-se diferenças significativas de $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Bioprospecção de bacteriófagos

Foram isolados cento e oito (108) fagos provenientes de amostras ambientais, sendo treze (13) fagos provenientes do banco de fagos do Laboratório de Virologia Aplicada (dejetos suínos), quinze (15) fagos isolados de ostras, três (3) fagos isolados de camas de aviário, dois (2) fagos isolados do esgoto, seis (6) fagos isolados de peles de frango, quatro (4) fagos isolados de esgoto hospitalar, cinquenta e sete (57) fagos isolados de superfícies de processamento de alimentos e oito (8) fagos isolados de fezes de galinhas.

Após as sucessivas passagens realizadas a fim de isolamento e aumento do título viral, quarenta e quatro foram selecionados baseado na estabilidade (presença de placas de lise) e título viral ($>1E+7$). A nomenclatura dos fagos foi escolhida considerando o tipo de amostra do qual foram isolados. A sigla SM, que foi usada como identificador para alguns dos isolados, se refere à *Swine Manure* (dejeito suíno), em alusão às amostras das quais os vírus foram isolados. Os identificadores OY, CF, SU, PL e SE advêm dos termos *Oysters* (ostras), *Chicken Feces* (fezes de galinhas), *Surfaces* (superfícies), *Poultry Litter* (cama de aviário) e *Sewage* (esgoto), respectivamente, também em relação à origem da amostra de isolamento. Os números em ordem sequencial referem-se à sequência de fagos isolados pelo laboratório a partir dessas matrizes. A sigla LM refere-se à espécie *Listeria monocytogenes*, adicionada ao nome para possibilitar um identificador específico dos isolados (Tabela 5). Para a definição

dos nomes seguiu-se o guia informal sugerido por Adriaenssens e Brister (2017) (ADRIAENSSENS; RODNEY BRISTER, 2017).

Tabela 5. Resultados da bioprospecção e caracterização dos bacteriófagos.

Isolados	Fonte de Isolamento	Bactérias hospedeiras	Caracterização morfológica	Caracterização genômica
Isolado 2 (SULM1)	Superfícies	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 3 (SMLM10)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Não
Isolado 5 (OYLM1)	Ostras	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 6 (SMLM1)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 7 (OYLM4)	Ostras	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Não
Isolado 8 (CFLM2)	Fezes de galinhas	<i>L. seeligeri</i> <i>L. monocytogenes</i> llc <i>L. monocytogenes</i> ATCC <i>L. innocua</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 10 (SMLM2)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 11 (SMLM3)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 12 SMLM11	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i>	Sim	Não

		ATCC		
Isolado 13 (SMLM4)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 14 (SULM2)	Superfícies	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 15 (SULM3)	Superfícies	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Não
Isolado 19 (SULM4)	Superfícies	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 20 (SMLM5)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Não	Sim
Isolado 24 (SULM5)	Superfícies	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Não	Sim
Isolado 22 (SMLM9)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim
Isolado 26 (PLLM1)	Cama de aviário	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Não	Sim
Isolado 31 (SMLM7)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Não	Sim
Isolado 34 (SULM6)	Superfícies	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Não
Isolado 36 (SELM1)	Esgoto	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Não	Sim
Isolado 37 (SMLM8)	Dejetos de suínos	<i>L. innocua</i> 6b <i>L. innocua</i> 6a (1) <i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Sim	Sim

Isolado 39 (OYLM3)	Ostras	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Não	Sim
Isolado 42 (CFLM1)	Fezes de galinhas	<i>L. seeligeri</i> <i>L. monocytogenes</i> llc <i>L. monocytogenes</i> ATCC <i>L. innocua</i> ATCC	Não	Sim
Isolado 44 (SELM2)	Esgoto	<i>L. innocua</i> ATCC <i>L. monocytogenes</i> ATCC	Não	Sim

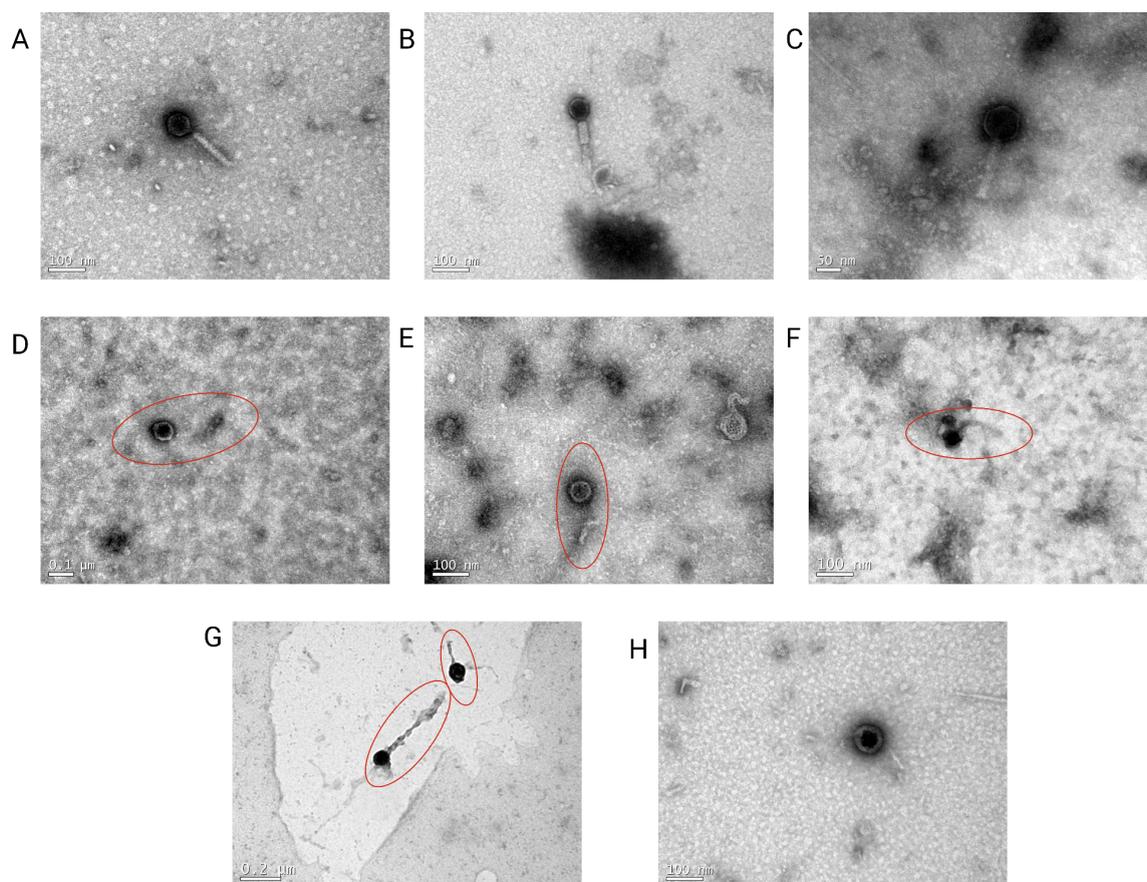
Fonte: Elaborada pela autora.

5.2 Microscopia eletrônica de transmissão

Abaixo são apresentadas as micrografias dos fagos obtidas por meio da microscopia eletrônica de transmissão. A Figura 5 apresenta fagos caracterizados por longas caudas, contráteis, relativamente rígidas e grossas e com dupla fita de DNA. Estes fagos eram anteriormente classificados dentro da família *Myoviridae*. A Figura 6 apresenta fagos anteriormente classificados dentro da família *Siphoviridae*, caracterizados pelas longas caudas não contráteis e dupla fita de DNA.

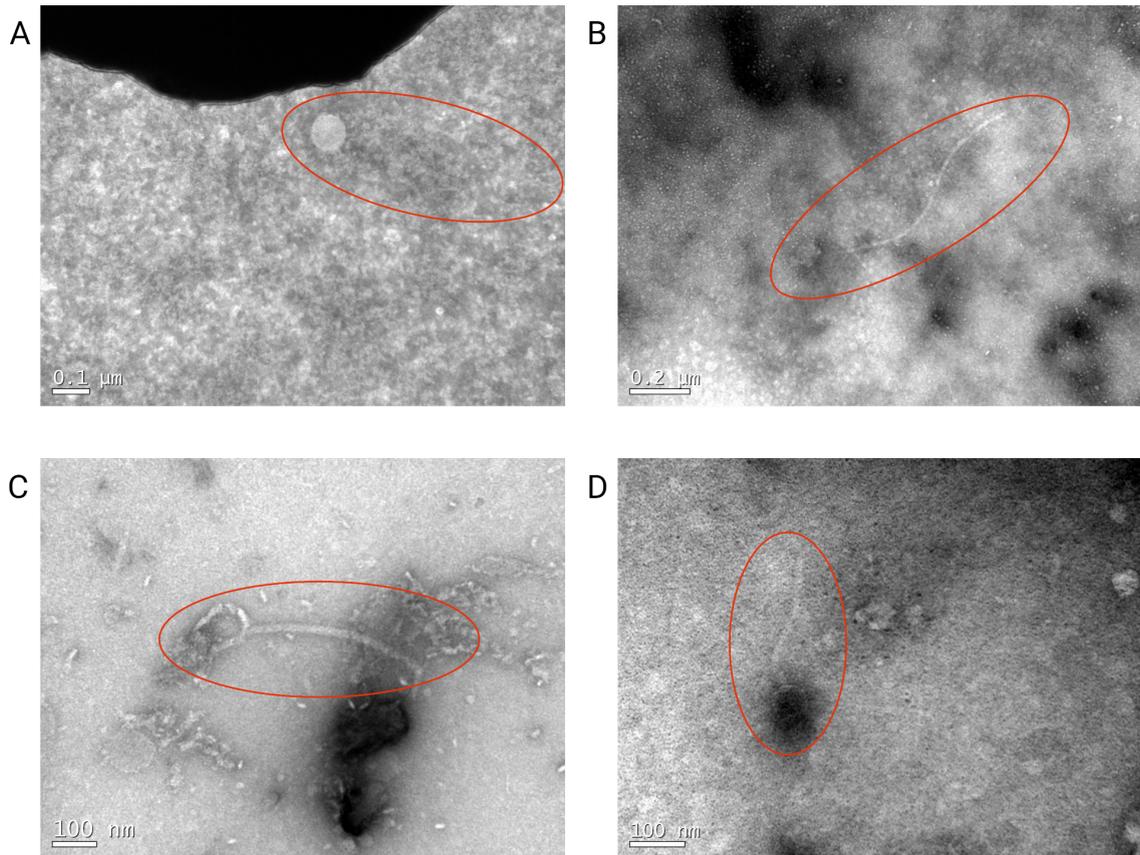
As Figuras 7A e 7B apresentam fagos pertencentes à família *Casjensviridae* cujas características se assemelham aos organismos representados pela família *Siphoviridae*. A Figura 7C apresenta o único fago prospectado representando a família *Microviridae* que se caracteriza pela ausência de cauda e fita simples de DNA. Por fim, a Figura 8 apresenta as micrografias de dois fagos não identificados morfológica e molecularmente. As imagens obtidas não foram suficientes para a classificação taxonômica destes três fagos. Concomitante a isso, as coberturas de sequenciamento obtidas para estes fagos foram muito baixas, inviabilizando a identificação.

Figura 5. Fagos anteriormente pertencentes à família *Myoviridae*.



Micrografias eletrônicas de transmissão de fagos de *L. monocytogenes* anteriormente pertencentes à família *Myoviridae* coradas com 2% de acetato de uranila. (A) Isolado 2; (B) Isolado 12; (C) Isolado 22; (D) Isolado 3; (E) Isolado 7; (F) Isolado 37; (G) Isolado 19 e (H) Isolado 8. Fonte: Elaborada pela autora.

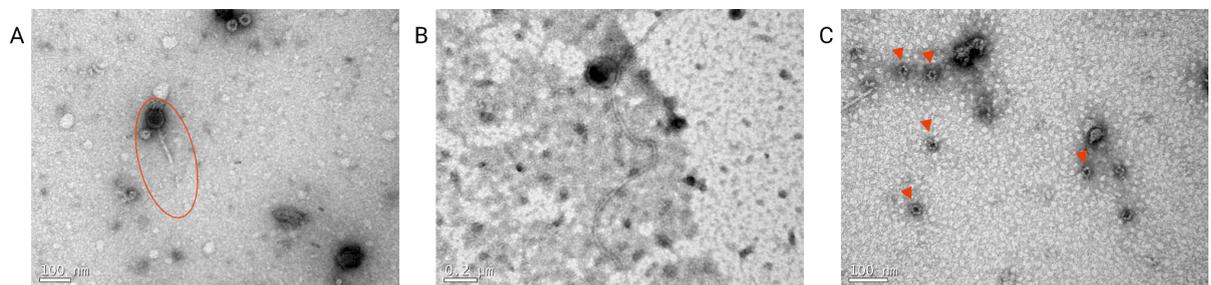
Figura 6. Fagos anteriormente pertencentes à família *Siphoviridae*.



Micrografias eletrônicas de transmissão de fagos de *L. monocytogenes* anteriormente pertencentes à família *Siphoviridae* coradas com 2% de acetato de uranila. (A) Isolado 14; (B) Isolado 1; (C) Isolado 5; (D) Isolado 6.

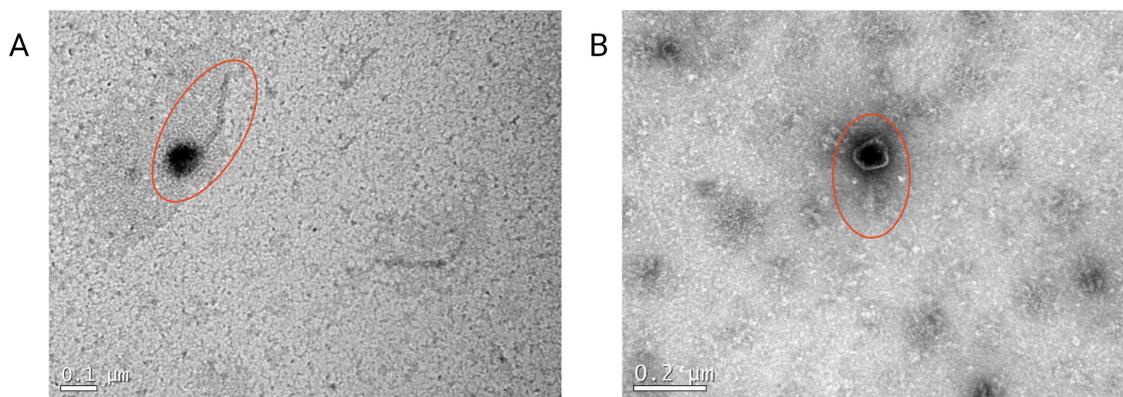
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 7. Fagos pertencentes à família *Casjensviridae* e *Microviridae*.



Micrografias eletrônicas de transmissão de fagos de *L. monocytogenes* pertencentes à família *Casjensviridae* e *Microviridae* coradas com 2% de acetato de uranila. (A) Isolado 10 pertencente à família *Casjensviridae*; (B) Isolado 13 pertencente à família *Casjensviridae*; (C) Isolado 11 pertencente à família *Microviridae*. Fonte:

Elaborada pela autora.

Figura 8. Fagos não classificados.

Micrografias eletrônicas de transmissão de fagos de *L. monocytogenes* não classificados coradas com 2% de acetato de uranila. (A) Isolado 15; (B) Isolado 34. Fonte: Elaborada pela autora.

5.3 Sequenciamento genômico dos fagos

Dos quarenta e quatro fagos enviados para sequenciamento, somente dezoito fagos foram analisados, tendo em vista a qualidade dos genomas obtidos. Os genomas dos fagos foram montados através da abordagem *de novo* por meio do software online *Genome Detective* versão 2.52. O software realiza a montagem e atribui classificação taxonômica aos genomas baseados na disponibilidade de genomas de referência no banco de dados RefSeq. O software gera resultados de similaridade baseados nos *contigs* em nível de nucleotídeos e aminoácidos, gerando uma pontuação total utilizada para o alinhamento (VILSKER *et al.*, 2019).

