

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina
Doenças Infecciosas e Parasitárias

VIRULOMA E RELAÇÃO GENÉTICA DE *Listeria monocytogenes* ISOLADAS
EM CASOS DE LISTERIOSE HUMANA, ALIMENTOS E AMBIENTE DE
PRODUÇÃO DE ALIMENTOS NO BRASIL

ROSANA MACEDO DE ALMEIDA

Rio de Janeiro
2023



VIRULOMA E RELAÇÃO GENÉTICA DE *Listeria monocytogenes*
ISOLADAS EM CASOS DE LISTERIOSE HUMANA, ALIMENTOS E
AMBIENTE DE PRODUÇÃO DE ALIMENTOS NO BRASIL

Rosana Macedo de Almeida

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas à Infectologia. Trabalho desenvolvido no Laboratório de Zoonoses Bacterianas/IOC/FIOCRUZ/RJ.

Orientadores: Dr^aCristina Barroso Hofer
Dr^aDeyse Christina Vallim da Silva
Dr Pedro Henrique Nunes Panzenhagen

Rio de Janeiro
Agosto/2023

Almeida, Rosana Macedo de

**Viruloma e Relação Genética De *Listeria monocytogenes*
Isoladas Em Casos De Listeriose Humana, Alimentos e
Ambiente De Produção De Alimentos No Brasil**

/ Rosana Macedo de Almeida. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de
Medicina, 2023

108 f.; 31 cm

Orientador: Cristina Barroso Hofer e Deyse Christina Vallim da Silva
Tese (Doutorado) – UFRJ, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias, 2023.
Referências Bibliográficas: f. 83-93

1. *Listeria monocytogenes*. 2. Listeriose. 3. Doença transmitida por
alimentos 4. Contaminação de alimentos 5. Complexo clonal – Tese. I.
Hofer, Cristina Barroso II. Da Silva, Deyse Christina Vallim. III. Universidade
Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias. III.
Título.

Rosana Macedo de Almeida

**Tese submetida ao Curso de
Doutorado em Doenças
Infecciosas e Parasitárias da
Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Rio de
Janeiro, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor
em Doenças Infecciosas e
Parasitárias.**

Aprovação em: _____ / _____ / _____

BANCA EXAMINADORA

Presidente:

Professor Avaliador 1:

Professor Avaliador 2:

Professor Avaliador 3:

Professor Avaliador 4:

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as oportunidades concedidas a mim, e pela força nos momentos de fraqueza e dificuldades.

Ao meu Pai, minha Mãe (*in memoriam*) pelo carinho, oportunidade e incentivo aos estudos.

Aos amigos, que compreenderam a minha ausência em muitos momentos durante a conclusão desse projeto, em especial à minha amiga Bruna Guimarães por compartilharmos diversos momentos de estudo e escrita nos últimos meses.

À equipe da Assessoria Hemorrede (HEMORIO), por todo apoio, incentivo, carinho e compreensão neste período de conclusão concomitante ao desenvolvimento das minhas atividades na hemoterapia.

À minha orientadora, Doutora Cristina Barroso Hofer e à co-orientadora Doutora Deyse Christina Vallim da Silva, pela oportunidade, apoio, carinho, dedicação, ensinamento e amizade. Obrigada por compreender as minhas dificuldades ao longo desse trajeto, além de orientadoras, vocês foram um ombro amigo nos momentos mais difíceis.

Ao meu co-orientador Pedro Nunes Panzenhagen, pelo apoio, dedicação e ensinamentos.

Ao Doutor Ernesto Hofer, toda a minha gratidão e admiração. Felizes os que tiveram a oportunidade de ouvir suas histórias sobre as atividades na FIOCRUZ ao longo da sua jornada acadêmica. Eu escutaria cada um dos seus relatos mil vezes! Obrigada por compartilhar o seu vasto conhecimento com tanta simplicidade e serenidade no Laboratório de Zoonoses Bacterianas.

Aos amigos do Laboratório de Zoonoses Bacterianas Aline Campelo e Vanessa Rodrigues pela oportunidade do convívio e pela cooperação mútua durante estes anos. Ao meu amigo, Rodrigo Lisboa, pelo suporte, compartilhamento de documentos e dados no período de pandemia. Agradeço em especial ao Ricardo Junqueira, pela paciência, por compartilhar seus conhecimentos de bioinformática e dedicar seu tempo na busca e uso de ferramentas para estudar as cepas de *L. monocytogenes* da CLIST. Você foi essencial na conclusão desse projeto!

Aos professores da Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias agradeço pela dedicação e excelência da qualidade de ensino.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro. Finalizando, agradeço ao Instituto Oswaldo Cruz e à Fundação Oswaldo Cruz pelos recursos técnicos científicos ofertados para a execução deste trabalho. E, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização do mesmo.

São os sonhos que sustentam nossa persistência pela vida.
Mas o tempo passa, e é indispensável lembrar
que só existe o agora para tentar.

Itarcio A. L

RESUMO

VIRULOMA E RELAÇÃO GENÉTICA DE *Listeria monocytogenes* ISOLADAS EM CASOS DE LISTERIOSE HUMANA, ALIMENTOS E AMBIENTE DE PRODUÇÃO DE ALIMENTOS NO BRASIL

Rosana Macedo de Almeida

Orientadores: Dr^aCristina Barroso Hofer

Dr^aDeyse Christina Vallim da Silva

Dr Pedro Henrique Nunes Panzenhagen

Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas à Infectologia.