Os isolados 8 (CFLM2), 19 (SULM4), 36 (SELM1) e 37 (SMLM8) foram identificados como membros do gênero *Rosemountvirus*, pertencente à classe *Caudoviricetes*, com coberturas genômicas de 96,5%, 98,4%, 18,9% e 20,9%, respectivamente (Tabela 6). Os tamanhos dos genomas variaram de 52.437 a 54.894 pares de base (pb), em concordância com dados descritos na literatura que reportam tamanhos genômicos entre 52.648 e 52.936 pb (BOGOYAVLENSKIY *et al.*, 2022; CONG *et al.*, 2021). Além disso, a análise das micrografias dos isolados 8 (CFLM2), 19 (SULM4) e 37 (SMLM8) revelou uma estrutura de cabeça icosaédrica padrão e uma cauda contrátil características da classe *Caudoviricetes*.

Os fagos classificados dentro do gênero *Rosemountvirus* são capazes de infectar *Escherichia coli* e cepas de *Salmonella* e raramente são reportados na literatura (BOGOYAVLENSKIY *et al.*, 2022; CONG *et al.*, 2021; SUI *et al.*, 2021). Até o momento da escrita deste trabalho, não há registros de fagos pertencentes ao gênero *Rosemountvirus* capazes de infectar espécies de *Listeria*, sendo este o primeiro registro feito.

Outros dois isolados pertencentes à classe *Caudoviricetes* foram caracterizados, sendo estes, os isolados 2 (SULM1) e 22 (SMLM9), identificados como *Punavirus* RCS47 e *Shigella phage* SfIV, respectivamente. O genoma do isolado 2 possui um tamanho de 115.154 pb e a micrografia exibe uma estrutura com uma cabeça e cauda longa e contrátil. Essas características são congruentes com os dados encontrados na literatura para genomas de aproximadamente 100 kb e morfologias semelhantes. No entanto, a cobertura do genoma do isolado 2 é baixa, representando apenas 0,3% do genoma total. Portanto, é necessário ter cautela ao afirmar sua classificação e são necessárias novas análises para obter resultados mais precisos (Tabela 6).

Shigella phage SfIV, atribuído ao isolado 22, é um fago capaz de infectar *Shigella flexneri*, ele possui cabeça isométrica, cauda longa e contrátil e genoma com cerca de 39.758 pb (JAKHETIA; TALUKDER; VERMA, 2013). O sequenciamento cobriu 62.7% do genoma do isolado 22 e a micrografia revelou cabeça e cauda contrátil características da classe *Caudoviricetes*. Da mesma forma que os isolados citados anteriormente, os dois isolados, *Punavirus* RCS47 e *Shigella phage* SfIV, não foram, até o momento, descritos como capazes de infectar espécies de *Listeria*, sendo este o primeiro registro feito.

A maioria dos fagos de *Listeria* descritos na literatura pertencem à antiga família *Siphoviridae* (KLUMPP; LOESSNER, 2013). Neste trabalho, fagos caracterizados pelas caudas longas, não contráteis e finas, típicas da família *Siphoviridae*, foram identificados. Sendo eles, os isolados 5 (OYLM1), 6 (SMLM1), 14 (SULM2) e 39 (OYLM3) com baixas coberturas genômicas de 4.2%, 35.4%, 7.2% e 42.2%, respectivamente. Os isolados 6 e 14 foram identificados como *Listeria phage* vB_LmoS_188 e *Slepowronvirus* LP101, respectivamente e ambos são fagos descritos como capazes de infectar bactérias do gênero *Listeria*. A micrografia obtida do isolado 6 (SMLM1) revela sua cauda estriada transversalmente longa e flexível congruentes com o fago vB_LmoS_188 originalmente descrito. Entretanto, o fago vB_LmoS_188 apresenta uma cauda terminando com placas de base típicas de discos duplos que não foi observada no isolado 6. Além disso, o fago vB_LmoS_188 possui genes de cauda tardia altamente conservados que não foram identificados no genoma do isolado 6 (SMLM1) (CASEY *et al.*, 2015). Em relação ao isolado 14, além da baixa cobertura de genoma, não há micrografias disponíveis do fago *Slepowronvirus* LP101 a fim de comparações. Dessa forma, diante destes dados, novas análises de genomas, que possam prover mais informações e maior cobertura de genoma, são importantes para a identificações mais precisas dos isolados 6 (SMLM1) e 14 (SULM2) (Tabela 6).

O isolado 5 (OYLM1) foi identificado como *Celiavirus celia*, fago capaz de infectar bactérias do gênero *Streptomyces*. Enquanto o isolado e 39 (OYLM3) foi identificado como *Klebsiella phage* phiKO2, fago capaz de infectar *Klebsiella oxytoca* (CASJENS *et al.*, 2004; SCHOCH *et al.*, 2020a). Não há registros destes dois fagos infectando espécies do gênero *Listeria*, além disso, a baixa cobertura de genoma do isolado 5 (OYLM1) e a ausência de microscopia para o isolado 39 (OYLM3), sugerem novas e complementares análises, genéticas e morfológicas, para maior acuracidade na classificação destes isolados (Tabela 6).

Três isolados foram identificados como pertencentes a família *Casjensviridae*, sendo estes, os isolados 10 (SMLM2), 13 (SMLM4) e 20 (SMLM5). Os genomas desses isolados apresentaram uma ótima cobertura de 97,3%, 100% e 61,0%, respectivamente. Além disso, as micrografias obtidas dos isolados 10 e 13 revelam a cabeça icosaédrica e cauda não contrátil extremamente longa características da família *Casjensviridae* (Tabela 6). Os tamanhos dos genomas dos três isolados variaram de 58.536 a 58.546 pb, em concordância com dados descritos na literatura que reportam tamanhos genômicos de 59 kb. Conhecidos por infectar bactérias do gênero *Salmonella*, fagos pertencentes a essa família não foram, até o momento, caracterizados como capazes de infectar bactérias do gênero *Listeria* (JIANG *et al.*, 2022).

Os isolados 10 (SMLM2) e 20 (SMLM5) foram atribuídos ao gênero *Lavrentievavirus* pPM01, enquanto o isolado 13 foi atribuído ao gênero *Lavrentievavirus* E21. De acordo com dados da literatura, o gênero *Lavrentievavirus* é capaz de infectar *Proteus mirabilis* e *Escherichia coli*. Até o momento, não foram descritas bactérias pertencentes ao gênero *Listeria* como hospedeiras para esse gênero de fagos (SCHOCH *et al.*, 2020a).

Um dos relatos mais interessantes dentro deste trabalho é a caracterização do isolado 11 (SMLM3) pertencente à família *Microviridae* e gênero *Sinsheimervirus* phiX174. O isolado obteve uma cobertura de genoma de 71.2% (Tabela 6) com 5.386 pb. Fagos pertencentes à família *Microviridae* infectam enterobactérias, possuem simetria icosaédrica e um capsídeo com 12 pentâmeros pentagonais em forma de trombeta (Imagem 7C) (LU *et al.*, 2022).

Os isolados 31 (SMLM7), 42 (CFLM1) e 44 (SELM2) com coberturas genômicas de 70.1%, 80.7% e 64.1%, respectivamente, foram classificados dentro da família *Peduviridae*, gêneros *Reipivirus* ST16OXA48phi54 (31 e 44) e *Wadgaonvirus* (42) (Tabela 6). As informações sobre os genomas destes organismos são escassas, entretanto é possível afirmar que fagos pertencentes ao gênero *Reipivirus* infectam *Klebsiella pneumoniae* e *Wadgaonvirus* wv5004651 infectam *Escherichia coli*, com nenhum registro feito para bactérias do gênero *Listeria* (ICTV, 2021; SCHOCH *et al.*, 2020b).

Por fim, o isolado 26 (PLLM1) foi classificado dentro da família *Inoviridae* e gênero *Lineavirus* IKE com uma cobertura genômica de 96.6% (Tabela 6). Os relatos encontrados acerca deste gênero apresentam fagos capazes de infectar *Salmonella*. Fagos pertencentes à família *Inoviridae* são caracterizados como bastões de filamentos com capsídeo helicoidal com proteínas de adsorção em uma extremidade (PEETERS *et al.*, 1985; STASSEN *et al.*,

1992). Interessantemente, nenhum fago descrito para o gênero *Listeria*, até o momento, foi classificado na família *Inoviridae*.

Tabela 6. Características das sequências dos genomas dos fagos.

Isolados	No. de reads	Profundidade de cobertura	Identidade		Cobertura do genoma	Classificação	Melhor identificação	Concordância	Matches	Tamanho do genoma
			NT	AA						
Isolado 2 (SULM1)	4885	889.9	95.1%	92.3%	0.3%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Punavirus</i> RCS47	90.1%	100%	115154
Isolado 5 (OYLM1)	2051	88.3	69.8%	61.2%	4.2%	<i>Arquatrovirinae</i>	<i>Celiavirus celia</i>	40.1%	97.9%	50493
Isolado 6 (SMLM1)	2825	20.2	99.9%	99.3%	35.4%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Listeria phage</i> vB_LmoS_188	99.8%	100%	38392
Isolado 8 (CFLM2)	276768	494.2	99.8%	99.8%	96.5%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Rosemountvirus</i> UPFBP2	99.6%	99.9%	54894
Isolado 10 (SMLM2)	64752	145.3	99.0%	99.5%	97.3%	<i>Casjensviridae</i>	<i>Lavrentievavirus</i> pPM01	97.9%	99.9%	58546
Isolado 11 (SMLM3)	84	3.8	98.6%	96.6%	71.2%	<i>Microviridae</i>	<i>Sinsheimervirus</i> phiX174	97.5%	100%	5386
Isolado 13 (SMLM4)	418744	734.5	93.9%	94.3%	100%	<i>Casjensviridae</i>	<i>Lavrentievavirus</i> E21	87.9%	99.6%	58536
Isolado 14 (SULM2)	503	13.7	94.6%	97.1%	7.2%	<i>Trabyvirinae</i>	<i>Slepowronvirus</i> LP101	89.2%	99.9%	43767
Isolado 19 (SULM4)	5361199	10231.4	91.7%	91.2%	98.4%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Rosemountvirus</i> BP63	83.8%	98.7%	52437
Isolado 20 (SMLM5)	236922	779.4	94.7%	96.8%	61.0%	<i>Casjensviridae</i>	<i>Lavrentievavirus</i> pPM01	89.3%	99.7%	58546
Isolado 22 (SMLM9)	7282	30.0	99.1%	99.2%	62.7%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Shigella phage</i>	98.1%	100%	39758

SfIV										
Isolado 26 (PLLM1)	3353	43.0	99.4%	99.4%	96.6%	<i>Inoviridae</i>	<i>Lineavirus</i> IKE	98.7%	99.9%	6883
Isolado 31 (SMLM7)	4121	14.4	99.7%	99.6%	70.1%	<i>Peduviridae</i>	<i>Reipivirus</i> ST16OXA48phi 54	99.3%	100%	38322
Isolado 36 (SELM1)	378	3.6	98.4%	98.4%	18.9%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Rosemountvirus</i> UPFBP2	96.8%	99.9%	54894
Isolado 37 (SMLM8)	477	4.1	96.5%	98.8%	20.9%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Rosemountvirus</i> BP63	97.0%	99.8%	52437
Isolado 39 (OYLM3)	19508	79.0	76.4%	81.0%	42.2%	<i>Caudoviricetes</i>	<i>Klebsiella</i> phage phiKO2	52.7%	99.2%	51601
Isolado 42 (CFLM1)	8097	26.8	99.6%	99.5%	80.7%	<i>Peduviridae</i>	<i>Wadgaonvirus</i> wv5004651	99.0%	99.9%	39179
Isolado 44 (SELM2)	13977	55.8	91.7%	93.7%	64.1%	<i>Peduviridae</i>	<i>Reipivirus</i> ST16OXA48phi 54	83.3%	99.9%	38322

Fonte: Elaborada pela autora.

5.4 Genes de resistência a antibióticos mediados por fagos

Como discutido anteriormente, os fagos temperados que exibem ciclos lisogênicos podem se integrar ao genoma bacteriano como profagos. Muitos profagos carregam genes de resistência a antibióticos que podem ser disseminados pelo processo de transdução. Visto que a lisogenia é difundida entre os fagos do gênero de *Listeria* e levando em consideração as preocupações relacionadas às resistências, esse trabalho se propôs a buscar possíveis genes de resistência a antibióticos associados aos genomas dos fagos isolados (KLUMPP; LOESSNER, 2013).

No presente estudo, o isolado 22 apresentou genes de resistência associado ao seu genoma. Dentre estes, um ou mais genes de resistência têm fenótipos desconhecidos que não foram apresentados na Tabela 7. As resistências antimicrobianas encontradas neste isolado pertencem à classe dos beta-lactâmicos que são caracterizados por um anel beta-lactâmico responsável pela inibição da parede celular bacteriana, entretanto, responsável também pela resistência bacteriana (ARRUDA *et al.*, 2019). Cabe salientar que os achados reportados aqui não se tratam do genoma bacteriano residual, uma vez que a ferramenta *Genome Detective* identificou, reuniu e classificou com precisão apenas genomas virais, todos os genomas possivelmente pertencentes a bactérias, fungos ou quaisquer outros organismos que não virais, foram excluídos das análises.

O gene *blaTEM*, identificado para todos os antimicrobianos resistentes associados ao isolado 22, é um dos principais genes envolvido na resistência aos beta-lactâmicos. Esse gene já foi identificado em muitas espécies de bactérias, incluindo *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae* e *Neisseria gonorrhoeae* (DECLAN *et al.*, 2020; MUHAMMAD *et al.*, 2014; RIBEIRO, 2023; ROCHA, 2015; TOLENTINO, 2009). Além da identificação em espécies bacterianas, diversos estudos já reportaram a presença do gene *blaTEM* em fagos em diferentes matrizes (BROWN-JAQUE *et al.*, 2018; CALERO-CÁCERES *et al.*, 2017; GÓMEZ-GÓMEZ *et al.*, 2019; LARRAÑAGA *et al.*, 2018).

Os isolados 26 e 31 também apresentaram genes de resistência a antimicrobianos pertencentes à classe dos beta-lactâmicos, sendo que destes dois, o isolado 31 possui um ou mais genes de resistência com fenótipos desconhecidos que não foram apresentados na Tabela 7. Para ambos os isolados, o gene *blaSHV* foi identificado e este também está envolvido na resistência aos beta-lactâmicos. O gene *blaSHV* já foi encontrado nas espécies *Klebsiella*

pneumoniae e *Serratia marcescens* (KNOTHE *et al.*, 1983; SHE; TEW; CHEW, 2015; TOLENTINO, 2009). Entretanto, não há relatos na literatura da identificação do gene *blaSHV* em espécies de *Listeria*, visto que SHV β -lactamases são predominantemente encontrados em bactérias gram-negativas (CANTU; HUANG; PALZKILL, 1996; HAMMOND *et al.*, 2005). Em relação a fagos, um estudo publicado em 2014 identificou o bacteriófago P1, isolado de uma cepa de *Escherichia coli*, carreando o gene β -lactamase de espectro estendido SHV-2. Além deste, outro grupo de pesquisadores também encontrou bacteriófagos abrigando o gene *blaSHV* em amostras de efluentes de quatro grandes centros médicos no Azerbaijão (BILLARD-POMARES *et al.*, 2014; MAHDAVI *et al.*, 2022). Até o momento, ambos os genes, *blaTEM* e *blaSHV*, não foram identificados em fagos de *Listeria*.

A descoberta de genes de resistência em fagos destaca a importância de considerar a resistência bacteriana ao projetar e desenvolver terapias baseadas em fagos. É essencial que as estratégias terapêuticas levem em conta a possibilidade de resistência e sejam projetadas para minimizá-la ou superá-la. Isso pode incluir a combinação de diferentes fagos ou o uso de abordagens terapêuticas complementares. Estudos adicionais e monitoramento são essenciais para entender melhor a prevalência, a diversidade e a disseminação dos genes de resistência em fagos. Além disso, é fundamental monitorar continuamente a presença e a evolução desses genes para avaliar o impacto na resistência bacteriana e adaptar as estratégias de controle e tratamento de acordo.

Tabela 7. Genes de resistência associados a bacteriófagos.

Isolado	Antimicrobiano	Background genético
Isolado 22 (SMLM9)		
	Ampicilina	<i>blaTEM-76</i> (<i>blaTEM-76_AF190694</i>), <i>blaTEM-1B</i> (<i>blaTEM-1B_AY458016</i>), <i>blaTEM-127</i> (<i>blaTEM-127_AY368236</i>), <i>blaTEM-143</i> (<i>blaTEM-143_DQ075245</i>), <i>blaTEM-213</i> (<i>blaTEM-213_LJEE02000034</i>), <i>blaTEM-128</i> (<i>blaTEM-128_AY368237</i>), <i>blaTEM-186</i> (<i>blaTEM-186_JN227084</i>), <i>blaTEM-106</i> (<i>blaTEM-106_AY101578</i>), <i>blaTEM-95</i> (<i>blaTEM-95_AJ308558</i>), <i>blaTEM-126</i> (<i>blaTEM-126_AY628199</i>)
	Cefalotina	<i>blaTEM-1B</i> (<i>blaTEM-1B_AY458016</i>), <i>blaTEM-127</i> (<i>blaTEM-127_AY368236</i>), <i>blaTEM-186</i> (<i>blaTEM-186_JN227084</i>), <i>blaTEM-95</i> (<i>blaTEM-95_AJ308558</i>), <i>blaTEM-128</i> (<i>blaTEM-128_AY368237</i>)
	Amoxicilina + ácido clavulânico	<i>blaTEM-76</i> (<i>blaTEM-76_AF190694</i>)
	Ticarcilina + ácido clavulânico	<i>blaTEM-76</i> (<i>blaTEM-76_AF190694</i>)
	Piperacilina	<i>blaTEM-76</i> (<i>blaTEM-76_AF190694</i>), <i>blaTEM-1B</i> (<i>blaTEM-1B_AY458016</i>), <i>blaTEM-127</i> (<i>blaTEM-127_AY368236</i>), <i>blaTEM-143</i> (<i>blaTEM-143_DQ075245</i>), <i>blaTEM-213</i> (<i>blaTEM-213_LJEE02000034</i>), <i>blaTEM-128</i> (<i>blaTEM-128_AY368237</i>), <i>blaTEM-186</i> (<i>blaTEM-186_JN227084</i>), <i>blaTEM-106</i> (<i>blaTEM-106_AY101578</i>), <i>blaTEM-95</i> (<i>blaTEM-95_AJ308558</i>), <i>blaTEM-126</i> (<i>blaTEM-126_AY628199</i>)
	Amoxicilina	<i>blaTEM-76</i> (<i>blaTEM-76_AF190694</i>), <i>blaTEM-1B</i> (<i>blaTEM-1B_AY458016</i>), <i>blaTEM-127</i> (<i>blaTEM-127_AY368236</i>), <i>blaTEM-143</i> (<i>blaTEM-143_DQ075245</i>), <i>blaTEM-213</i> (<i>blaTEM-213_LJEE02000034</i>), <i>blaTEM-128</i> (<i>blaTEM-128_AY368237</i>), <i>blaTEM-186</i> (<i>blaTEM-186_JN227084</i>), <i>blaTEM-106</i> (<i>blaTEM-106_AY101578</i>), <i>blaTEM-95</i> (<i>blaTEM-95_AJ308558</i>), <i>blaTEM-126</i> (<i>blaTEM-126_AY628199</i>)
	Cefepima	<i>blaTEM-213</i> (<i>blaTEM-213_LJEE02000034</i>), <i>blaTEM-143</i> (<i>blaTEM-143_DQ075245</i>), <i>blaTEM-106</i> (<i>blaTEM-106_AY101578</i>), <i>blaTEM-126</i> (<i>blaTEM-126_AY628199</i>)
	Piperacilina+tazobactam	<i>blaTEM-76</i> (<i>blaTEM-76_AF190694</i>)
	Ceftriaxona	<i>blaTEM-213</i> (<i>blaTEM-213_LJEE02000034</i>), <i>blaTEM-143</i> (<i>blaTEM-143_DQ075245</i>), <i>blaTEM-106</i> (<i>blaTEM-106_AY101578</i>), <i>blaTEM-126</i> (<i>blaTEM-126_AY628199</i>)
	Ceftazidima	<i>blaTEM-213</i> (<i>blaTEM-213_LJEE02000034</i>), <i>blaTEM-143</i> (<i>blaTEM-143_DQ075245</i>), <i>blaTEM-106</i> (<i>blaTEM-106_AY101578</i>), <i>blaTEM-126</i> (<i>blaTEM-126_AY628199</i>)
	Ticarcilina	<i>blaTEM-76</i> (<i>blaTEM-76_AF190694</i>), <i>blaTEM-1B</i>

	<i>(blaTEM-1B_AY458016), blaTEM-127 (blaTEM-127_AY368236), blaTEM-143 (blaTEM-143_DQ075245), blaTEM-213 (blaTEM-213_LJEE02000034), blaTEM-128 (blaTEM-128_AY368237), blaTEM-186 (blaTEM-186_JN227084), blaTEM-106 (blaTEM-106_AY101578), blaTEM-95 (blaTEM-95_AJ308558), blaTEM-126 (blaTEM-126_AY628199)</i>
Ampicilina + ácido clavulânico	<i>blaTEM-76 (blaTEM-76_AF190694)</i>
Cefotaxima	<i>blaTEM-213 (blaTEM-213_LJEE02000034), blaTEM-143 (blaTEM-143_DQ075245), blaTEM-106 (blaTEM-106_AY101578), blaTEM-126 (blaTEM-126_AY628199)</i>
Aztreonam	<i>blaTEM-213 (blaTEM-213_LJEE02000034), blaTEM-143 (blaTEM-143_DQ075245), blaTEM-106 (blaTEM-106_AY101578), blaTEM-126 (blaTEM-126_AY628199)</i>
Beta-lactâmico desconhecido	<i>blaTEM-105 (blaTEM-105_AF516720), blaTEM-220 (blaTEM-220_KM998962), blaTEM-176 (blaTEM-176_GU550123), blaTEM-148 (blaTEM-148_AM087454), blaTEM-215 (blaTEM-215_KP050492), blaTEM-70 (blaTEM-70_AF188199), blaTEM-208 (blaTEM-208_KC865667), blaTEM-166 (blaTEM-166_FJ197316)</i>

Isolado 26 (PLLM1)

Ampicilina	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Piperacilina	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Amoxicilina	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Cefepima	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Ceftriaxona	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Ceftazidima	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Ticarcilina	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Cefotaxima	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>
Aztreonam	<i>blaSHV-2 (blaSHV-2_AF148851)</i>

Isolado 31 (SMLM7)

Beta-lactâmico desconhecido	<i>blaSHV-187 (blaSHV-187_LN515533)</i>
-----------------------------	---

Fonte: Elaborada pela autora.

5.5 Controle de *Listeria monocytogenes* em superfícies

As condições das instalações de processamento de alimentos podem afetar a eficácia da inativação bacteriana pelos bacteriófagos. Neste estudo, o BSA foi utilizado para simular sujidades nas superfícies de aço inox inoculadas. Os dados referentes às coletas realizadas em 12 horas de experimento do isolado 5 e do isolado 34, bem como os dados referentes a coleta realizada em 3 horas de experimento para o isolado 24 não foram apresentadas, visto que não houve crescimento bacteriano no grupo controle.

O tratamento com bacteriófagos (10^7 UFC mL⁻¹) em amostras “sujas” alcançou uma alta eficiência com reduções variando de 0.005–1.273 logs UFC/mL para *L. monocytogenes*. Embora o teste t individualmente tenha apresentado significância estatística, o teste de comparação múltipla não apresentou. Isso pode estar relacionado com alguns fatores como o nível de significância mais alto em múltiplas comparações para controlar o erro tipo I, aplicação de métodos de correção, diferenças entre comparações individuais e comparações múltiplas, e por fim, o teste t pode detectar diferenças significativas com um tamanho de amostra menor, enquanto os testes de comparações múltiplas podem exigir um tamanho de amostra maior para identificar diferenças estatisticamente significativas entre todos os grupos. Apesar destes fatores, a interpretação dos resultados também é importante e requer conhecimento do contexto específico do estudo e dos objetivos da pesquisa. Dessa forma, embora os dados não tenham atingido uma diferença estatisticamente significativa, os resultados obtidos são totalmente relevantes do ponto de vista para aplicação dos bacteriófagos.

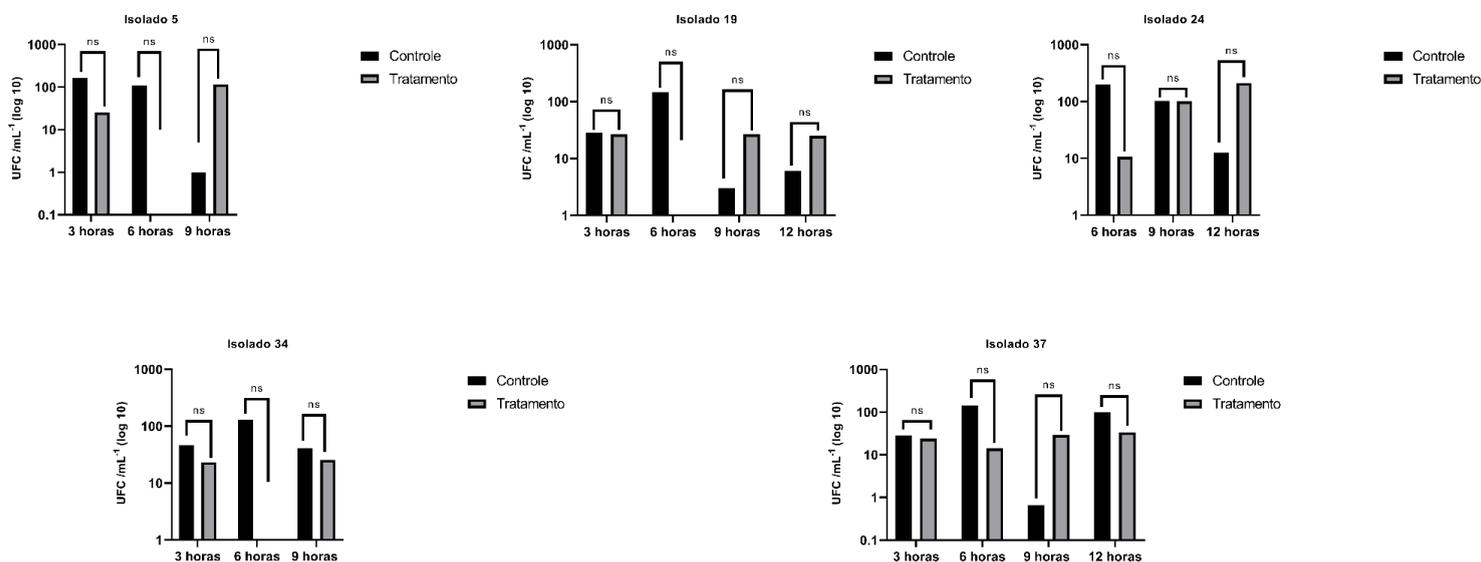
Em 6h de tratamento, foi possível observar a maior eficiência dos cinco bacteriófagos testados que foram capazes de alcançar reduções de 0.867–1.273 logs UFC/mL. O isolado mais promissor foi o 24 que resultou na inativação de 1.273 logs UFC/mL da bactéria (Figura 9). A maior eficiência dos bacteriófagos em 6h de tratamento pode estar associada a alta proliferação bacteriana e maior atividade metabólica e por consequência maior replicação dos fagos. Alguns estudos já demonstraram que a infecção por fagos pode ser influenciada quando as condições de crescimento celular são desfavoráveis. Aspectos da composição do meio, como força iônica (THOMPSON; YATES, 1999; WILLIAMS; BERG, 1992) e pH (BABICH; STOTZKY, 1980; CORAPCIOGLU; JIANG, 1993; ROSSI; ARAGNO, 2011) podem ser determinantes para o desempenho do fago. Outros estudos

também já demonstraram que a temperatura de crescimento celular influencia a infecção do fago (ŁOŚ *et al.*, 2007; SILLANKORVA *et al.*, 2004). No presente estudo, as condições para o crescimento bacteriano foram ideais, influenciando e potencializando as infecções por fagos.

Neste experimento, realizado em superfícies, foi possível observar menor atividade lítica dos bacteriófagos. Esse resultado pode estar relacionado com as condições empregadas no desenho experimental, que reduzem a motilidade bacteriana no encontro dos bacteriófagos, mas que também reforçam a importância de títulos virais elevados para aplicações ambientais. Congruente a isso, Montañez-Izquierdo *et al.* (2012) mostrou que concentrações mais altas de fagos foram mais eficazes no controle do biofilme de *L. monocytogenes* em superfícies de aço inoxidável (MONTAÑEZ-IZQUIERDO; SALAS-VÁZQUEZ; RODRÍGUEZ-JEREZ, 2012).

Além disso, outros estudos já observaram níveis de inativação de *L. monocytogenes* utilizando fagos como agentes de biocontrole, Arachchi *et al.* (2013) investigaram a eficácia de três bacteriófagos, individualmente ou como um coquetel na lise de três cepas de *L. monocytogenes* aderidas em aço inoxidável com caldo de peixe, aço inoxidável limpo, em biofilme de 7 dias e em células de biofilme. Os três fagos foram eficazes no controle de *L. monocytogenes* em todas as superfícies (1.5–7,5 log₁₀ UFC/cm²), individualmente ou como um coquetel (GANEGAMA ARACHCHI *et al.*, 2013).

Figura 9. Contagem de colônias de *Listeria monocytogenes* após aplicação dos bacteriófagos em superfícies de aço inox com BSA.



Redução da contagem de colônias de *L. monocytogenes* nas superfícies de aço inox com BSA pela ação dos bacteriófagos 5, 19, 24, 34 e 37 (quantificadas com o uso do meio BHI). ns: não significativo. Fonte: Elaborada pela autora.

Entrou em vigor no Brasil, a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC 331/2019 junto a Instrução Normativa – IN 60/2019, que dispõe as novas diretrizes dos parâmetros microbiológicos e revoga a RDC 12/2001 (IN 60, 2019; RDC 12, 2001; RDC 331, 2019). Dentre as novas alterações, está listado o novo padrão microbiológico de *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para consumo. Essas legislações estabelecem que os alimentos caracterizados como alimentos RTE devem cumprir com os padrões microbiológicos para *L. monocytogenes* ao longo de sua vida útil, não excedendo 10^2 mL por grama. Já a regulação europeia, estabelece que os valores de *Listeria monocytogenes* não excedam 100 UFC/g ao longo do prazo de validade.

Os resultados apresentados neste experimento evidenciam uma redução significativa na contagem bacteriana. Após o tratamento com o isolado 5, foi observada somente 14 UFC/mL de *Listeria monocytogenes* enquanto no controle havia 108 UFC/mL. O tratamento com o isolado 19 reduziu a contagem de 146 UFC/mL para 10 UFC/mL. Nos tratamentos com os isolados 24, 34 e 37, as contagens reduziram de 200, 131 e 143 UFC/mL para 10, 17 e 17 UFC/mL, respectivamente. Esses valores indicam que o tratamento foi eficaz na redução da contaminação e está em conformidade com os critérios microbiológicos estabelecidos pelas legislações brasileiras e europeias. Apesar das legislações se aplicarem a produtos RTE e não em superfícies, o tratamento de superfícies pode ser eficaz para a não contaminação dos alimentos. Além disso, a atividade dos fagos testada em superfícies pode também ser testada nos alimentos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo visou explorar o uso de bacteriófagos como uma abordagem biotecnológica para o controle de *L. monocytogenes*, um patógeno alimentar de preocupação nas indústrias de alimentos. Dos cento e oito (108) fagos bioprospectados, cinco (5, 19, 24, 34 e 37) foram capazes de inibir significativamente o crescimento de *L. monocytogenes* em superfícies de aço inoxidável. O estudo também identificou a presença de genes de resistência a beta-lactâmicos em alguns dos fagos isolados.