Listeria monocytogenes é um patógeno de origem alimentar que pode causar infecções graves em humanos, especialmente em grupos vulneráveis, como gestantes, recém-nascidos e imunocomprometidos. Neste estudo, um total de 72 cepas desta espécie foram obtidas de vários produtos alimentícios, ambientes de processamento de alimentos e fontes clínicas. As análises realizadas foram baseadas no sequenciamento do genoma total das cepas, permitindo verificar a composição do viruloma, as relações filogenéticas e a determinação do complexo clonal (CC) por *Multi-Locus Sequence Typing* (MLST). O estudo revelou a presença de 11 CC com a predominância do Complexo Clonal 3 (18 cepas), seguidos dos CCs: CC1 (15), CC2 (11), CC218 (10), CC9 (9), CC59 (2), CC155 (2), CC8 (2), CC7 (1), CC4 (1) e CC315 (1). Os complexos clonais CC1, CC3 e CC218 foram encontrados predominantemente em cepas oriundas de São Paulo e do Rio de Janeiro. Constituídos por cepas que apresentavam íntima relação filogenética, os CC3 e CC218 estavam envolvidos em surtos de listeriose hospitalar no RJ (2008) e SP (1992 e 1997), respectivamente. Também foi observada íntima relação filogenética no CC2, entre a cepa CLIST 4774 (sangue) e CLIST 4775 (queijo tipo ricota), ambas isoladas no mesmo ano e estado (RJ/2021). Duas cepas isoladas no Rio de Janeiro foram respectivamente caracterizadas como novos ST descritos no presente estudo e validados pelo Instituto Pasteur. A cepa CLIST 3980 pertence ao CC155 e ST 1434, já CLIST 2088 pertence ao CC3 e ST 1435, essa última estava envolvida no surto de listeriose hospitalar ocorrido em 2008 no Estado. A análise do viruloma revelou que *L. monocytogenes* possui um vasto repertório de genes de virulência. Neste estudo, os genes *inlG* e *inlL* foram característicos da linhagem II. A ilha de patogenicidade-1 (LIPI-1) foi observada em todas as cepas do estudo, enquanto a LIPI-3, LIPI-4 e gene *comK* foram observados majoritariamente nas cepas linhagem I que compõem 80% (58) das cepas do estudo e foram representadas pelos CC1, CC2, CC3, CC4, CC59, CC218 e CC315, revelando potencial de virulência superior ao observado nas cepas da linhagem II do estudo. Duas cepas da linhagem I apresentaram a LIPI-4, uma cepa do CC4 (ralo do ambiente de processamento de alimentos/2014/RS) e a outra cepa pertencia ao CC315 (alface/2010/SP), mostrando a presença de cepas de *L. monocytogenes* com tropismo pelo sistema nervoso central e placenta nos alimentos. Esse estudo evidenciou que diversas cepas dos complexos clonais CC1, CC2, CC3, CC9 e CC218 foram observadas e algumas delas apresentaram íntima relação filogenética mesmo quando isoladas em diferentes anos e estados.

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*, viruloma, complexo clonal, MLST

ABSTRACT

VIRULOME AND GENETIC RELATIONSHIP OF *Listeria monocytogenes* ISOLATED IN CASES OF HUMAN LISTERIOSIS, FOOD AND FOOD PRODUCTION ENVIRONMENT IN BRAZIL

Rosana Macedo de Almeida

Orientadores: Dr^aCristina Barroso Hofer

Dr^aDeyse Christina Vallim da Silva

Dr Pedro Henrique Nunes Panzenhagen

Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas à Infectologia.

Listeria monocytogenes is a food-borne pathogen that can cause severe infections in humans, especially in vulnerable groups such as pregnant women, newborns and immunocompromised. In this study, a total of 72 strains of this species were obtained from various food products, food processing environments and clinical sources. The analyses were based on the whole genome sequencing, allowing to verify the virulome characteristics, phylogenetic relationships and the determination of the clonal complex (CC) by Multi-Locus Sequence Typing (MLST). The study revealed the presence of 11 CC with the predominance of Clonal Complex 3 (18 strains), followed by CC: CC1 (15), CC2 (11), CC218 (10), CC9 (9), CC59 (2), CC155 (2), CC8 (2), CC7 (1), CC1 (1). The clonal complexes CC1, CC3 and CC218 were predominantly found in strains from São Paulo and Rio de Janeiro. Consisting of strains that had an intimate phylogenetic relationship, CC3 and CC218 were involved in outbreaks of hospital listeriosis in RJ (2008) and SP (1992 and 1997), respectively. A close phylogenetic relationship was also observed in CC2, between the strain CLIST 4774 (blood) and CLIST 4775 (ricotta cheese), both isolated in the same year and state (RJ/2021). Two strains isolated in Rio de Janeiro were respectively characterized as new ST described in this study and validated by the Pasteur Institute. The CLIST 3980 strain belongs to CC155 and ST 1434, while CLIST 2088 belongs to CC3 and ST 1435, the latter was involved in the outbreak in 2008. Virulome analysis revealed that *L. monocytogenes* has a vast repertoire of virulence genes. In this study, *inlG* and *inlL* genes were characteristic of lineage II.

The pathogenicity-1 island (LIPI-1) was observed in all strains of the study, while LIPI-3, LIPI-4 and *comK* gene were observed mostly in strains I that make up 80% (58) of the strains of the study and were represented by CC1, CC2, CC3, CC4, CC59, CC218 and CC315 potential of virulence higher than that observed in strains of lineage II. Two lineage I strains showed LIPI-4, one strain of CC4 (food processing environment drain/2014/RS) and the other strain belonged to CC315 (lettuce/2010/SP) showing the presence of *L. monocytogenes* strains with tropism by the central nervous system and placenta isolated from food. This study showed that several strains of the clonal complexes CC1, CC2, CC3, CC9 and CC218 were observed and some of them showed close phylogenetic relationships even when isolated in different years and states.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, virulome, clonal complex, MLST

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	1
RESUMO	4
ABSTRACT	5
SUMÁRIO	6
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	8
LISTA DE ILUSTRAÇÕES, QUADROS E TABELAS	10
1. REVISÃO DA LITERATURA	13
1.1. Listeriose	13
1.2. Manifestações Clínicas da Listeriose	14
1.3. One Health e Surtos Listeriose de Grande Repercussão	15
1.4. Características do Gênero	18
1.5. Taxonomia do gênero Listeria	20
1.6. Características Bioquímicas	25
1.7. Caracterização antigênica	26
1.8. Características Filogenéticas de L.monocytogenes	29
1.9. Patogenicidade e Viruloma de L. monocytogenes	32
2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	48
3. OBJETIVOS	49
4. MATERIAL E MÉTODOS	50
a. Cepas Bacterianas	50
b. Sequenciamento do Genoma Total de L.monocytogenes	51
c. Tipificação das cepas	52
d. Viruloma de L.monocytogenes	52
5. RESULTADOS	53
5.1. Caracterização das cepas de L. monocytogenes	53
5.2. Tipificação Molecular das cepas L. monocytogenes	56
5.3. Viruloma de L. monocytogenes	64
5.3.1. Ilhas de Patogenicidade	66
5.3.2. Internalinas	68
5.3.3. Aderência Bacteriana (ami, dltA, fbpA, lap, lapB)	69
5.3.4. Invasão (aut , aut IVb , cwhA , lpeA , vip)	70
5.3.5. Sobrevivência intracelular (hpt, lplA1, oppA, prsA2, purQ e svpA)	71
5.3.6. Regulação da transcrição e tradução (agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR e virS)	71
5.3.7. Ancoragem de Proteínas de Superfície (lgt, lspA, srtA, srtB)	71
5.3.8. Modulação Imune (intA) e modificação de peptidoglicano (oatA, pdgA)	72
5.3.9. Resistência à Bile (bsh e mdrM)	72
5.3.10. Formação de Biofilme e Virulência (comK)	72

6. DISCUSSÃO	74
7. CONCLUSÕES	81
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
9. ANEXOS	94
9.1. ANEXO 1	94

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

actA: gene da proteína polimerizadora de actina

ActA: proteína polimerizadora da cauda de actina

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC: *American Type Culture Collection*