Os resultados encontrados neste estudo destacam que os bacteriófagos podem ser uma alternativa promissora para o controle de *L. monocytogenes*, entretanto, é importante considerar a possível disseminação de genes de resistência associados aos fagos bem como a capacidade lisogênica dos mesmos.

Os resultados incentivam o escalonamento dos testes em escala ampliada, em plantas de processamento de alimentos, considerando a alta aplicabilidade desta ferramenta para o controle biológico bacteriano e para evitar o recrescimento bacteriano e/ou bactérias resilientes.

7 PERSPECTIVAS DO ESTUDO

Os cinco isolados, 5 (OYLM1), 19 (SULM4), 24 (SULM5), 34 (SULM6) e 37 (SMLM8), serão submetidos a uma avaliação em escala ampliada em parceria com a Neoprospecta Microbiome Technologies Inc. Essa colaboração é uma continuação da parceria estabelecida (23080.026100/2021-51), que teve como objetivo a bioprospecção, a alta produção de fagos, a estabilidade e a aplicação desses fagos em plantas frigoríficas.

Com os testes em escala ampliada, serão realizadas avaliações mais abrangentes dos cinco isolados, levando em consideração a capacidade de produção dos fagos, a viabilidade em larga escala e sua aplicabilidade prática em ambientes de processamento de alimentos, como plantas frigoríficas. O objetivo final dessa parceria é o desenvolvimento de um produto comercial viável para o controle biológico de *Listeria* e outras bactérias de importância, contribuindo assim para a melhoria da segurança alimentar e ambiental.

8 REFERÊNCIAS

ACKERMANN, H. W. Phage classification and characterization. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 501, p. 127–140, 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-60327-164-6_13>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ADAMS, M. H. Bacteriophages. **Bacteriophages**, 1959.

ADRIAENSSENS, E. M.; RODNEY BRISTER, J. How to Name and Classify Your Phage: An Informal Guide. **Viruses**, v. 9, n. 4, 3 abr. 2017. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC5408676/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35408676/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ALEXANDROVA, M. B.; ZHIVAGO, N. L.; ALEKSEEVA, L. N.; ZEITLENOK, N. A. Phage therapy against dysentery. **J. Microbiol. Epidemiol. Immunol**, v. 1, p. 860–868, 1935.

ALTHAUS, D.; JERMINI, M.; GIANNINI, P.; MARTINETTI, G.; REINHOLZ, D.; NÜESCH-INDERBINEN, M.; LEHNER, A.; STEPHAN, R. Local Outbreak of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Sequence Type 6 Due to Contaminated Meat Pâté. **Foodborne pathogens and disease**, v. 14, n. 4, p. 219–222, 1 abr. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28379731/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ANAND, T.; VIRMANI, N.; KUMAR, S.; MOHANTY, A. K.; PAVULRAJ, S.; BERA, B. C.; VAID, R. K.; AHLAWAT, U.; TRIPATHI, B. N. Phage therapy for treatment of virulent *Klebsiella pneumoniae* infection in a mouse model. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 21, p. 34–41, 1 jun. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31604128/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ANDREWS, S. **Babraham Bioinformatics - FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data**. Disponível em: <<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ANDREWS-PFANNKOCH, C.; FADROSH, D. W.; THORPE, J.; WILLIAMSON, S. J. Hydroxyapatite-mediated separation of double-stranded DNA, single-stranded DNA, and RNA genomes from natural viral assemblages. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 15, p. 5039–5045, ago. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20543058/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ANGELO, K. M.; CONRAD, A. R.; SAUPE, A.; DRAGOO, H.; WEST, N.; SORENSON, A.; BARNES, A.; DOYLE, M.; BEAL, J.; JACKSON, K. A.; STROIKA, S.;

TARR, C.; KUCEROVA, Z.; LANCE, S.; GOULD, L. H.; WISE, M.; JACKSON, B. R. Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infections linked to whole apples used in commercially produced, prepackaged caramel apples: United States, 2014-2015. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 5, p. 848–856, 1 abr. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28065170/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ARCHER, D. L. The evolution of FDA's policy on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in the United States. **Current Opinion in Food Science**, v. 20, p. 64–68, 1 abr. 2018. . Acesso em: 8 jun. 2023.

ARRUDA, C. J. M. de A.; SIQUEIRA, V. F. de A.; SOUZA, F. J. M. de; SILVA, J. L. das N.; SANTOS, K. F. dos; CIPRIANO, D. Z. C.; DIAS, L. A. de S. D.; FARO, F. R. A. REVISÃO BIBLIOGRAFICA DE ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÂMICOS. 2019. Disponível em: <http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&id=47&I>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BABICH, H.; STOTZKY, G. Reductions in inactivation rates of bacteriophages by clay minerals in lake water. **Water Research**, v. 14, n. 2, p. 185–187, 1 jan. 1980. . Acesso em: 8 jun. 2023.

BAI, J.; KIM, Y. T.; RYU, S.; LEE, J. H. Biocontrol and rapid detection of food-borne pathogens using bacteriophages and endolysins. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. APR, p. 189888, 8 abr. 2016. . Acesso em: 11 jun. 2023.

BALCAZAR, J. L. Bacteriophages as vehicles for antibiotic resistance genes in the environment. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 7, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25078987/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BERIDZE, M. A. Role of Bacteriophage Therapy in Combating of Purulent Skin Infections. 1938.

BERKES, F.; DOUBLEDAY, N. C.; CUMMING, G. S. Aldo Leopold's land health from a resilience point of view: self-renewal capacity of social-ecological systems. **EcoHealth**, v. 9, n. 3, p. 278–287, set. 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22968329/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BESHEARSE, E.; BRUCE, B. B.; NANE, G. F.; COOKE, R. M.; ASPINALL, W.; HALD, T.; CRIM, S. M.; GRIFFIN, P. M.; FULLERTON, K. E.; COLLIER, S. A.; BENEDICT, K. M.; BEACH, M. J.; HALL, A. J.; HAVELAAR, A. H. Attribution of Illnesses Transmitted by Food and Water to Comprehensive Transmission Pathways Using

Structured Expert Judgment, United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 1, p. 182, 1 jan. 2021. Disponível em: <[pmc/articles/PMC7774530/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37774530/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BIDAISEE, S.; MACPHERSON, C. N. L. Zoonoses and One Health: A Review of the Literature. **Journal of Parasitology Research**, v. 2014, 2014. Disponível em: <[pmc/articles/PMC3928857/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3928857/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BILLARD-POMARES, T.; FOUTEAU, S.; JACQUET, M. E.; ROCHE, D.; BARBE, V.; CASTELLANOS, M.; BOUET, J. Y.; CRUVEILLER, S.; MÉDIGUE, C.; BLANCO, J.; CLERMONT, O.; DENAMUR, E.; BRANGER, C. Characterization of a P1-Like Bacteriophage Carrying an SHV-2 Extended-Spectrum β -Lactamase from an Escherichia coli Strain. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 11, p. 6550, 1 nov. 2014. Disponível em: <[pmc/articles/PMC4249366/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4249366/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BINTSIS, T. Foodborne pathogens. **AIMS Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 529, 2017. Disponível em: <[pmc/articles/PMC6604998/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6604998/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BLACKMAN, I. C.; FRANK, J. F. Growth of Listeria monocytogenes as a Biofilm on Various Food-Processing Surfaces. **Journal of food protection**, v. 59, n. 8, p. 827–831, 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31159129/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BLÉRIOT, C.; DUPUIS, T.; JOUVION, G.; EBERL, G.; DISSON, O.; LECUIT, M. Liver-resident macrophage necroptosis orchestrates type 1 microbicidal inflammation and type-2-mediated tissue repair during bacterial infection. **Immunity**, v. 42, n. 1, p. 145–158, 20 jan. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25577440/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BOGOYAVLENSKIY, A.; ALEXYUK, M.; ALEXYUK, P.; MOLDAKHANOV, Y.; BEREZIN, V. Draft genome sequences data of two Rosemountvirus phages isolated from soil near poultry farm. **Data in brief**, v. 43, 1 ago. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35928345/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 1 ago. 2014. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BONAZZI, M.; VEIGA, E.; PIZARRO-CERDÁ, J.; COSSART, P. Successive post-translational modifications of E-cadherin are required for InlA-mediated internalization of Listeria monocytogenes. 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1462-5822.2008.01200.x>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BREYNE, K.; HONAKER, R. W.; HOBBS, Z.; RICHTER, M.; ZACZEK, M.; SPANGLER, T.; STEENBRUGGE, J.; LU, R.; KINKHABWALA, A.; MARCHON, B.; MEYER, E.; MOKRES, L. Efficacy and Safety of a Bovine-Associated *Staphylococcus aureus* Phage Cocktail in a Murine Model of Mastitis. **Frontiers in microbiology**, v. 8, n. NOV, 28 nov. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29234314/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

BROWN-JAQUE, M.; OYARZUN, L. R.; CORNEJO-SÁNCHEZ, T.; MARTÍN-GÓMEZ, M. T.; GARTNER, S.; DE GRACIA, J.; ROVIRA, S.; ALVAREZ, A.; JOFRE, J.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. J.; MUNIESA, M. Detection of bacteriophage particles containing antibiotic resistance genes in the sputum of cystic fibrosis patients. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAY, p. 353252, 1 maio 2018. . Acesso em: 8 jun. 2023.

BUCHANAN, R. L.; GORRIS, L. G. M.; HAYMAN, M. M.; JACKSON, T. C.; WHITING, R. C. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, v. 75, p. 1–13, 1 maio 2017. . Acesso em: 8 jun. 2023.

BUCUR, F. I.; GRIGORE-GURGU, L.; CRAUWELS, P.; RIEDEL, C. U.; NICOLAU, A. I. Resistance of *Listeria monocytogenes* to Stress Conditions Encountered in Food and food processing environments. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. NOV, p. 417209, 13 nov. 2018. . Acesso em: 8 jun. 2023.

CABAL, A.; ALLERBERGER, F.; HUHULESCU, S.; KORNSCHÖBER, C.; SPRINGER, B.; SCHLAGENHAUFEN, C.; WASSERMANN-NEUHOLD, M.; FÖTSCHL, H.; PLESS, P.; KRAUSE, R.; LENNKH, A.; MURER, A.; RUPPITSCH, W.; PIETZKA, A. Listeriosis outbreak likely due to contaminated liver pâté consumed in a tavern, Austria, December 2018. **Eurosurveillance**, v. 24, n. 39, p. 1900274, 26 set. 2019. Disponível em: <<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.39.1900274>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CALERO-CÁCERES, W.; MÉNDEZ, J.; MARTÍN-DÍAZ, J.; MUNIESA, M. The occurrence of antibiotic resistance genes in a Mediterranean river and their persistence in the riverbed sediment. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 223, p. 384–394, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28126386/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CAMILI, A.; GOLDFINE, H.; PORTNOY, D. A. *Listeria monocytogenes* mutants lacking phosphatidylinositol-specific phospholipase C are avirulent. **The Journal of**

experimental medicine, v. 173, n. 3, p. 751–754, 1991. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1847723/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CANTU, C.; HUANG, W.; PALZKILL, T. Selection and characterization of amino acid substitutions at residues 237-240 of TEM-1 beta-lactamase with altered substrate specificity for aztreonam and ceftazidime. **The Journal of biological chemistry**, v. 271, n. 37, p. 22538–22545, 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8798421/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CASEY, A.; JORDAN, K.; NEVE, H.; COFFEY, A.; MCAULIFFE, O. A tail of two phages: Genomic and functional analysis of *Listeria monocytogenes* phages vB_LmoS_188 and vB_LmoS_293 reveal the receptor-binding proteins involved in host specificity. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. OCT, p. 163279, 9 out. 2015. . Acesso em: 8 jun. 2023.

CASJENS, S. R.; GILCREASE, E. B.; HUANG, W. M.; BUNNY, K. L.; PEDULLA, M. L.; FORD, M. E.; HOUTZ, J. M.; HATFULL, G. F.; HENDRIX, R. W. The pKO2 linear plasmid prophage of *Klebsiella oxytoca*. **Journal of bacteriology**, v. 186, n. 6, p. 1818–1832, mar. 2004. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14996813/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Crave Brothers Farmstead Cheeses** | **Listeria** | **CDC**. 2013. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Roos Foods Dairy Products** | **Listeria** | **CDC**. 2014. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-02-14/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Oasis Brands, Inc. Cheese Recalls and Investigation of Human Listeriosis Cases** | **Listeria** | **CDC**. 2014a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-10-14/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Soft Cheeses (Final Update)** | **Listeria** | **CDC**. 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/soft-cheeses-09-15/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Blue Bell Creameries Products** | **Listeria** | **CDC**. 2015a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-cream-03-15/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Wholesome Soy Products, Inc. Sprouts and Investigation of Human Listeriosis Cases. 2015b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/bean-sprouts-11-14/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Raw Milk Produced by Miller's Organic Farm in Pennsylvania | Listeria | CDC. 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/raw-milk-03-16/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Frozen Vegetables | Listeria | CDC. 2016a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/frozen-vegetables-05-16/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Soft Raw Milk Cheese Made by Vulto Creamery | Listeria | CDC. 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/soft-cheese-03-17/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Outbreak of Listeria Infections Linked to Pork Products | Outbreak of Listeria Infections Linked to Pork Products | November 2018 | Listeria | CDC. 2018. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/porkproducts-11-18/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Outbreak of Listeria Infections Linked to Deli Ham (Final Update) | Outbreak of Listeria Infections Linked to Deli Ham | October 2018 | Listeria | CDC. 2018a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/countryham-10-18/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Outbreak of Listeria Infections Linked to Deli-Sliced Meats and Cheeses | Outbreak of Listeria Infections Linked to Deli-Sliced Products | April 2019 | Listeria | CDC. 2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/deliproductions-04-19/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Outbreak of Listeria Infections | Multistate Outbreak of Listeria Monocytogenes Infections | August 2019 | Listeria | CDC. 2019a. Disponível em:

<<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/monocytogenes-08-19/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Outbreak of Listeria Infections Linked to Hard-boiled Eggs | Outbreak of Listeria Infections Linked to Hard-boiled Eggs | December 2019 | Listeria | CDC. 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/eggs-12-19/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Outbreak of Listeria Infections Linked to Enoki Mushrooms | Outbreak of Listeria Infections Linked to Enoki Mushrooms | March 2020 | Listeria | CDC. 2020a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/enoki-mushrooms-03-20/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Listeria Outbreak Linked to Hispanic-Style Fresh and Soft Cheeses | CDC. 2021. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/hispanic-soft-cheese-02-21/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Outbreak of Listeria Infections Linked to Deli Meats | CDC. 2021a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/delimeat-10-20/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Listeria Outbreak Linked to Fully Cooked Chicken | CDC. 2021b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/precooked-chicken-07-21/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Listeria Outbreak Linked to Brie and Camembert Cheese | CDC. 2022. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/monocytogenes-09-22/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Listeria Outbreak Linked to Ice Cream | CDC. 2022a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/monocytogenes-06-22/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. Listeria Outbreak Linked to Packaged Salads Produced by Dole | CDC. 2022b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/packaged-salad-mix-12-21/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Listeria Outbreak Linked to Packaged Salads Produced by Fresh Express** | CDC. 2022c. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/packaged-salad-12-21-b/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Listeria Outbreak Linked to Deli Meat and Cheese** | CDC. 2023. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/deli-11-22/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Listeria Outbreak Linked to Enoki Mushrooms** | CDC. 2023a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/enoki-11-22/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CDC. **Listeria Outbreak with Unknown Food Source** | CDC. 2023b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/monocytogenes-02-23/index.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CE N.º 2073. **EUR-Lex - 32005R2073 - EN - EUR-Lex**. 2015. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32005R2073>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CHANISHVILI, N. Phage Therapy—History from Twort and d’Herelle Through Soviet Experience to Current Approaches. **Advances in Virus Research**, v. 83, p. 3–40, 1 jan. 2012. . Acesso em: 8 jun. 2023.