CAMP: Teste de Christie, Atkins e Munch-Petersen

CC: Complexo Clonal

CDC: *Centers for Diseases Control and Prevention*

CDC: citolisinas dependentes de colesterol

CLIST: Coleção de Culturas de *Listeria*

DNA: ácido desoxirribonucléico (do inglês *deoxyribonucleic acid*)

DTA: Doença Transmitida por Alimentos

EUCAST: *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

EUA: Estados Unidos da América

FAO: Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (do inglês: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*)

FDA: *Food and Drug Administration*

Fiocruz: Fundação Oswaldo Cruz

HIV: vírus da imunodeficiência humana (do inglês *human immunodeficiency virus*)

hly: gene da listeriolisina O

Hpt: hexose fosfato transporter

inIA: gene codificador da internalina A

InIA: proteína internalina A

inIB: gene codificador da internalina B

InIB: proteína internalina B

inIC: gene codificador da internalina C

InIC: proteína internalina C

IOC: Instituto Oswaldo Cruz

LACEN: Laboratório Central de Saúde Pública

LCR: Líquido cefalorraquidiano

LIPI-1: ilha de patogenicidade de *Listeria*-1

LIPI-3: ilha de patogenicidade de *Listeria*-3

LIPI-4: ilha de patogenicidade de *Listeria*-4

LLO: listeriolisina O

LLS: Listeriolisina S

LPXTG: domínio hidrofóbico conservado presente em diversas proteínas de superfície de bactérias Gram-positivas. É constituído dos aminoácidos leucina (L), prolina (P), qualquer outro aminoácido (X), treonina (T) e glicina (G).

LRR: *leucine-rich repeat*

MPL: metaloprotease

OMS: Organização Mundial da Saúde

PC-PLC: fosfatidil-colina fosfolipase C

PCR: reação em cadeia da polimerase (do inglês *polymerase chain reaction*)

pH: potencial hidrogeniônico

PI-PLC: fosfatidil-inositol fosfolipase C

plcA: gene da fosfatidil-inositol fosfolipase C

plcB: fosfatidil-colina fosfolipase C

prfA: gene regulador transcricional

PrfA: regulador transcricional

rRNA: ácido ribonucléico ribossomal

WGS: sequenciamento do genoma total (do inglês *whole genome sequencing*)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, QUADROS E TABELAS

Figura 1.	Dendrograma de cluster hierárquico UPGMA com base na análise de explosão de identidade de nucleotídeo média (ANIb) das espécies de <i>Listeria</i> realizado por Carlin e colaboradores (2021).	24
Figura 2.	Genes de patogênese e virulência envolvidos na infecção por <i>L. monocytogenes</i> em células humanas	34
Figura 3.	Árvore Filogenética das 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> sequenciadas utilizando o Programa Jolytree versão 2.1.211019ac	59
Figura 4.	Distribuição dos complexos clonais nas 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> segundo a fonte de isolamento	60
Figura 5.	Distribuição dos complexos clonais nas 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> conforme o isolado clínico, alimentar ou ambiental	60
Figura 6.	Distribuição das 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> de acordo com o Estado	61
Figura 7.	Distribuição das 18 cepas do Complexo Clonal 3 de <i>L. monocytogenes</i> de acordo com o ano de isolamento	61
Figura 8.	Árvore Filogenética das 18 cepas de <i>L. monocytogenes</i> sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 3 (Programa Jolytree versão 2.1.211019ac)	62
Figura 9.	Distribuição das 15 cepas do Complexo Clonal 1 de <i>L. monocytogenes</i> de acordo com o ano de isolamento	62
Figura 10.	Árvore Filogenética das 15 cepas de <i>L. monocytogenes</i> sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 1 (Programa Jolytree versão 2.1.211019ac)	63
Figura 11.	Árvore Filogenética das 11 cepas de <i>L. monocytogenes</i> sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 2 (Programa Jolytree versão 2.1.211019ac)	63
Figura 12.	Distribuição das 10 cepas do Complexo Clonal 218 de <i>L. monocytogenes</i> de acordo com o ano de isolamento	63

Figura 13.	Árvore Filogenética das 10 cepas de <i>L. monocytogenes</i> sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 218 (Programa Jolytree versão 2.1.211019ac)	64
Figura 14.	Árvore Filogenética das cepas de <i>L. monocytogenes</i> sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 9 (Programa Jolytree versão 2.1.211019ac)	64
Figura 15.	Viruloma das 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> utilizando o banco de BIGsdb-LM do Instituto Pasteur, Paris	65
Figura 16.	Distribuição das 21 cepas de <i>L. monocytogenes</i> positivas para LIPI-3 de acordo com os respectivos Complexos Clonais, Estado e Ano de Isolamento	67
Figura 17.	Frequência dos genes codificadores de internalinas 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i>	68
Figura 18.	Frequência dos genes codificadores internalinas D, G, J e L nas 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i>	69
Figura 19.	Frequência dos genes <i>dltA</i> , <i>fbpA</i> , <i>lap</i> e <i>lapB</i> nas 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> envolvidos na aderência bacteriana ao hospedeiro	69
Figura 20.	Frequência da presença do gene <i>ami</i> em 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> quanto ao Complexo Clonal e a fonte de isolamento	70
Figura 21.	Presença dos genes <i>aut</i> e <i>aut_IVb</i> nas 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> segundo os complexos clonais	71
Figura 22.	Presença do gene <i>comK</i> nas linhagens I e II e complexos clonais de 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i>	73
Quadro 1.	Principais surtos de listeriose descritos mundialmente desde 1981	17
Quadro 2.	Características bioquímicas das espécies do gênero <i>Listeria</i>	26
Quadro 3.	Caracterização antigênica dos sorotipos de <i>L. monocytogenes</i>	28
Quadro 4.	Sorogrupos moleculares segundo Doumith e colaboradores (2004)	28

Quadro 5.	Resumo das linhagens de <i>L. monocytogenes</i>	30
Quadro 6.	Distribuição dos complexos clonais nas linhagens genéticas I e II de <i>L. monocytogenes</i> mais comumente observados na literatura mundial	32
Quadro 7.	Lista dos genes de virulência abordados no estudo e suas respectivas funções	45
Tabela 1.	Distribuição das 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i> em diferentes anos e Estados	54
Tabela 2.	Distribuição das 43 cepas clínicas de <i>L. monocytogenes</i> de acordo com os espécimes clínicos	55
Tabela 3.	Distribuição das 3 cepas de <i>L. monocytogenes</i> isoladas em ambiente de processamento de alimentos	55
Tabela 4.	Distribuição das 26 cepas de <i>L. monocytogenes</i> isoladas de alimentos	56
Tabela 5.	Distribuição clonal das cepas clínicas de <i>L. monocytogenes</i> isoladas de uma unidade hospitalar no Rio de Janeiro em 2008	62
Tabela 6.	Presença dos genes constituintes da LIPI-3 em 41 cepas de <i>L. monocytogenes</i>	67
Tabela 7.	Distribuição do gene <i>comK</i> nos Complexos Clonais de 72 cepas de <i>L. monocytogenes</i>	73