CHARLIER, C.; PERRODEAU, É.; LECLERCQ, A.; CAZENAVE, B., et al. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 17, n. 5, p. 510–519, 1 maio 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28139432/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CHEN, Q.; DHARMARAJ, T.; CAI, P. C.; BURGNER, E. B.; HADDOCK, N. L.; SPAKOWITZ, A. J.; BOLLYKY, P. L. Bacteriophage and Bacterial Susceptibility, Resistance, and Tolerance to Antibiotics. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 7, 1 jul. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3918951/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CLAVIJO, V.; BAQUERO, D.; HERNANDEZ, S.; FARFAN, J. C.; ARIAS, J.; ARÉVALO, A.; DONADO-GODOY, P.; VIVES-FLORES, M. Phage cocktail SalmoFREE® reduces Salmonella on a commercial broiler farm. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 5054, 1 out. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32748741/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CLOETE, T. E. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 51, n. 4, p. 277–282, 1 jun. 2003. . Acesso em: 8 jun. 2023.

CONG, C.; BING DONG, W.; HUI JING, C.; YU YU, Y.; YONG PING, X.; LI LI, W.; SHU YING, L.; JI BIN, L.; MU, X.; XIAO YU, L. Genome analysis of Salmonella phage vB_SalM_8-19 (genus Rosemountvirus). **Archives of microbiology**, v. 203, n. 4, p. 1345–1356, 1 maio 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33386871/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CORAPCIOGLU, M. Y.; JIANG, S. Colloid-facilitated groundwater contaminant transport. **Water Resources Research**, v. 29, n. 7, p. 2215–2226, 1 jul. 1993. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1029/93WR00404>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

COSSART, P.; LECUIT, M. Interactions of *Listeria monocytogenes* with mammalian cells during entry and actin-based movement: bacterial factors, cellular ligands and signaling. **The EMBO journal**, v. 17, n. 14, p. 3797–3806, 15 jul. 1998. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9669997/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DAHL, V.; SUNDQVIST, L.; HEDENSTRÖM, I.; LÖFDAHL, M.; ALM, E.; RINGBERG, H.; LINDBLAD, M.; WALLENSTEN, A.; THISTED LAMBERTZ, S.; JERNBERG, C. A nationwide outbreak of listeriosis associated with cold-cuts, Sweden 2013-2014. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 7, n. 1, 1 jan. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35475333/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DANCZ, C. E.; HARAGA, A.; PORTNOY, D. A.; HIGGINS, D. E. Inducible control of virulence gene expression in *Listeria monocytogenes*: temporal requirement of listeriolysin O during intracellular infection. **Journal of bacteriology**, v. 184, n. 21, p. 5935–5945, nov. 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12374827/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DECLAN, C.; ID, I.; IFEANYI, A.; ID, O. Characterization of antibiogram fingerprints in *Listeria monocytogenes* recovered from irrigation water and agricultural soil samples. **PLOS ONE**, v. 15, n. 2, p. e0228956, 1 fev. 2020. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0228956>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DESAI, A. N.; ANYOHA, A.; MADOFF, L. C.; LASSMANN, B. Changing epidemiology of *Listeria monocytogenes* outbreaks, sporadic cases, and recalls globally: A review of ProMED reports from 1996 to 2018. **International journal of infectious diseases :**

IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases, v. 84, p. 48–53, 1 jul. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31051276/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DHEMAN, N.; MAHONEY, N.; COX, E. M.; FARLEY, J. J.; AMINI, T.; LANTHIER, M. L. An Analysis of Antibacterial Drug Development Trends in the United States, 1980–2019. **Clinical Infectious Diseases**, v. 73, n. 11, p. e4444–e4450, 6 dez. 2021. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa859>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DION, M. B.; OECHSLIN, F.; MOINEAU, S. Phage diversity, genomics and phylogeny. **Nature reviews. Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 125–138, 1 mar. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32015529/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DISSON, O.; GRAYO, S.; HUILLET, E.; NIKITAS, G.; LANGA-VIVES, F.; DUSSURGET, O.; RAGON, M.; LE MONNIER, A.; BABINET, C.; COSSART, P.; LECUIT, M. Conjugated action of two species-specific invasion proteins for fetoplacental listeriosis. **Nature**, v. 455, n. 7216, p. 1114–1118, 23 out. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18806773/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DRAMSI, S.; BISWAS, I.; MAGUIN, E.; BRAUN, L.; MASTROENI, P.; COSSART, P. Entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes requires expression of InIB, a surface protein of the internalin multigene family. **Molecular Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 251–261, 1995. . Acesso em: 8 jun. 2023.

DURANTI, A.; SABBATUCCI, M.; BLASI, G.; ACCIARI, V. A.; ANCORA, M.; BELLA, A.; BUSANI, L.; CENTORAME, P.; CAMMA, C.; CONTI, F.; DE MEDICI, D.; DI DOMENICO, M.; DI MARZIO, V.; FILIPPINI, G.; FIORE, A.; FISICHELLA, S.; GATTUSO, A.; GIANFRANCESCHI, M.; GRAZIANI, C.; GUIDI, F.; MARCACCI, M.; MARFOGLIA, C.; NERI, D.; ORSINI, M.; OTTAVIANI, D.; PETRUZZELLI, A.; PEZZOTTI, P.; RIZZO, C.; RUOLO, A.; SCAVIA, G.; SCUOTA, S.; TAGLIAVENTO, G.; TIBALDI, A.; TONUCCI, F.; TORRESI, M.; MIGLIORATI, G.; POMILIO, F. A severe outbreak of listeriosis in central Italy with a rare pulsotype associated with processed pork products. **Journal of medical microbiology**, v. 67, n. 9, p. 1351–1360, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30024370/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

EFSA. Evaluation of the safety and efficacy of Listex™ P100 for reduction of pathogens on different ready-to-eat (RTE) food products. **EFSA Journal**, v. 14, n. 8, 2016. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4565>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

EFSA. **Frozen corn likely source of ongoing *Listeria monocytogenes* outbreak** | EFSA. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/180322>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

EFSA; RICCI, A.; ALLENDE, A.; BOLTON, D.; CHEMALY, M.; DAVIES, R.; FERNÁNDEZ ESCÁMEZ, P. S.; GIRONES, R.; HERMAN, L.; KOUTSOUMANIS, K.; NØRRUNG, B.; ROBERTSON, L.; RU, G.; SANAA, M.; SIMMONS, M.; SKANDAMIS, P.; SNARY, E.; SPEYBROECK, N.; TER KUILE, B.; THRELFALL, J.; WAHLSTRÖM, H.; TAKKINEN, J.; WAGNER, M.; ARCELLA, D.; DA SILVA FELICIO, M. T.; GEORGIADIS, M.; MESSENS, W.; LINDQVIST, R. *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. **EFSA Journal**, v. 16, n. 1, p. e05134, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2018.5134>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ELOIS, M. A.; SILVA, R. da; PILATI, G. V. T.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; FONGARO, G. Bacteriophages as Biotechnological Tools. **Viruses**, v. 15, n. 2, 1 fev. 2023. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36851563/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

EN 13697:2015. BS EN 13697:2015. Chemical Disinfectants and Antiseptics. In Quantitative Non-Porous Surface Test for the Evaluation of Bactericidal and/or Fungicidal Activity of Chemical Disinfectants Used in food, Industrial, Domestic and Institutional Areas. **BSI Standards Publications**, 2015.

ERMOLIEVA, V. V. About bacteriophage and its application. **J. Microbiol. Epidemiol. Immunol**, v. 9, p. 9–17, 1939.

FINN, S.; CONDELL, O.; MCCLURE, P.; AMÉZQUITA, A.; FANNING, S. Mechanisms of survival, responses, and sources of salmonella in low-moisture environments. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. NOV, p. 63592, 14 nov. 2013. . Acesso em: 8 jun. 2023.

FLORENSA, A. F.; KAAS, R. S.; CLAUSEN, P. T. L. C.; AYTAN-AKTUG, D.; AARESTRUP, F. M. ResFinder – an open online resource for identification of antimicrobial resistance genes in next-generation sequencing data and prediction of phenotypes from genotypes. **Microbial Genomics**, v. 8, n. 1, 2022. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC8914360/](https://pmc/articles/PMC8914360/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

FUJIKI, J.; FURUSAWA, T.; MUNBY, M.; KAWAGUCHI, C.; MATSUDA, Y.; SHIOKURA, Y.; NAKAMURA, K.; NAKAMURA, T.; SASAKI, M.; USUI, M.; IWASAKI, T.; GONDAIRA, S.; HIGUCHI, H.; SAWA, H.; TAMURA, Y.; IWANO, H. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* veterinary isolates to Pbnavirus PB1-like phages. **Microbiology**

and immunology, v. 64, n. 11, p. 778–782, 1 nov. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32918505/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

FURUSAWA, T.; IWANO, H.; HIYASHIMIZU, Y.; MATSUBARA, K.; HIGUCHI, H.; NAGAHATA, H.; NIWA, H.; KATAYAMA, Y.; KINOSHITA, Y.; HAGIWARA, K.; IWASAKI, T.; TANJI, Y.; YOKOTA, H.; TAMURA, Y. Phage Therapy Is Effective in a Mouse Model of Bacterial Equine Keratitis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 17, p. 5332, 9 set. 2016. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4988198/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2988198/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GAILLARD, J. L.; BERCHE, P.; SANSONETTI, P. Transposon mutagenesis as a tool to study the role of hemolysin in the virulence of *Listeria monocytogenes*. **Infection and immunity**, v. 52, n. 1, p. 50–55, 1986. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3007363/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GAILLARD, J.-L.; BERCHE, P.; FREHEI, C.; GOUIN, E.; COSSARTT, P. Entry of *L. monocytogenes* into Cells Is Mediated by Internalin, a Repeat Protein Reminiscent of Surface Antigens from Gram-Positive Cocci. **Cell**, v. 65, p. 1127–1141, 1991. . Acesso em: 8 jun. 2023.

GANEGAMA ARACHCHI, G. J.; CRIDGE, A. G.; DIAS-WANIGASEKERA, B. M.; CRUZ, C. D.; MCINTYRE, L.; LIU, R.; FLINT, S. H.; MUTUKUMIRA, A. N. Effectiveness of phages in the decontamination of *Listeria monocytogenes* adhered to clean stainless steel, stainless steel coated with fish protein, and as a biofilm. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 40, n. 10, p. 1105–1116, out. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23907252/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GEDDE, M. M.; HIGGINS, D. E.; TILNEY, L. G.; PORTNOY, D. A. Role of Listeriolysin O in Cell-to-Cell Spread of *Listeria monocytogenes*. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 2, p. 999, fev. 2000. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC97240/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1097240/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GENG, H.; ZOU, W.; ZHANG, M.; XU, L.; LIU, F.; LI, X.; WANG, L.; XU, Y. Evaluation of phage therapy in the treatment of *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice. **Folia microbiologica**, v. 65, n. 2, p. 339–351, 1 abr. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31256341/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GERBA, C. P. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. **Applied and environmental microbiology**, v. 81, n. 2, p. 464–469, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25362069/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GERBA, C. P.; PEPPER, I. L.; WHITEHEAD, L. F. A risk assessment of emerging pathogens of concern in the land application of biosolids. **Water Science and Technology**, v. 46, n. 10, p. 225–230, 1 nov. 2002. . Acesso em: 8 jun. 2023.

GHAI, R. R.; WALLACE, R. M.; KILE, J. C.; SHOEMAKER, T. R.; VIEIRA, A. R.; NEGRON, M. E.; SHADOMY, S. V.; SINCLAIR, J. R.; GORYOKA, G. W.; SALYER, S. J.; BARTON BEHRAVESH, C. A generalizable one health framework for the control of zoonotic diseases. **Scientific Reports 2022 12:1**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 21 maio 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-022-12619-1>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GHOLIPOUR, S.; NIKAEEN, M.; FARHADKHANI, M.; NIKMANESH, B. Survey of *Listeria monocytogenes* contamination of various environmental samples and associated health risks. **Food Control**, v. 108, p. 106843, 1 fev. 2020. . Acesso em: 8 jun. 2023.

GÓMEZ-GÓMEZ, C.; BLANCO-PICAZO, P.; BROWN-JAQUE, M.; QUIRÓS, P.; RODRÍGUEZ-RUBIO, L.; CERDÀ-CUELLAR, M.; MUNIESA, M. Infectious phage particles packaging antibiotic resistance genes found in meat products and chicken feces. **Scientific Reports 2019 9:1**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 16 set. 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-019-49898-0>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GÓRSKI, A.; MIEDZYBRODZKI, R.; WEBER-DABROWSKA, B.; FORTUNA, W.; LETKIEWICZ, S.; ROGÓZ, P.; JOŃCZYK-MATYSIAK, E.; DABROWSKA, K.; MAJEWSKA, J.; BORYSOWSKI, J. Phage Therapy: Combating Infections with Potential for Evolving from Merely a Treatment for Complications to Targeting Diseases. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. SEP, p. 1515, 26 set. 2016. Disponível em: <<https://pmc/articles/PMC5035766/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GRAY, M. L.; KILLINGER, A. H. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. **Bacteriological Reviews**, v. 30, n. 2, p. 309, jun. 1966. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC440999/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GREGORACCI, G. B. Levantamento de bacteriófagos líticos: isolamento e caracterização de vírus provenientes de esgoto comum com potencial aplicação antimicrobiana. 17 fev. 2006. Disponível em: <http://acervus.unicamp.br/index.asp?codigo_sophia=371049>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GRUDLEWSKA-BUDA, K.; BAUZA-KASZEWSKA, J.; WIKTORCZYK-KAPISCHKE, N.; BUDZYŃSKA, A.; GOSPODAREK-KOMKOWSKA, E.; SKOWRON, K. Antibiotic Resistance in Selected Emerging Bacterial Foodborne

Pathogens—An Issue of Concern? **Antibiotics** **2023**, **Vol. 12**, **Page 880**, v. 12, n. 5, p. 880, 9 maio 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/12/5/880/htm>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HALBEDEL, S.; WILKING, H.; HOLZER, A.; KLETA, S.; FISCHER, M. A.; LÜTH, S.; PIETZKA, A.; HUHULESCU, S.; LACHMANN, R.; KRINGS, A.; RUPPITSCH, W.; LECLERCQ, A.; KAMPHAUSEN, R.; MEINCKE, M.; WAGNER-WIENING, C.; CONTZEN, M.; KRAEMER, I. B.; DAHOUK, S. Al; ALLERBERGER, F.; STARK, K.; FLIEGER, A. Large Nationwide Outbreak of Invasive Listeriosis Associated with Blood Sausage, Germany, 2018-2019. **Emerging infectious diseases**, v. 26, n. 7, p. 1456–1464, 1 jul. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32568037/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HAMMOND, D. S.; SCHOONEVELDT, J. M.; NIMMO, G. R.; HUYGENS, F.; GIFFARD, P. M. blaSHV Genes in *Klebsiella pneumoniae*: Different Allele Distributions Are Associated with Different Promoters within Individual Isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 1, p. 256, jan. 2005. Disponível em: <[pmc/articles/PMC538876/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1538876/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HANSON, H.; WHITFIELD, Y.; LEE, C.; BADIANI, T.; MINIELLY, C.; FENIK, J.; MAKROSTERGIOS, T.; KOPKO, C.; MAJURY, A.; HILLYER, E.; FORTUNA, L.; MAKI, A.; MURPHY, A.; LOMBOS, M.; ZITTERMANN, S.; YU, Y.; HILL, K.; KONG, A.; SHARMA, D.; WARSHAWSKY, B. *Listeria monocytogenes* Associated with Pasteurized Chocolate Milk, Ontario, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 3, p. 581, 1 mar. 2019. Disponível em: <[pmc/articles/PMC6390750/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3290750/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HÄSLER, B.; CORNELSEN, L.; BENNANI, H.; RUSHTON, J. A review of the metrics for One Health benefits. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 33, n. 2, p. 453–464, 1 ago. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25707176/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HAWKINS, C.; HARPER, D.; BURCH, D.; ÄNGGÅRD, E.; SOOTHILL, J. Topical treatment of *Pseudomonas aeruginosa* otitis of dogs with a bacteriophage mixture: a before/after clinical trial. **Veterinary microbiology**, v. 146, n. 3–4, p. 309–313, 15 dez. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20627620/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HOBBS, Z.; ABEDON, S. T. Diversity of phage infection types and associated terminology: the problem with “Lytic or lysogenic”. **FEMS microbiology letters**, v. 363, n.