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Listeriose

As zoonoses, ou doenças de origem animal, são caracterizadas como doenças transmitidas entre os animais e humanos, como consequência de um contato direto e/ou indireto com ou sem o envolvimento do meio ambiente e através da alimentação (EFSA, 2016). Em 1950, houve a primeira reunião de um grupo de especialistas em Zoonoses formado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), identificando uma lista de 86 doenças transmitidas por animais para humanos, das quais, 20 dessas doenças foram causadas por bactérias. Existem diversos mecanismos de transmissão das zoonoses e algumas doenças são transmitidas por diversas vias. A via de transmissão de uma zoonose se dá por meio de vetores (carrapatos, pulgas, mosquitos, dentre outros), arranhões ou mordidas, contato direto (trabalhadores de abatedouro, agricultores, fazendeiros, veterinários), fezes de animais, solo, água (Chlebicz & Slizewska, 2018).

A listeriose humana é uma zoonose de natureza bacteriana causada por *Listeria monocytogenes* e pode ser transmitida por alimentos contaminados, contato direto de animais infectados ou por transmissão cruzada no ambiente hospitalar. A transmissão para o homem através do contato direto com animais infectados, apesar de rara, foi relatada em 17 casos na literatura mundial acometendo veterinários e fazendeiros que desenvolveram lesões cutâneas (McLauchlin, 1996).

A principal forma de transmissão da bactéria é através do consumo de alimentos contaminados, por esse motivo, a listeriose é conhecida quase exclusivamente como uma Doença Transmitida por Alimentos (DTA). *L. monocytogenes* foi detectada em ampla variedade de alimentos de origem animal e vegetal que tem sido implicados na ocorrência de casos esporádicos e surtos de listeriose no mundo (Cruz et al., 2008; Vallim et al., 2015; Chlebicz & Slizewska, 2018).

Outra forma de transmissão é a contaminação cruzada durante o período neonatal. Na maioria dos relatos, as mãos dos profissionais de saúde, os equipamentos, as salas de parto e as enfermarias foram associados aos casos de listeriose (Schuchat et al., 1991; Tortajada et al., 2012). A forma de transmissão entre humanos pode ser representada pela transmissão vertical, entre mãe e filho

por via transplacentária ou através do canal vaginal no momento do parto. Nesses casos, a mãe foi previamente infectada pela ingestão de alimentos contaminados com *L. monocytogenes* (Tourdjaman, Laurent & Leclercq, 2014).

1.2. Manifestações Clínicas da Listeriose

A listeriose é uma doença relativamente rara, que varia de 0,1 a 10 casos/100 mil pessoas por ano, dependendo da região mundial. Apesar de apresentar baixa incidência, é uma das doenças mais graves transmitidas por alimentos e com letalidade em torno de 20 a 30% dos casos, o que ressalta a sua importância para a saúde pública no mundo (Cruz *et al.*, 2008; Who, 2018).

A listeriose pode se manifestar de duas formas: invasiva e não-invasiva. A forma não-invasiva ocorre predominantemente em indivíduos imunocompetentes, após a ingestão de grande inóculo bacteriano e, geralmente, tem a duração de 1 a 3 dias, podendo se estender por até uma semana. A doença manifesta-se como uma gastroenterite, evidenciando quadros de diarreia, náuseas, vômito, mialgia e febre (Tourdjman & Laurent & Leclercq, 2014).

A forma invasiva da listeriose tem como principal grupo de risco, idosos, gestantes, recém-nascidos e indivíduos imunocomprometidos. Os indivíduos com doença hematológica, câncer sólido, diabetes, transplante, doença auto imune, infecção por HIV, pacientes em diálise, em uso de imunossupressor, quimioterapia ou corticosteróides, são os que apresentam o risco cerca de 1000 vezes maior de desenvolver a listeriose invasiva, quando comparado a um indivíduo saudável com idade inferior a 65 anos. Já na gravidez, o risco varia entre 100 e 1000 vezes. O período de incubação da forma invasiva varia de 3 a 70 dias e resulta em quadros clínicos severos como bacteremia, meningoencefalite, meningite, septicemia, parto prematuro, aborto, peritonite, endocardite e abscesso hepático (Goulet *et al.*, 2012; Schlech, 2019).

Ressalta-se a relevância da listeriose durante a gestação, nesse caso, a infecção invasiva pode ocasionar parto prematuro, aborto espontâneo e morte intrauterina. Além disso, os neonatos podem desenvolver meningite e septicemia ao nascer. O período de incubação pode variar entre 17 a 70 dias (Dalton *et al.*, 2011;

Silk et al., 2012; Goulet et al., 2013; De Noordhout et al., 2014; Tourdjman, Laurent & Leclercq, 2014). Na maioria das vezes, as gestantes são assintomáticas e não apresentam outra condição de risco além da listeriose. Todavia podem apresentar manifestações clínicas podem se iniciar com sintomas semelhantes aos de um resfriado, apresentando quadros febris, vômito, diarreia, dores abdominais e dores musculares (Charlier-Woerther & Lecuit, 2014; Allenberger & Hunulescu, 2015; Fouks et al., 2018; Freitag et al., 2021).

1.3. One Health e Surtos Listeriose de Grande Repercussão

O conceito *One Health* (Saúde Única) é uma abordagem ampla de saúde, baseada na integração da saúde humana, animal e ambiental com a finalidade de promover a saúde, manutenção da biodiversidade e o equilíbrio dos ecossistemas. Tal abordagem busca um sistema de controle de zoonoses mais eficiente, e conseqüentemente, melhorias na saúde da população animal e humana. A abordagem *One Health* envolve diversas disciplinas como a segurança alimentar, saúde pública, economia da saúde, saúde do ecossistema, ciências sociais e a saúde animal para abordar problemas de saúde complexos (Xie et al., 2017).

Diversas zoonoses de importância na saúde pública são transmitidas por alimentos e, na ausência do conhecimento sobre a incidência, a carga microbiana causadora das doenças e as combinações específicas patógeno-produtos alimentícios, é difícil delimitar quais os perigos de origem alimentar e as medidas de controle devem ser postas em vigor pelos respectivos produtores e órgãos responsáveis. *L. monocytogenes* é amplamente adaptada a diferentes ecossistemas (por exemplo, rios, lagos, água do mar, esgoto, solo, plantas, plantas em decomposição, forragem, silagem, efluentes agrícolas), uma variedade de alimentos e hospedeiros de diversas espécies, o que torna o micro-organismo um importante modelo da abordagem *One Health* para doenças infecciosas, pois reconhece a interconexão entre a saúde humana, a saúde animal e os ecossistemas ambientais. (Loutox, Milohani & Bierne, 2022; Boqvist, Söderqvist & Vagsholm, 2018).

A primeira descrição de um grande surto de listeriose de origem alimentar ocorreu no Canadá entre março e setembro de 1981. Houve 41 casos de listeriose invasiva (34 perinatais e 7 adultos) e alta mortalidade (27% perinatal e 28,6% casos

adultos). Schleh e colaboradores (1983) realizaram um estudo caso-controle para investigar as origens da epidemia e mostraram que a salada de repolho estava contaminada com *L. monocytogenes* sorotipo 4b e, portanto, era o alimento responsável pela propagação da epidemia. Durante a investigação, também foi determinado que os campos de repolho foram fertilizados com esterco de ovelha, que é portador dos mesmos microrganismos. A partir desta publicação, foi possível vincular os alimentos ao principal veículo da listeriose e salientar a importância do patógeno no cenário das doenças de origem alimentar (Schleh et al., 1983; Schichat, Swaminathan & Broome, 1991; Hof, 2003).

A partir dos anos 2000 diversos surtos de listeriose alcançaram maior evidência na perspectiva da saúde pública mundial. Nos Estados Unidos, em 2011, a contaminação do melão do tipo cantaloupe levou a um grande surto de listeriose afetando consumidores em 28 estados, com 147 casos registrados, 33 mortes e 1 aborto espontâneo (CDC, 2011).

Em dezembro de 2014, 11 estados dos EUA relataram surtos relacionados ao consumo de maçãs carameladas. Trinta e cinco pessoas foram infectadas com *L. monocytogenes*, 34 foram hospitalizadas e 7 morreram. Onze casos de listeriose foram registrados em gestantes, sendo um deles acompanhado de aborto espontâneo. Três casos de meningite também foram relatados em 29 crianças saudáveis de 5 a 15 anos. Do total de infectados, 28 relataram comer maçãs carameladas pré-embaladas. A análise microbiológica do ambiente de processamento de maçãs da empresa responsável confirmou a contaminação por *L. monocytogenes* com o mesmo perfil de PFGE (do inglês *pulsed field gel eletrophoresis*) das maçãs carameladas envolvidas no surto (CDC, 2014).

Em 2018, a África do Sul enfrentou o maior surto de listeriose já registrado, com 1.060 casos e 216 mortes. O alimento identificado como responsável foi um produto cárneo processado pronto para consumo chamado Polony, que é amplamente consumido na região (Smith et al., 2019). No Quadro 1, encontram-se listados os principais surtos de listeriose relatados mundialmente até os dias atuais.

No Brasil, diversos estudos demonstram a presença de *L. monocytogenes* em ambiente de processamento de alimentos e em produtos alimentícios, mas pouco se sabe sobre a incidência de listeriose humana e descrição de surtos, provavelmente devido à ausência de uma vigilância e sistema de notificação eficientes (Camargo et al., 2017). Em 2010, Martins e colaboradores relataram um surto de listeriose que

afetou 6 idosos internados no Rio de Janeiro. Uma investigação epidemiológica atribuiu a cozinha do hospital como possível fonte de contaminação (Martins et al., 2010).

Quadro 1. Principais surtos de listeriose descritos mundialmente desde 1981

Ano	País	Casos (óbitos)	Alimento envolvido
1999	Estados Unidos	4 (ND)	Cachorro-quente
2000	Estados Unidos	30 (ND)	Frios
2000	Estados Unidos	13 (ND)	Queijo fresco
2001	Estados Unidos	6 (ND)	Frios
2001	Japão	38 (ND)	Queijo
2002	Estados Unidos	54 (ND)	Frios
2003	Estados Unidos	12 (ND)	Queijo fresco
2003	Estados Unidos	3 (ND)	Desconhecido
2004-2007	Estados Unidos	135 (22)	Queijo fresco
2006	Suíça	8 (3)	Queijo “tomme”
2007	Estados Unidos	5 (3)	Leite pasteurizado aromatizado
2007	Noruega	17 (3)	Queijo camembert
2007	Estados Unidos	5 (3)	Leite pasteurizado
2008	Canadá	57 (22)	Alimento pronto para consumo
2008	Estados Unidos	5 (3)	Salada de atum
2008	Canadá	57 (24)	Carne processada
2009	Austrália	36 (4)	Carne de frango
2009	Dinamarca	8 (2)	Carne bovina
2010	Austrália	9 (2)	Melão
2010	Estados Unidos	10 (5)	Aipo em cubos
2011	Estados Unidos	147 (33)	Melão cantaloupe
2012	Estados Unidos	22 (4)	Queijo ricota
2013	Estados Unidos	6 (1)	Queijo
2014	Estados Unidos	8 (1)	Queijo

Ano	País	Casos (óbitos)	Alimento envolvido
2014	Estados Unidos	32 (7)	Maçãs carameladas
2015	Estados Unidos	10 (3)	Sorvete
2015	Estados Unidos	30 (3)	Queijo
2016	Estados Unidos	19 (1)	Saladas embaladas
2016	Estados Unidos	9 (3)	Vegetais congelados
2018	África do Sul	1060 (216)	Carne processada (Polony)
2019	Estados Unidos	8 (1)	Carne processada e queijo

Adaptado de Camargo et al., 2015b e CDC, 2019a
 ND: não determinado

1.4. Características do Gênero

O gênero *Listeria* é constituído por bactérias Gram-positivas em forma de pequenos bastonetes e/ou cocobacilos de 0.4 a 0.5µm de diâmetro e 0.5 a 2.0µm de comprimento, não formadoras de esporos e cápsulas. São micro-organismos anaeróbios facultativos, fermentadores da glicose, catalase positivos, capazes de se multiplicar em temperaturas entre 1 e 45°C, pH entre 6 e 9 e suportar concentrações de até 20% de cloreto de sódio (Schuchat, Swaminathan & Broome, 1991; Rocourt & Buchrieser, 2007).

A faixa ótima de crescimento de *Listeria* situa-se entre 30 e 37°C, no entanto, quando as culturas são incubadas em meio semi-sólido incolor entre 20 e 30°C, visualiza-se o crescimento em forma de “guarda-chuva” nas espécies móveis do gênero: *L.monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.innocua*, *L.welshimeri*, *L.seeligeri*, *L.grayi*, *L.marthii*, *L. cossartiae*, *L. cayugensis*, *L. farberi*. A espécie *L. costaricensis* apresenta mobilidade somente a 37°C. Já as espécies *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. cornellensis*, *L. riparia*, *L. rustica*, *L. portnoyi*, *L. grandensis*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. goaensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis*, *L. booriae*, *L. thailandensis*, *L.*

valentina e *L. immobilis* naturalmente imóveis, o crescimento fica restrito no ponto de picada do inóculo (McLauchlin & Rees, 2015; Weller, 2015; Carlin et al., 2021).