7, 1 abr. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26925588/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HOF, H. History and epidemiology of listeriosis. **FEMS immunology and medical microbiology**, v. 35, n. 3, p. 199–202, 1 abr. 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12648837/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HUANG, Y. J. S.; HIGGS, S.; VANLANDINGHAM, D. L. Arbovirus-Mosquito Vector-Host Interactions and the Impact on Transmission and Disease Pathogenesis of Arboviruses. **Frontiers in microbiology**, v. 10, n. JAN, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30728812/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HÜLPHERS, G. Levernekros hos kanin orsakad av en ej förut beskriven bakterie (Liver necrosis in rabbit caused by a hitherto unknown bacterium). **Svensk Veterinärtidskrift**, v. 16, p. 265–273, 1911.

HUNGARO, H. M.; MENDONÇA, R. C. S.; GOUVÊA, D. M.; VANETTI, M. C. D.; PINTO, C. L. de O. Use of bacteriophages to reduce Salmonella in chicken skin in comparison with chemical agents. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 75–81, 1 jun. 2013. . Acesso em: 8 jun. 2023.

ICTV. **Taxon Details** | **ICTV**. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202111600>. Acesso em: 8 jun. 2023.

IIDA, T.; KANZAKI, M.; MARUYAMA, T.; INOUE, S.; KANEUCHI, C. Prevalence of Listeria monocytogenes in intestinal contents of healthy animals in Japan. **The Journal of veterinary medical science**, v. 53, n. 5, p. 873–875, 1991. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1836374/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

IN 60. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019 - INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019 - DOU - Imprensa Nacional**. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

JACKSON, K. A.; GOULD, L. H.; HUNTER, J. C.; KUCEROVA, Z.; JACKSON, B. Listeriosis Outbreaks Associated with Soft Cheeses, United States, 1998–2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 6, p. 1116, 1 jun. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30728812/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

JAKHETIA, R.; TALUKDER, K. A.; VERMA, N. K. Isolation, characterization and comparative genomics of bacteriophage SfIV: A novel serotype converting phage from

Shigella flexneri. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 3 out. 2013. Disponível em: <<https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-14-677>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

JASSIM, S. A. A.; LIMOGES, R. G. Impact of external forces on cyanophage-host interactions in aquatic ecosystems. **World journal of microbiology & biotechnology**, v. 29, n. 10, p. 1751–1762, out. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23619821/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

JENSEN, A. K.; NIELSEN, E. M.; BJÖRKMAN, J. T.; JENSEN, T.; MÜLLER, L.; PERSSON, S.; BJERAGER, G.; PERGE, A.; KRAUSE, T. G.; KIIL, K.; SØRENSEN, G.; ANDERSEN, J. K.; MØLBAK, K.; ETHELBERG, S. Whole-genome Sequencing Used to Investigate a Nationwide Outbreak of Listeriosis Caused by Ready-to-eat Delicatessen Meat, Denmark, 2014. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 63, n. 1, p. 64–70, 1 jul. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27025820/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

JIANG, J.; LAN, G.; LI, J.; YU, J.; HUANG, H.; SUN, Y.; XU, C.; LIU, D.; GONG, Y.; ZHAO, C. Characterization and genomic analysis of JC01, a novel bacteriophage infecting *Cronobacter sakazakii*. **Archives of virology**, v. 168, n. 1, 1 jan. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36527491/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

KAYODE, A. J.; OKOH, A. I. Assessment of multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* in milk and milk product and One Health perspective. **PLOS ONE**, v. 17, n. 7, p. e0270993, 1 jul. 2022. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0270993>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

KHELEF, N.; LECUIT, M.; BIERNE, H.; COSSART, P. Species specificity of the *Listeria monocytogenes* InlB protein. **Cellular microbiology**, v. 8, n. 3, p. 457–470, mar. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16469057/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

KIM, S.; LEE, D. W.; JIN, J. S.; KIM, J. Antimicrobial activity of LysSS, a novel phage endolysin, against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 22, p. 32–39, 1 set. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32006750/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

KLUMPP, J.; LOESSNER, M. J. *Listeria* phages: Genomes, evolution, and application. **Bacteriophage**, v. 3, n. 3, p. e26861, 11 jul. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24251077/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

KNOTHE, H.; SHAH, P.; KRCMERY, V.; ANTAL, M.; MITSUHASHI, S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. **Infection**, v. 11, n. 6, p. 315–317, nov. 1983. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6321357/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

KROPINSKI, A. M.; MAZZOCCO, A.; WADDELL, T. E.; LINGOHR, E.; JOHNSON, R. P. Enumeration of bacteriophages by double agar overlay plaque assay. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 501, p. 69–76, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19066811/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LACHMANN, R.; HALBEDEL, S.; ADLER, M.; BECKER, N.; ALLERBERGER, F.; HOLZER, A.; BOONE, I.; FALKENHORST, G.; KLETA, S.; AL DAHOUK, S.; STARK, K.; LUBER, P.; FLIEGER, A.; WILKING, H. Nationwide outbreak of invasive listeriosis associated with consumption of meat products in health care facilities, Germany, 2014–2019. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 7, p. 1035.e1-1035.e5, 1 jul. 2021. Disponível em:

<<http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X20305723/fulltext>>.

Acesso em: 8 jun. 2023.

LARRAÑAGA, O.; BROWN-JAQUE, M.; QUIRÓS, P.; GÓMEZ-GÓMEZ, C.; BLANCH, A. R.; RODRÍGUEZ-RUBIO, L.; MUNIESA, M. Phage particles harboring antibiotic resistance genes in fresh-cut vegetables and agricultural soil. **Environment international**, v. 115, p. 133–141, 1 jun. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29567433/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LECUIT, M.; DRAMSI, S.; GOTTARDI, C.; FEDOR-CHAIKEN, M.; GUMBINER, B.; COSSART, P. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. **The EMBO journal**, v. 18, n. 14, p. 3956–3963, 15 jul. 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10406800/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LECUIT, M.; HURME, R.; PIZARRO-CERDÁ, J.; OHAYON, H.; GEIGER, B.; COSSART, P. A role for α - and β -catenins in bacterial uptake. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 18, p. 10008–10013, 29 ago. 2000. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.97.18.10008>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LECUIT, M.; NELSON, D. M.; SMITH, S. D.; KHUN, H.; HUERRE, M.; VACHER-LAVENU, M. C.; GORDON, J. I.; COSSART, P. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 16, p. 6152–6157, 20 abr. 2004. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15073336/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LEE, H.; YOON, Y. Etiological Agents Implicated in Foodborne Illness World Wide. **Food Science of Animal Resources**, v. 41, n. 1, p. 1, 2021. Disponível em: </pmc/articles/PMC7810395/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LEIMEISTER-WÄCHTER, M.; DOMANN, E.; CHAKRABORTY, T. Detection of a gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C that is co-ordinately expressed with listeriolysin in *Listeria monocytogenes*. **Molecular microbiology**, v. 5, n. 2, p. 361–366, 1991. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1645838/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LEVRAUD, J. P.; DISSON, O.; KISSA, K.; BONNE, I.; COSSART, P.; HERBOMEL, P.; LECUIT, M. Real-time observation of *Listeria monocytogenes*-phagocyte interactions in living zebrafish larvae. **Infection and immunity**, v. 77, n. 9, p. 3651–3660, set. 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19546195/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LI, H.; WANG, P.; LAN, R.; LUO, L.; CAO, X.; WANG, Y.; WANG, Y.; LI, H.; ZHANG, L.; JI, S.; YE, C. Risk factors and level of *Listeria monocytogenes* contamination of raw pork in retail markets in China. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAY, p. 347852, 29 maio 2018. . Acesso em: 8 jun. 2023.

LOCATELLI, A.; SPOR, A.; JOLIVET, C.; PIVETEAU, P.; HARTMANN, A. Biotic and abiotic soil properties influence survival of *Listeria monocytogenes* in soil. **PloS one**, v. 8, n. 10, 7 out. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24116083/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LOC-CARRILLO, C.; ABEDON, S. T. Pros and cons of phage therapy. **Bacteriophage**, v. 1, n. 2, p. 111, mar. 2011. Disponível em: </pmc/articles/PMC3278648/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LONDERO, A.; COSTA, M.; GALLI, L.; BRUSA, V.; LINARES, L.; PRIETO, M.; LEOTTA, G. Characterization and subtyping of *Listeria monocytogenes* strains from butcher shops. **LWT**, v. 113, p. 108363, 1 out. 2019. . Acesso em: 8 jun. 2023.

ŁOŚ, M.; GOLEC, P.; ŁOŚ, J. M.; WEGLEWSKA-JURKIEWICZ, A.; CZYZ, A.; WEGRZYN, A.; WEGRZYN, G.; NEUBAUER, P. Effective inhibition of lytic development of bacteriophages λ , P1 and T4 by starvation of their host, *Escherichia coli*. **BMC Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 1–6, 26 fev. 2007. Disponível em: <<https://bmcbiotechnol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6750-7-13>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LU, H.; XIONG, W.; LI, Z.; YAN, P.; LIU, R.; LIU, X. Isolation and characterization of SGF3, a novel Microviridae phage infecting *Shigella flexneri*. **Molecular genetics and genomics: MGG**, v. 297, n. 4, p. 935–945, 1 jul. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35522301/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LURIE, M. N. Treatment of dysentery and haemolytic intestinal diseases among children and adults. **Selected articles of Azerbaijani Institute of Epidemiology and Microbiology**, v. 6, p. 31–34, 1938.

LÜTH, S.; HALBEDEL, S.; ROSNER, B.; WILKING, H.; HOLZER, A.; ROEDEL, A.; DIECKMANN, R.; VINCZE, S.; PRAGER, R.; FLIEGER, A.; AL DAHOUK, S.; KLETA, S. Backtracking and forward checking of human listeriosis clusters identified a multiclonal outbreak linked to *Listeria monocytogenes* in meat products of a single producer. **Emerging microbes & infections**, v. 9, n. 1, p. 1600–1608, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32657219/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MÄESAAR, M.; MAMEDE, R.; ELIAS, T.; ROASTO, M. Retrospective Use of Whole-Genome Sequencing Expands the Multicountry Outbreak Cluster of *Listeria monocytogenes* ST1247. **International journal of genomics**, v. 2021, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33869622/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MAGNONE, J. P.; MAREK, P. J.; SULAKVELIDZE, A.; SENEAL, A. G. Additive approach for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* spp. on contaminated fresh fruits and vegetables using bacteriophage cocktail and produce wash. **Journal of food protection**, v. 76, n. 8, p. 1336–1341, ago. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23905788/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MAHDAVI, S.; SADEGHI, M.; SHOKRI, R.; SADEGH, B. The Role of Bacteriophages as Important Reservoirs of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes in Azerbaijan Hospitals. **Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)**, v. 28, n. 4, p. 436–443, 1 abr. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35076323/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MCLAUCHLIN, J.; AIRD, H.; AMAR, C.; BARKER, C.; DALLMAN, T.; ELVISS, N.; JØRGENSEN, F.; WILLIS, C. *Listeria monocytogenes* in Cooked Chicken: Detection of an Outbreak in the United Kingdom (2016 to 2017) and Analysis of *L. monocytogenes* from Unrelated Monitoring of Foods (2013 to 2017). **Journal of food protection**, v. 83, n. 12, p. 2041–2052, 1 dez. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32663280/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MENGAUD, J.; BRAUN-BRETON, C.; COSSART, P. Identification of phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity in *Listeria monocytogenes*: a novel type of virulence factor? **Molecular microbiology**, v. 5, n. 2, p. 367–372, 1991. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1645839/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MILHO, C.; SILVA, M. D.; SILLANKORVA, S.; HARPER, D. R. Biofilm Applications of Bacteriophages. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-40598-8_27-1>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MONTAÑEZ-IZQUIERDO, V. Y.; SALAS-VÁZQUEZ, D. I.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J. Use of epifluorescence microscopy to assess the effectiveness of phage P100 in controlling *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel surfaces. **Food Control**, v. 23, n. 2, p. 470–477, 1 fev. 2012. . Acesso em: 8 jun. 2023.

MØRETRØ, T.; LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. **Biofilms**, v. 1, n. 2, p. 107–121, abr. 2004. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/biofilms/article/abs/listeria-monocytogenes-biofilm-formation-and-persistence-in-foodprocessing-environments/F65FA6ADB73031D6341A38D6EB4BA5BD>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MØRETRØ, T.; LANGSRUD, S.; HEIR, E.; MØRETRØ, T.; LANGSRUD, S.; HEIR, E. Bacteria on Meat Abattoir Process Surfaces after Sanitation: Characterisation of Survival Properties of *Listeria monocytogenes* and the Commensal Bacterial Flora. **Advances in Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 255–264, 25 jun. 2013. Disponível em: <http://www.scirp.org/Html/4-2270180_33773.htm>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MORTIMER, P. P. Influenza: the centennial of a zoonosis. **Reviews in medical virology**, v. 29, n. 1, 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30576029/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MOYE, Z. D.; WOOLSTON, J.; SULAKVELIDZE, A. Bacteriophage Applications for Food Production and Processing. **Viruses**, v. 10, n. 4, 19 abr. 2018. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC5923499/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30000000/)>. Acesso em: 11 jun. 2023.

MUHAMMAD, I.; GOLPARIAN, D.; DILLON, J. A. R.; JOHANSSON, Å.; OHNISHI, M.; SETHI, S.; CHEN, S. chun; NAKAYAMA, S. ichi; SUNDQVIST, M.; BALA, M.; UNEMO, M. Characterisation of bla TEM genes and types of β -lactamase plasmids in *Neisseria gonorrhoeae* - the prevalent and conserved bla TEM-135 has not recently evolved and existed in the Toronto plasmid from the origin. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 1–7, 22 ago. 2014. Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-14-454>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MURRAY, E. G. D.; WEBB, R. A.; SWANN, M. B. R. A disease of rabbits characterised by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 29, n. 4, p. 407–439, 1 jan. 1926. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/path.1700290409>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

NEWELL, D. G.; KOOPMANS, M.; VERHOEF, L.; DUIZER, E.; AIDARA-KANE, A.; SPRONG, H.; OPSTEEGH, M.; LANGELAAR, M.; THREFFALL, J.; SCHEUTZ, F.; DER GIESSEN, J. van; KRUSE, H. Food-borne diseases - the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. **International journal of food microbiology**, v. 139 Suppl 1, n. SUPPL. 1, maio 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20153070/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

NGASSAM-TCHAMBA, C.; DUPREZ, J. N.; FERGESTAD, M.; DE VISSCHER, A.; L'ABEE-LUND, T.; DE VLIEGHER, S.; WASTESON, Y.; TOUZAIN, F.; BLANCHARD, Y.; LAVIGNE, R.; CHANISHVILI, N.; CASSART, D.; MAINIL, J.; THIRY, D. In vitro and in vivo assessment of phage therapy against *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 22, p. 762–770, 1 set. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32645442/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

NICHOLS, M.; CONRAD, A.; WHITLOCK, L.; STROIKA, S.; STRAIN, E.; WELTMAN, A.; JOHNSON, L.; DEMENT, J.; REPORTER, R.; WILLIAMS, I. Short communication: Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infections retrospectively linked to unpasteurized milk using whole-genome sequencing. **Journal of dairy science**, v.

103, n. 1, p. 176–178, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31733864/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

NICHOLSON, F. A.; GROVES, S. J.; CHAMBERS, B. J. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 2, p. 135–143, jan. 2005. . Acesso em: 8 jun. 2023.