Os membros do gênero apresentam bom crescimento em Ágar Sangue de Cavalo/Carneiro a 5% e após a incubação por 24 horas, suas colônias são branco-acinzentadas, convexas e podem ou não, evidenciar uma zona de hemólise do tipo beta. Quando crescidas em meios incolores as colônias são transparentes, brilhantes e acinzentadas sob iluminação direta e apresentam uma tonalidade azul-esverdeada quando observadas sob iluminação oblíqua ou pela técnica de Henry (Schuchat, Swaminathan & Broome, 1991).

As espécies do gênero encontram-se amplamente distribuídas no meio ambiente e podem ser isoladas de diversas fontes como do solo, águas superficiais (rios, lagos), vegetação, efluentes de esgoto, hortaliças, frutos, em fezes de humanos e animais. Dentre os animais, *Listeria* spp. foi detectada em várias espécies, incluindo ruminantes, suínos, equinos, cães e diversas espécies de aves (Hofer & Reis, 2005). Devido à natureza ubiquitária e favorecida pela capacidade de sobreviver e multiplicar-se em temperatura de refrigeração, algumas espécies de *Listeria* podem ser isoladas de diversos alimentos, como os vegetais crus, alimentos prontos para o consumo, carnes mal cozidas, charcutarias, frutos do mar e laticínios. Quanto aos alimentos armazenados sob refrigeração, se destaca o risco potencial à saúde do consumidor devido ao caráter psicotrófico do gênero, pois a maioria da microbiota presente nos alimentos tem sua taxa metabólica reduzida, ou mesmo inibida, e favorece a multiplicação de *Listeria*. Logo, a veiculação da *Listeria* por meio de classes de alimentos, representa uma importante ameaça da saúde pública e na segurança alimentar para a indústria de alimentos (Ryser & Marth, 2007, Mazaheri et al., 2021).

1.5. Taxonomia do gênero *Listeria*

O gênero *Listeria* pertence à família *Listeriaceae*, ordem *Bacillales*, classe *Bacilli* e ao filo *Firmicutes*. Apresenta baixo conteúdo guanina-citosina (32 a 46%) e está filogeneticamente relacionado aos gêneros *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Enterococcus* (Vázquez-Boland et al., 2001; Buchrieser & Rocourt, 2007).

A descrição do primeiro isolamento de *L. monocytogenes* ocorreu em 1926, quando Murray, Webb e Swann publicaram uma investigação sobre uma doença em coelhos e cobaias do biotério da Universidade de Cambridge, na Inglaterra. Naquela ocasião, propuseram o nome *Bacterium monocytogenes* para o novo micro-organismo, capaz de provocar uma significativa monocitose circulante nos animais infectados (Murray, Webb & Swann, 1926).

No ano seguinte, Pirie (1927) isolou um micro-organismo obtido de fígado de roedores e o nomeou *Listerella hepatolytica*, homenageando o cirurgião Lord Lister, responsável pela introdução das técnicas assépticas de cirurgia. Em 1940, Pirie observou características semelhantes àquela bactéria isolada por Murray e colaboradores, reconhecendo que o gênero havia sido descrito anteriormente. No mesmo ano, Pirie modifica a denominação do gênero para *Listeria*, porque *Listerella* seria a nomenclatura de um gênero de protozoário descrito anteriormente (Pirie, 1940; Doyle, 1989; Farber & Peterkin, 1991).

Após a descrição do micro-organismo, *L. monocytogenes* foi isolada primeiramente em humanos na Dinamarca em 1929, portadores de um quadro de monocitose circulante, tal como, constatado anteriormente por Murray e colaboradores (1926) nos animais infectados (Gray & Killinger, 1966; Farber & Peterkin, 1991). Em 1931, a bactéria foi isolada de cérebros de ovelhas por Gill (1937) e a relação entre a doença que acometeu um rebanho de ovelhas na Nova Zelândia e *L. monocytogenes* foi estabelecida. Dois anos depois, os três primeiros casos de infecções fatais em dois recém nascidos e um adulto foram descritos em 1933 na Universidade de Yale, nos

Estados Unidos. E a partir daí, diversos casos de listeriose animal e humana foram descritos na literatura mundial (Burn, 1936; Gill, 1937).

Devido à similaridade existente entre cepas isoladas do gênero *Listeria*, acreditava-se que o mesmo era composto somente pela espécie *L. monocytogenes*. No entanto, os estudos sobre as distintas características antigênicas somáticas e flagelares do gênero *Listeria* iniciados na década de 1940 por Paterson (1940) e Julianelle (1941) somados aos estudos de Donker-Voet em 1959 e de Seeliger & Höhne em 1979, permitiram a caracterização da espécie em sorogrupos e sorotipos. (Seeliger & Höhne, 1979; Hofer & Hofer, 2013).

Em 1948, Sohier e colaboradores descreveram *Listeria denitrificans*, uma bactéria muito semelhante à *L. monocytogenes* em sangue de carne cozida (Sohier et al., 1948 apud Hof, 2003).

No decorrer dos anos, outras espécies do gênero foram descritas como *Listeria grayi*, isolada de fezes de roedor em 1966; *Listeria murrayi* isolada da vegetação em 1971; e em 1980 foi descrita a espécie *Listeria ivanovii* isolada de casos de abortos em ovelhas em 1970 (FARBER & Peterkin, 1991; Hofer & Hofer, 2013). Em 1981, utilizando testes fenotípicos, incluindo a caracterização antigênica, foi descrita a espécie *Listeria innocua*, assim denominada por ser não patogênica e isolada do meio ambiente, de portadores humanos e animais saudáveis. Em 1982, foram relatadas duas novas espécies: *Listeria seeligeri* e *Listeria welshimeri* (Stuart & Welshimer, 1973; Rocourt & Seeliger, 1985).

Com o surgimento da biologia molecular, a partir de 1973 foi possível realizar estudos de hibridização de ácido desoxirribonucléico (DNA) e evidenciar a heterogeneidade genética existente no gênero *Listeria* (Stuart & Welshimer, 1973). Em 1983, os estudos de hibridização de DNA de Rocourt e colaboradores permitiram a classificação e confirmação do gênero *Listeria* em cinco espécies distintas, *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. seeligeri* (Rocourt et al., 1983). Desde então, a taxonomia do gênero sofreu diversas modificações. A espécie *L. denitrificans*, descrita em 1948 foi excluída do gênero *Listeria* e foi descrita como um membro do gênero *Jonesia* (Stuart & Welshimer, 1973; Rocourt, Wehmeyer & Stackebrandt, 1987). Em 1992, as espécies *L. grayi* e *L. murrayi*, por

apresentarem uma grande similaridade genômica, foram unidas em uma única espécie denominada *L. grayi*. Ainda no mesmo ano, Boerlin e colaboradores propuseram a classificação de *L. ivanovii* em duas subespécies: *L. ivanovii* subespécie *ivanovii* e *L. ivanovii* subespécie *londoniensis* (Rocourt et al., 1992; Boerlin et al., 1992).

A constituição do gênero não foi modificada, até que em 2010, duas espécies foram descritas. *Listeria marthii*, foi isolada do solo e água de uma floresta nos Estados Unidos e *Listeria rocourtiae*, foi isolada de alface pré-cortada na Áustria (Graves et al., 2010; Leclercq et al., 2010). Em 2013, Bertsch e colaboradores descreveram a espécie *Listeria fleischmannii* isolada a partir de queijos na Suíça, e Lang Halter e colaboradores descreveram *Listeria weihenstephanensis* isolada de uma planta aquática no sudeste da Alemanha. No mesmo ano, den Bakker e colaboradores propuseram a classificação das cepas de *L. fleischmannii* em duas subespécies: *L. fleischmannii* subespécie *fleischmannii* e *L. fleischmannii* subespécie *coloradonensis*.

No ano de 2014, cinco novas espécies foram isoladas de amostras ambientais de água dos estados do Colorado e Flórida, nos Estados Unidos: *Listeria floridensis*, *Listeria aquatica*, *Listeria cornellensis*, *Listeria riparia* e *Listeria grandensis* (Den Bakker et al., 2014). Em 2015, foram descritas as espécies *Listeria booriae* e *Listeria newyorkensis* isoladas de ambientes de processamento de alimentos nos EUA (Weller et al., 2015). No ano de 2018 duas novas espécies foram descritas, *Listeria costaricensis* foi isolada de um sistema de drenagem de processamento de alimentos na Costa Rica e *Listeria goaensis* isolada de manguezal no estado de Goa, na Índia (Núñez-Montero et al., 2018; Doijad et al., 2018). Na Tailândia, a nova espécie *Listeria thailandensis* foi isolada de alimentos em 2019 (Leclercq et al., 2019). Em 2020, *Listeria valentina* foi isolada do ambiente de uma fazenda de criação de animais em Valência, na Espanha (Quereda et al., 2020). Mais recentemente, em as espécies *Listeria farberi*, *Listeria immobilis*, *Listeria ilorinensis*, *Listeria swaminathanii*, *Listeria portnoyi*, *Listeria rustica*, *Listeria cossartiae* subespécie *cossartiae* e *Listeria cossartiae* subespécie *cayugensis* foram descritas a partir de cepas isoladas

de amostras de água proveniente da agricultura e ambientes naturais nos EUA (Carlin et al., 2021; Raufu et al., 2022; Carlin et al., 2022).

Orsi e colaboradores separaram as espécies em dois grandes grupos fenotipicamente e genotipicamente distintos: *Listeria* sensu lato e *Listeria* sensu stricto, totalizando 30 espécies e 8 subespécies conforme observado na Figura 1 (Orsi & Wiedmann, 2016; Carlin et al., 2021; Lourenço et al., 2022). O grupo sensu lato é composto por espécies saprófitas presentes no ambiente e inclui *L. grayi* (subsp. *grayi* e *murrayi*), *L. rocourtiae*, *L. fleischmannii* (subsp. *fleischmannii* e *coloradonensis*), *L. weihenstephanensis*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. cornellensis*, *L. riparia*, *L. grandensis*, *L. boriae*, *L. newyorkensis*, *L. costaricensis*, *L. ilorinensis*, *L. goaensis*, *L. thailandensis*, *L. valentina*, *L. portnoyi* e *L. rustica*. O grupo *Listeria* sensu stricto inclui as espécies *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. marthii*, *L. farberi*, *L. immobilis*, *L. cossartiae* (subsp. *cossartiae* e *cayugensis*), *L. swaminathanii*, e as duas espécies patogênicas de *Listeria*: *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* (subsp. *ivanovii* e *londoniensis*). Essas duas espécies são conhecidas por serem patogênicas tanto para humanos quanto para animais, no entanto, *L. ivanovii* é predominante em ovelhas e bovinos e raramente acomete o homem (Cummins et al., 1994, Vázquez-Boland et al., 2001, Guillet et al., 2010).