NIGHTINGALE, K. K.; SCHUKKEN, Y. H.; NIGHTINGALE, C. R.; FORTES, E. D.; HO, A. J.; HER, Z.; GROHN, Y. T.; MCDONOUGH, P. L.; WIEDMANN, M. Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. **Applied and environmental microbiology**, v. 70, n. 8, p. 4458–4467, ago. 2004. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15294773/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

NOUIOUI, I.; CARRO, L.; GARCÍA-LÓPEZ, M.; MEIER-KOLTHOFF, J. P.; WOYKE, T.; KYRPIDES, N. C.; PUKALL, R.; KLENK, H. P.; GOODFELLOW, M.; GÖKER, M. Genome-Based Taxonomic Classification of the Phylum Actinobacteria. **Frontiers in microbiology**, v. 9, n. AUG, 22 ago. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30186281/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

NÜESCH-INDERBINEN, M.; BLOEMBERG, G. V.; MÜLLER, A.; STEVENS, M. J. A.; CERNELA, N.; KOLLÖFFEL, B.; STEPHAN, R. Listeriosis Caused by Persistence of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Sequence Type 6 in Cheese Production Environment. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 1, p. 284, 1 jan. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30614782/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

OREN, A.; GARRITY, G. M. Notification of changes in taxonomic opinion previously published outside the IJSEM. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 69, n. 1, p. 13–32, 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30614782/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

PAN, Y.; BREIDT, F.; KATHARIOU, S. Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 12, p. 7711–7717, dez. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17012587/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

PEEL, M.; DONACHIE, W.; SHAW, A. Temperature-dependent expression of flagella of *Listeria monocytogenes* studied by electron microscopy, SDS-PAGE and Western blotting. **Journal of General Microbiology**, v. 134, n. 8, p. 2171–2178, 1 ago. 1988. Disponível em:

<<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-134-8-2171>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

PEETERS, B. P. H.; PETERS, R. M.; SCHOENMAKERS, J. G. G.; KONINGS, R. N. H. Nucleotide sequence and genetic organization of the genome of the N-specific filamentous bacteriophage IKE. Comparison with the genome of the F-specific filamentous phages M13, fd and f1. **Journal of molecular biology**, v. 181, n. 1, p. 27–39, 5 jan. 1985. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3981635/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

PERERA, M. N.; ABULADZE, T.; LI, M.; WOOLSTON, J.; SULAKVELIDZE, A. Bacteriophage cocktail significantly reduces or eliminates *Listeria monocytogenes* contamination on lettuce, apples, cheese, smoked salmon and frozen foods. **Food Microbiology**, v. 52, p. 42–48, 1 dez. 2015. . Acesso em: 8 jun. 2023.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; VALERO, A.; CARRASCO, E.; GARCÍA, R. M.; ZURERA, G. Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 3, p. 131–144, 1 mar. 2008. . Acesso em: 8 jun. 2023.

PETTENGILL, J. B.; MARKELL, A.; CONRAD, A.; CARLETON, H. A.; BEAL, J.; RAND, H.; MUSSER, S.; BROWN, E. W.; ALLARD, M. W.; HUFFMAN, J.; HARRIS, S.; WISE, M.; LOCAS, A. A multinational listeriosis outbreak and the importance of sharing genomic data. **The Lancet Microbe**, v. 1, n. 6, p. e233–e234, 1 out. 2020. Disponível em: <<http://www.thelancet.com/article/S2666524720301221/fulltext>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

PIRIE, J. H. THE GENUS *LISTERELLA* PIRIE. **Science (New York, N.Y.)**, v. 91, n. 2364, p. 383, 1940. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17773427/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

PORTER, J.; ANDERSON, J.; CARTER, L.; DONJACOUR, E.; PAROS, M. In vitro evaluation of a novel bacteriophage cocktail as a preventative for bovine coliform mastitis. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 3, p. 2053–2062, 1 mar. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26774718/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

PORTNOY, D. A.; SUZANNE JACKS, P.; HINRICHS, D. J. Role of hemolysin for the intracellular growth of *Listeria monocytogenes*. **The Journal of experimental medicine**, v. 167, n. 4, p. 1459–1471, 1 abr. 1988. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2833557/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RADOSHEVICH, L.; COSSART, P. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology** 2017 16:1, v. 16,

n. 1, p. 32–46, 27 nov. 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.126>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RAHMAN, M. T.; SOBUR, M. A.; ISLAM, M. S.; IEVY, S.; HOSSAIN, M. J.; ZOWALATY, M. E. E.; RAHMAN, A. M. M. T.; ASHOUR, H. M. Zoonotic Diseases: Etiology, Impact, and Control. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1–34, 1 set. 2020. Disponível em: <[pmc/articles/PMC7563794/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33907261/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RASCHLE, S.; STEPHAN, R.; STEVENS, M. J. A.; CERNELA, N.; ZURFLUH, K.; MUCHAAMBA, F.; NÜESCH-INDERBINEN, M. Environmental dissemination of pathogenic *Listeria monocytogenes* in flowing surface waters in Switzerland. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 9066, 27 abr. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33907261/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RDC 12. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: <https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RDC 331. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 331, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019 - RESOLUÇÃO - RDC Nº 331, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019 - DOU - Imprensa Nacional**. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

REINHARD, R. G.; KALINOWSKI, R. M.; BODNARUK, P. W.; EIFERT, J. D.; BOYER, R. R.; DUNCAN, S. E.; BAILEY, R. H. Practical application of bacteriophage in food manufacturing facilities for the control of *Listeria* sp. **Journal of Food Safety**, v. 43, n. 2, p. e12871, 1 abr. 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfs.12871>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RIBEIRO, R. A. C. Transferência do gene blaTEM entre *Salmonella* e *Escherichia coli* em condições de beneficiamento de produtos de origem animal: influência de um complexo de cobre. 3 fev. 2023. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/37150>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RIPOLLES-AVILA, C.; CERVANTES-HUAMAN, B. H.; HASCOËT, A. S.; YUSTE, J.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J. Quantification of mature *Listeria monocytogenes* biofilm cells formed by an in vitro model: A comparison of different methods. **International journal of food microbiology**, v. 289, p. 209–214, 16 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30384192/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RIPOLLES-AVILA, C.; HASCOËT, A. S.; GUERRERO-NAVARRO, A. E.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J. Establishment of incubation conditions to optimize the in vitro formation of mature *Listeria monocytogenes* biofilms on food-contact surfaces. **Food Control**, v. 92, p. 240–248, 1 out. 2018. . Acesso em: 8 jun. 2023.

ROCHA, F. R. Análise molecular da prevalência dos genes beta-lactamases blaCTX-M, blaSHV e blaTEM em *Klebsiella pneumoniae* isoladas de pacientes com diagnóstico de infecção hospitalar na Santa Casa de Misericórdia de Sobral, Ceará. 2015. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/18045>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ROCOURT, J. Risk factors for listeriosis. **Food Control**, v. 7, n. 4–5, p. 195–202, 1 ago. 1996. . Acesso em: 8 jun. 2023.

ROCOURT, J.; BOERLIN, P.; GRIMONT, F.; JACQUET, C.; PIFFARETTI, J. C. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. **International journal of systematic bacteriology**, v. 42, n. 1, p. 171–174, 1992. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1736964/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ROCOURT, J.; WEHMEYER, U.; STACKEBRANDT, E. Transfer of *Listeria denitrificans* to a New Genus, *Jonesia* gen. nov., as *Jonesia denitrificans* comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 266–270, 1 jul. 1987. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-37-3-266>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RODIGINA, A. M. Pneumococcal bacteriophage: Its application for treatment of the ulcerous corneal serpens. 1938.

ROSSI, P.; ARAGNO, M. Analysis of bacteriophage inactivation and its attenuation by adsorption onto colloidal particles by batch agitation techniques. <https://doi.org/10.1139/w98-117>, v. 45, n. 1, p. 9–17, 2011. Disponível em: <<https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/w98-117>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ROTHROCK, M. J.; DAVIS, M. L.; LOCATELLI, A.; BODIE, A.; MCINTOSH, T. G.; DONALDSON, J. R.; RICKE, S. C. *Listeria* occurrence in poultry flocks: Detection and potential implications. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, n. AUG, p. 269657, 11 ago. 2017. . Acesso em: 8 jun. 2023.

RUCHKO, I.; TRETYAK, K. Therapeutic effect of *Staphylococcus* phage for oral and dental infections. **Soviet Stomatology**, v. 1, p. 11–20, 1936.

RYU, S.; KIM, B. I.; LIM, J. S.; TAN, C. S.; CHUN, B. C. One Health Perspectives on Emerging Public Health Threats. **Journal of Preventive Medicine and Public Health**, v. 50, n. 6, p. 411, 1 nov. 2017. Disponível em: <[pmc/articles/PMC5717333/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27111111/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SALMOND, G. P. C.; FINERAN, P. C. A century of the phage: past, present and future. **Nature Reviews Microbiology** 2015 13:12, v. 13, n. 12, p. 777–786, 9 nov. 2015. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrmicro3564>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SANTOS, T. M. A.; GILBERT, R. O.; CAIXETA, L. S.; MACHADO, V. S.; TEIXEIRA, L. M.; BICALHO, R. C. Susceptibility of Escherichia coli isolated from uteri of postpartum dairy cows to antibiotic and environmental bacteriophages. Part II: In vitro antimicrobial activity evaluation of a bacteriophage cocktail and several antibiotics. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 1, p. 105–114, jan. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20059909/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SCHJØRRING, S.; GILLESBERG LASSEN, S.; JENSEN, T.; MOURA, A.; KJELDGAARD, J. S.; MÜLLER, L.; THIELKE, S.; LECLERCQ, A.; MAURY, M. M.; TOURDJMAN, M.; DONGUY, M. P.; LECUIT, M.; ETHELBERG, S.; NIELSEN, E. M. Cross-border outbreak of listeriosis caused by cold-smoked salmon, revealed by integrated surveillance and whole genome sequencing (WGS), Denmark and France, 2015 to 2017. **Euro surveillance: bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin**, v. 22, n. 50, 14 dez. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29258647/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SCHLECH, W. F.; LAVIGNE, P. M.; BORTOLUSSI, R. A.; ALLEN, A. C.; HALDANE, E. V.; WORT, A. J.; HIGHTOWER, A. W.; JOHNSON, S. E.; KING, S. H.; NICHOLLS, E. S.; BROOME, C. V. Epidemic listeriosis--evidence for transmission by food. **The New England journal of medicine**, v. 308, n. 4, p. 203–206, 27 jan. 1983. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6401354/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SCHOCH, C. L.; CIUFO, S.; DOMRACHEV, M.; HOTTON, C. L.; KANNAN, S.; KHOVANSKAYA, R.; LEIPE, D.; MCVEIGH, R.; O'NEILL, K.; ROBBERTSE, B.; SHARMA, S.; SOUSSOV, V.; SULLIVAN, J. P.; SUN, L.; TURNER, S.; KARSCH-MIZRACHI, I. NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. **Database**, v. 2020, 2020a. . Acesso em: 8 jun. 2023.

SCHOCH, C. L.; CIUFO, S.; DOMRACHEV, M.; HOTTON, C. L.; KANNAN, S.; KHOVANSKAYA, R.; LEIPE, D.; MCVEIGH, R.; O'NEILL, K.; ROBBERTSE, B.;

SHARMA, S.; SOUSSOV, V.; SULLIVAN, J. P.; SUN, L.; TURNER, S.; KARSCH-MIZRACHI, I. NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. **Database**, v. 2020, 2020b. . Acesso em: 8 jun. 2023.

SEELIGER, H. P. R. Listeriosis--history and actual developments. **Infection**, v. 16 Suppl 2, n. 2 Supplement, mar. 1988. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3138193/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SELF, J. L.; CONRAD, A.; STROIKA, S.; JACKSON, A.; WHITLOCK, L.; JACKSON, K. A.; BEAL, J.; WELLMAN, A.; FATICA, M. K.; BIDOL, S.; HUTH, P. P.; HAMEL, M.; FRANKLIN, K.; TSCHETTER, L.; KOPKO, C.; KIRSCH, P.; WISE, M. E.; BASLER, C. Multistate outbreak of listeriosis associated with packaged leafy green salads, united states and canada, 2015–2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 8, p. 1461–1468, 1 ago. 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6649349/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SHARMA, M.; DASHIELL, G.; HANDY, E. T.; EAST, C.; REYNNELLS, R.; WHITE, C.; NYARKO, E.; MICALLEF, S.; HASHEM, F.; MILLNER, P. D. Survival of Salmonella Newport on Whole and Fresh-Cut Cucumbers Treated with Lytic Bacteriophages. **Journal of food protection**, v. 80, n. 4, p. 668–673, 1 abr. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28294684/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SHE, L.-Y.; TEW, L.-S.; CHEW, C.-H. Occurrence of blaCTXM-2, blaSHV, blaTEM genes in ESBL-producing bacteria from retail sausages in Kampar, Malaysia. **Biomedical Research**, v. 26, n. 3, p. 456–460, 2015. Disponível em: <<https://www.alliedacademies.org/articles/occurrence-of-blactxm2-blashv-blatem-genes-in-esblproducingbacteria-from-retail-sausages-in-kampar-malaysia.html>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SHEN, Y.; NAUJOKAS, M.; PARK, M.; IRETON, K. InIB-dependent internalization of Listeria is mediated by the Met receptor tyrosine kinase. **Cell**, v. 103, n. 3, p. 501–510, 27 out. 2000. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11081636/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SILLANKORVA, S.; OLIVEIRA, R.; VIEIRA, M. J.; SUTHERLAND, I.; AZEREDO, J. Pseudomonas fluorescens infection by bacteriophage Φ S1: the influence of temperature, host growth phase and media. **FEMS Microbiology Letters**, v. 241, n. 1, p. 13–20, 1 dez. 2004. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2004.06.058>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SKOVGAARD, N.; MORGEN, C. A. Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. **International journal of food microbiology**, v. 6, n. 3, p. 229–242, 1988. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3152796/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SMITH, G. A.; MARQUIS, H.; JONES, S.; JOHNSTON, N. C.; PORTNOY, D. A.; GOLDFINE, H. The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. **Infection and immunity**, v. 63, n. 11, p. 4231–4237, 1995. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7591052/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SNEERINGER, S. **USDA ERS - Restrictions on Antibiotic Use for Production Purposes in U.S. Livestock Industries Likely To Have Small Effects on Prices and Quantities.** Disponível em: <<https://www.ers.usda.gov/amber-waves/2015/november/restrictions-on-antibiotic-use-for-production-purposes-in-u-s-livestock-industries-likely-to-have-small-effects-on-prices-and-quantities/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SOUSA, S.; CABANES, D.; ARCHAMBAUD, C.; COLLAND, F.; LEMICHEZ, E.; POPOFF, M.; BOISSON-DUPUIS, S.; GOUIN, E.; LECUIT, M.; LEGRAIN, P.; COSSART, P. ARHGAP10 is necessary for alpha-catenin recruitment at adherens junctions and for *Listeria* invasion. **Nature cell biology**, v. 7, n. 10, p. 954–960, out. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16184169/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

STASSEN, A. P. M.; SCHOENMAKERS, E. F. P. M.; YU, M.; SCHOENMAKERS, J. G. G.; KONINGS, R. N. H. Nucleotide sequence of the genome of the filamentous bacteriophage I2-2: module evolution of the filamentous phage genome. **Journal of molecular evolution**, v. 34, n. 2, p. 141–152, 1992. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1556749/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SUI, B.; HAN, L.; REN, H.; LIU, W.; ZHANG, C. A Novel Polyvalent Bacteriophage vB_EcoM_swi3 Infects Pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 14 jul. 2021. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC8317433/](https://pmc/articles/PMC8317433/)>. Acesso em: 8 jun. 2023.

SUKUMARAN, A. T.; NANNAPANENI, R.; KIESS, A.; SHARMA, C. S. Reduction of *Salmonella* on chicken breast fillets stored under aerobic or modified atmosphere packaging by the application of lytic bacteriophage preparation SalmoFresh™. **Poultry Science**, v. 95, n. 3, p. 668–675, 1 mar. 2016. . Acesso em: 8 jun. 2023.

TCHATCHOUANG, C. D. K.; FRI, J.; DE SANTI, M.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F.; AMAGLIANI, G.; ATEBA, C. N. Listeriosis Outbreak in South Africa: A Comparative Analysis with Previously Reported Cases Worldwide. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, 1 jan. 2020. Disponível em: </pmc/articles/PMC7023107/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

THOMPSON, S. S.; YATES, M. V. Bacteriophage inactivation at the air-water-solid interface in dynamic batch systems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1186–1190, 1999. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.65.3.1186-1190.1999>. Acesso em: 8 jun. 2023.

TILNEY, L. G.; PORTNOY, D. A. Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*. **The Journal of Cell Biology**, v. 109, n. 4, p. 1597, 10 out. 1989. Disponível em: </pmc/articles/PMC2115783/?report=abstract>. Acesso em: 8 jun. 2023.

TITZE, I.; KRÖMKER, V. Antimicrobial Activity of a Phage Mixture and a Lactic Acid Bacterium against *Staphylococcus aureus* from Bovine Mastitis. **Veterinary sciences**, v. 7, n. 1, 1 mar. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32155751/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

TOLENTINO, F. M. Detecção e Identificação dos genes de beta-lactamases blaSHV, blaTEM e blaCTX-M em *Klebsiella pneumoniae* isoladas em um Hospital Terciário do Estado de São Paulo. 2009. . Acesso em: 8 jun. 2023.

TOMPKIN, R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. **Journal of food protection**, v. 65, n. 4, p. 709–725, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11952224/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

TSULUKIDZE, A. P. Application of phages in urology. **Urology**, v. 15, p. 10–13, 1938.

TSULUKIDZE, A. P. Phage treatment in surgery. **Surgery**, v. 12, p. 132–133, 1940.

TSULUKIDZE, A. P. Experience of Use of Bacteriophages in the Conditions of War Traumatism. 1941.

TURNER, D.; SHKOPOROV, A. N.; LOOD, C.; MILLARD, A. D.; DUTILH, B. E.; ALFENAS-ZERBINI, P.; VAN ZYL, L. J.; AZIZ, R. K.; OKSANEN, H. M.; PORANEN, M. M.; KROPINSKI, A. M.; BARYLSKI, J.; BRISTER, J. R.; CHANISVILI, N.; EDWARDS, R. A.; ENAULT, F.; GILLIS, A.; KNEZEVIC, P.; KRUPOVIC, M.; KURTBÖKE, I.; KUSHKINA, A.; LAVIGNE, R.; LEHMAN, S.; LOBOCKA, M.; MORARU, C.; MORENO SWITT, A.; MOROZOVA, V.; NAKAVUMA, J.; REYES

MUÑOZ, A.; RŪMNIĒKS, J.; SARKAR, B.; SULLIVAN, M. B.; UCHIYAMA, J.; WITTMANN, J.; YIGANG, T.; ADRIAENSSENS, E. M. Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. **Archives of Virology**, v. 168, n. 2, p. 74, 1 fev. 2023. Disponível em: </p></p>

VAZQUEZ-BOLAND, J. A.; KOCKS, C.; DRAMSI, S.; OHAYON, H.; GEOFFROY, C.; MENGAUD, J.; COSSART, P. Nucleotide sequence of the lecithinase operon of *Listeria monocytogenes* and possible role of lecithinase in cell-to-cell spread. **Infection and immunity**, v. 60, n. 1, p. 219–230, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1309513/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

VÁZQUEZ-BOLAND, J. A.; KUHN, M.; BERCHE, P.; CHAKRABORTY, T.; DOMÍNGUEZ-BERNAL, G.; GOEBEL, W.; GONZÁLEZ-ZORN, B.; WEHLAND, J.; KREFT, J. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 3, p. 584, 2001a. Disponível em: </p></p>

VÁZQUEZ-BOLAND, J. A.; KUHN, M.; BERCHE, P.; CHAKRABORTY, T.; DOMÍNGUEZ-BERNAL, G.; GOEBEL, W.; GONZÁLEZ-ZORN, B.; WEHLAND, J.; KREFT, J. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 3, p. 584, 2001b. Disponível em: </p></p>

VEIGA, E.; COSSART, P. *Listeria* hijacks the clathrin-dependent endocytic machinery to invade mammalian cells. **Nature cell biology**, v. 7, n. 9, p. 894–900, set. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16113677/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

VIKRAM, A.; TOKMAN, J. I.; WOOLSTON, J.; SULAKVELIDZE, A. Phage Biocontrol Improves Food Safety by Significantly Reducing the Level and Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Various Foods. **Journal of food protection**, v. 83, n. 4, p. 668–676, 1 abr. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32221572/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

VILSKER, M.; MOOSA, Y.; NOOIJ, S.; FONSECA, V.; GHYSENS, Y.; DUMON, K.; PAUWELS, R.; ALCANTARA, L. C.; VANDEN EYNDEN, E.; VANDAMME, A. M.; DEFORCHE, K.; DE OLIVEIRA, T. Genome Detective: an automated system for virus identification from high-throughput sequencing data. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v.

35, n. 5, p. 871–873, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30124794/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

WATERS, E. M.; NEILL, D. R.; KAMAN, B.; SAHOTA, J. S.; CLOKIE, M. R. J.; WINSTANLEY, C.; KADIOGLU, A. Phage therapy is highly effective against chronic lung infections with *Pseudomonas aeruginosa*. **Thorax**, v. 72, n. 7, p. 666–667, 1 jul. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28265031/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

WEBER, A.; PRELL, A.; POTEL, J.; SCHÄFER, R. [Occurrence of *Listeria monocytogenes* in snakes, tortoises, lizards and amphibians raised as pets]. **Berliner und Munchener tierärztliche Wochenschrift**, 1993. . Acesso em: 8 jun. 2023.

WELSHIMER, H. J. Survival of *Listeria monocytogenes* in soil. **Journal of bacteriology**, v. 80, n. 3, p. 316–320, set. 1960. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13784295/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

WHO. **High-level technical meeting to address health risks at the human-animal ecosystems interfaces: Mexico city, Mexico 15-17 November 2011**. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/78100>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

WHO. WHO ESTIMATES OF THE GLOBAL BURDEN OF FOODBORNE DISEASES. 2015. Disponível em: <www.who.int>. Acesso em: 8 jun. 2023.

WHO. **New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis**. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-anti-microbial-resistance-crisis>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

WHO. **Zoonoses**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>>. Acesso em: 8 jun. 2023a.

WHO. **Lack of new antibiotics threatens global efforts to contain drug-resistant infections**. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/17-01-2020-lack-of-new-antibiotics-threatens-global-efforts-to-contain-drug-resistant-infections>>. Acesso em: 8 jun. 2023b.

WILLIAMS, D. F.; BERG, J. C. The aggregation of colloidal particles at the air—water interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 152, n. 1, p. 218–229, 1 ago. 1992. . Acesso em: 8 jun. 2023.

WIŚNIEWSKI, P.; ZAKRZEWSKI, A. J.; ZADERNOWSKA, A.; CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, W. Antimicrobial Resistance and Virulence Characterization of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Food and Food Processing

Environments. **Pathogens**, v. 11, n. 10, p. 1099, 1 out. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-0817/11/10/1099/htm>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

WRIGHT, A.; HAWKINS, C. H.; ÄNGGÅRD, E. E.; HARPER, D. R. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. **Clinical otolaryngology : official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery**, v. 34, n. 4, p. 349–357, ago. 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19673983/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ZAYTSEVA, E.; ERMOLAEVA, S.; SOMOV, G. P. Low genetic diversity and epidemiological significance of *Listeria monocytogenes* isolated from wild animals in the far east of Russia. **Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, v. 7, n. 6, p. 736–742, dez. 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17716956/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ZHANG, X.; NIU, Y. D.; NAN, Y.; STANFORD, K.; HOLLEY, R.; MCALLISTER, T.; NARVÁEZ-BRAVO, C. SalmoFresh™ effectiveness in controlling *Salmonella* on romaine lettuce, mung bean sprouts and seeds. **International journal of food microbiology**, v. 305, 16 set. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31226567/>>. Acesso em: 8 jun. 2023.

9 APÊNDICE - MATERIAL COMPLEMENTAR

9.1 Publicações e participações em eventos

9.1.1 Artigos completos publicados em periódicos

- **Bioaccumulation dynamic by *Crassostrea gigas* oysters of viruses that are proposed as surrogates for enteric virus contamination in environmental samples**

SILVA, V. C.; ELOIS, M. A.; SAVI, B. P.; MIOTTO, M.; LINDNER, J. D.; FONGARO, G.; SOUZA, D. S. M.

Oysters are filter-feeders and retain sewage-derived pathogens in their organs or tissues. Since most enteric viruses involved in outbreaks cannot grow in cell culture, studies using viral surrogate models are essential. Some species are proposed as surrogates for enteric viruses in environmental samples, including in bivalve mollusk samples, such as murine norovirus type 1 (MNV-1) and somatic (as ϕ X) or F-specific coliphages (as MS2) bacteriophages. This study evaluated the tissue distribution of viral surrogates for enteric virus contamination after their bioaccumulation by *Crassostrea gigas*. Oyster tissues were analyzed for the distribution of viral surrogates (MNV-1, ϕ X-174, and MS2) in digestive tissue (DT), gills (GL), and mantle (MT) after 4, 6, and 24 h of experimental bioaccumulation. MNV-1 had higher counts at 6 h in DT (1.2×10^3 PFU/g), followed by GL and MT (9.5×10^2 and 3.8×10^2 PFU/g, respectively). The bacteriophage ϕ X-174 had a higher concentration in the MT at 4 and 6 h (3.0×10^2 PFU/g, in both) and MS2 in the GL after 24 h (2.2×10^2 PFU/g). The bioaccumulation pattern of MNV-1 by oysters was similar to the other enteric viruses (more in DT), while that of phages followed distinct patterns from these. Since the MNV-1 is bioaccumulated by *C. gigas* and is adapted to grow in cell culture, it is an important tool for bioaccumulation and viral inactivation tests in oysters. Although bacteriophage bioaccumulation was not similar to enteric viruses, they can be indicated for viral bioaccumulation analysis, analyzing MT and GL, since they do not bioaccumulate in DT.

- **Bacteriophages as Biotechnological Tools**

ELOIS, M. A.; DA SILVA, R.; PILATI, G. V. T.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; FONGARO, G.

Bacteriophages are ubiquitous organisms that can be specific to one or multiple strains of hosts, in addition to being the most abundant entities on the planet. It is estimated that they exceed ten times the total number of bacteria. They are classified as temperate, which means that phages can integrate their genome into the host genome, originating a prophage that replicates with the host cell and may confer immunity against infection by the same type of phage; and lytics, those with greater biotechnological interest and are viruses that lyse the host cell at the end of its reproductive cycle. When lysogenic, they are capable of disseminating bacterial antibiotic resistance genes through horizontal gene transfer. When professionally lytic-that is, obligately lytic and not recently descended from a temperate ancestor-they become allies in bacterial control in ecological imbalance scenarios; these viruses have a biofilm-reducing capacity. Phage therapy has also been advocated by the scientific community, given the uniqueness of issues related to the control of microorganisms and biofilm production when compared to other commonly used techniques. The advantages of using bacteriophages appear as a viable and promising alternative. This review will provide updates on the landscape of phage applications for the biocontrol of pathogens in industrial settings and healthcare.

9.1.2 Capítulos de livros

- **VigEAI: Vigilância Epidemiológica Ambiental Integrativa - Laboratório de Virologia Aplicada da Universidade Federal de Santa Catarina - Brasil: Bases da Ferramenta epidemiológica para o monitoramento viral a partir do esgoto sanitário.**

WACHTER, J. K.; CADAMURO, R. D.; SAVI, B. P.; ELOIS, M. A.; PILATI, G. V. T.; SOUZA, E. B.; PADILHA, D. A.; RODRIGUES, V. D.; ROSSI, E. M.; MALUTTA, S.; SOUZA, D. S. M.; BARAZZETTI, F. H.; GRISARD, H. B. S.; SCHORNER, M. A.; BAZZO, M. L.; FONGARO, G.

Editora GS4, 1 ed., 2023, v. , p. 65-86.

- **Vírus contaminantes do ambiente em uma abordagem de Saúde Única. Ciências ambientais e da saúde na atualidade: insights para alcançar os objetivos para o desenvolvimento sustentável**

DAHMER, M.; PILATI, G. V. T. ; **ELOIS, M. A.**; SAVI, B. P.; CADAMURO, R. D.; CAIO, H. Y.; PENSO, J. Z.; PADILHA, D. A.; SOUSA, A. K. F.; SOUZA, D. S. M.; FONGARO, G. Editora GS4, 1 ed.: , 2022, v. , p. 43-.

- **Bacteriophages Discovery and Environmental Application**

SILVA, R.; **ELOIS, M. A.**; SAVI, B. P.; SOUSA, E. B.; CADAMURO, R. D.; SOUZA, D. S. M.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; FONGARO, G.

Environmental and Food Virology, 1ed.: , 2023, v. , p. 27-.

- **Enteroviruses**

SAVI, B. P.; CADAMURO, R. D.; **ELOIS, M. A.**; PILATI, G. V. T.; DAHMER, M.; CAIO, H. Y.; PENSO, J. Z.; SOUZA, D. S. M.; FONGARO, G.

Environmental and Food Virology, 1ed.: , 2023, v. , p. 26-.

9.1.3 Resumos publicados em anais de eventos

- **Real scale monitoring of the behavior of human enteric and respiratory viruses in Lagoa da Conceição after sanitary effluent overflow**

SAVI, B. P.; PILATI, G. V. T.; **ELOIS, M. A.**; SOUZA, D. S. M.; CASTRO, D. G.; LEITE, N. K.; FONGARO, G.

Congresso Brasileiro de Virologia, 2022, Porto Seguro (BA).

- **Bioprospecting of bacteriophages for biocontrol of pathogenic and spoilage bacteria in the food industry**

ELOIS, M. A.; CAIO, H. Y.; WACHTER, J. K.; PILATI, G. V. T.; SILVA, R.; OLIVEIRA, R. R.; OMORI, W. P.; FONGARO, G.

Congresso Brasileiro de Virologia, 2022, Porto Seguro (BA).

- ***Neofusicoccum parvum*, endophytic fungi isolated from *Avicennia schaueriana* mangrove of the region of Itacorubi, Florianópolis-SC, applied to virucide and antiviral activity**

CADAMURO, R. D.; BASTOS, I. M. A. S.; ZUCHI, I. D. P.; PAVI, C. P.; PENSO, J. Z.; ELOIS, M. A.; PILATI, G. V. T.; FONGARO, G.

Congresso Brasileiro de Virologia, 2022, Porto Seguro (BA).

- **Bioaccumulation dynamic by *Crassostrea gigas* oysters of viruses that are proposed as surrogates for enteric virus contamination in environmental samples**

ELOIS, M. A.; SILVA, V. C.; SAVI, B. P.; ROGOVSKI, P.; SILVA, M. A.; MIOTTO, M.; LINDNER, J. D.; FONGARO, G.; SOUZA, D. S. M.

XXXII Congresso Brasileiro de Virologia, 2021, Virtual.

- **Inactivation of noroviruses in *Crassostrea gigas* oysters using *Curcuma longa* extract**

SILVA, V. C.; SOUZA, D. S. M.; ELOIS, M. A.; SAVI, B. P.; MIOTTO, M.; LINDNER, J. D.; FONGARO, G.

XXXII Congresso Brasileiro de Virologia, 2021 Virtual.

- **The stability of a Betacoronavirus species in seawater**

SOUZA, D. S. M.; SILVA, V. C.; REIS, J. G.; CADAMURO, R. D.; ELOIS, M. A.; MIOTTO, M.; LINDNER, J. D.; FONGARO, G. (2021).

XXXII Congresso Brasileiro de Virologia, 2021, Virtual.

9.2 Estágio Internacional

- **Universidad de Burgos**

Microbiology Division Centre for Emerging Pathogens and Global Health and Microbiology Section

Período: 7 de setembro a 11 de novembro de 2022

Supervisão: Prof. Dr. David Rodríguez-Lázaro.