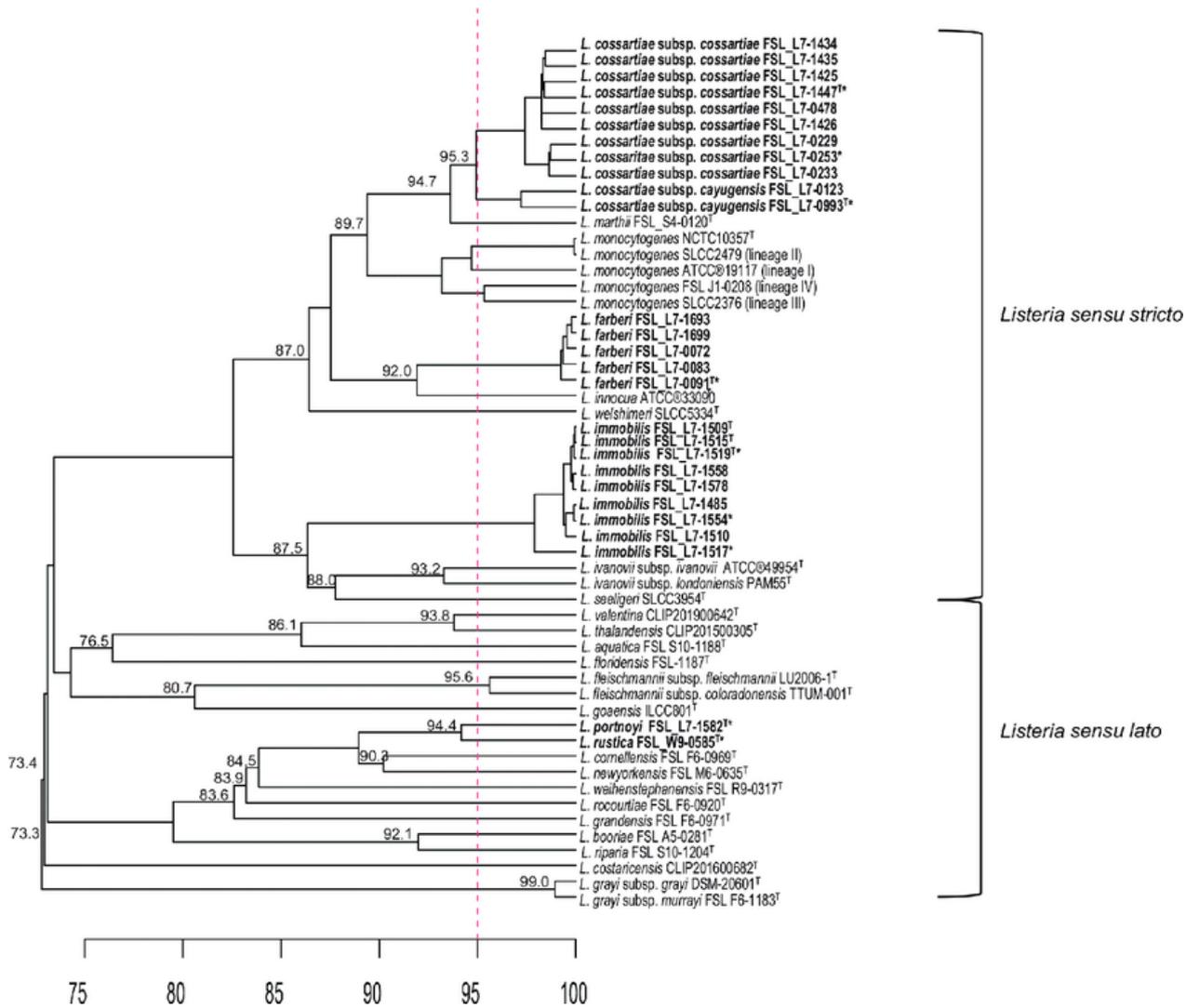


Figura 1. Dendrograma de cluster hierárquico UPGMA com base na análise de explosão de identidade de nucleotídeo média (ANIb) das espécies de *Listeria* realizado por Carlin e colaboradores (2021).

1.6. Características Bioquímicas

A identificação bioquímica das espécies do gênero *Listeria* é realizada por meio de testes de fermentação de açúcares, como a D-xilose, D-manitol, α -metil-D-manosídeo e L-ramnose, somada a observação da hemólise. As espécies *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* são β -hemolíticas, ou seja, apresentam uma reação de hemólise total em ágar sangue de carneiro ou ágar sangue de equino formando uma zona de hemólise, que se apresenta notoriamente mais acentuada na espécie *L. ivanovii*. *L. seeligeri* pode ou não apresentar uma reação de hemólise fraca, e as outras espécies do gênero não são hemolíticas (Quadro 2) (Buchrieser & Rocourt, 2007).

O teste de Christie-Atkins-Munch-Perteson (CAMP) detecta reações sinérgicas das hemolisinas de *Listeria* spp. com a β -toxina de *Staphylococcus aureus* e com o exofator de *Rhodococcus equi*. *L. monocytogenes* apresenta reação positiva com *S. aureus* e negativa com *R. equi*, enquanto *L. ivanovii* tem a reação inversa, isto é, reação positiva com *R. equi* e reação negativa com *S. aureus*. Já a espécie *L. innocua* apresenta reação negativa no teste de CAMP para os dois micro-organismos, fato que permite diferenciá-la da espécie *L. monocytogenes*, pois as duas espécies apresentam similaridade quanto ao perfil de fermentação dos açúcares. As demais espécies apresentam teste de CAMP negativo, no entanto *L. seeligeri* pode apresentar reação de CAMP positiva para *S. aureus* e negativa para *R. equi* (Mc Kellar, 1994).

Quadro 2. Características bioquímicas das espécies do gênero *Listeria*

Espécies	Hemólise ^a	Motilidade	Ácido sem gás ^b				Teste de CAMP	
			D-xilose	D-manitol	α-D-Manosídeo	L-ramnose	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	-	+	+	+	+/-
<i>L. ivanovii</i>	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>L. innocua</i>	-	+	-	-	+	+/-	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	+	+	-	+	+/-	-	-
<i>L. seeligeri</i>	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>L. grayi</i>	-	+	-	+	+	-	-	-
<i>L. marthii</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>L. rocourtiae</i>	-	-	+	+	+	+	-	-
<i>L. fleischmannii</i>	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>L. weihenstephanensis</i>	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>L. cornellensis</i>	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>L. riparia</i>	-	-	+	+/-	+	+	-	-
<i>L. grandensis</i>	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>L. aquatica</i>	-	-	+	-	+	+	-	-
<i>L. floridensis</i>	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>L. newyorkensis</i>	-	-	+	+	-	+/-	-	-
<i>L. booriae</i>	-	-	+	+	+	+	-	-
<i>L. costaricensis</i>	-	+ ^c	+	-	+	+	*	*
<i>L. goaensis</i>	+	-	+	-	-	+	*	*
<i>L. thailandensis</i>	-	-	+	-	-	+	*	*
<i>L. valentina</i>	-	-	+	-	-	+	*	*
<i>L. farberii</i>	-	+	-	-	+	+	*	*
<i>L. cossartiae</i>	-	+	-	-	+	-	*	*
<i>L. immobilis</i>	-	-	+	-	-	-	*	*
<i>L. portnoyi</i>	-	-	+	+	-	+	*	*
<i>L. rustica</i>	-	-	+	+	-	+	*	*

a: Agar sangue de carneiro; b: + positivo > 90%; - negativo > 90%; +/- variável, 11 a 89% das cepas positivas; ° : móvel apenas a 37°C; *: dados não disponibilizados pelos autores na descrição da espécie.

Adaptado de Carlin e colaboradores (2021)

1.7. Caracterização antigênica

L. monocytogenes está constituída por sorogrupos e sorotipos/sorovares, baseados nas estruturas antigênicas somáticas (antígeno “O”), representadas por 12 frações caracterizadas por algarismos romanos (I a XII) e flagelares (antígeno “H”) caracterizadas por 4 antígenos (A,B,C, D). Conforme o esquema de Donker-Voet (1958) e Seeliger e Höhne (1979) o gênero *Listeria* apresenta 17 sorotipos representados por números (1/2, 3, 4, 5, 6 e 7) e letras (a, b, c, d, e e ab)

caracterizando os antígenos somáticos e flagelares respectivamente. A espécie *L. monocytogenes*, apresenta 13 sorotipos diferenciados pelas frações somáticas (O) e flagelares (H) (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7)(Quadro 3). Já a espécie *L. innocua* é representada por apenas três sorotipos (6a, 6b e 6ab). A espécie *L. ivanovii* constitui o sorotipo 5, tendo as frações somáticas (II), (V), (VI), (VIII) e (X) e flagelares A, B e C (Buchrieser & Rocourt, 2007).

A sorotipificação por aglutinação é tradicionalmente utilizada para a caracterização dos sorotipos de *L. monocytogenes*, no entanto, uma alternativa à técnica de aglutinação foi desenvolvida por Doumith e colaboradores, tendo em vista a dificuldade de aquisição ou padronização dos antissoros e a necessidade de conhecimento técnico especializado. A técnica de sorotipificação molecular por reação em cadeia da polimerase (PCR- do inglês *Polymerase chain reaction*) classifica *L. monocytogenes* em sorogrupos baseada em quatro genes marcadores para os distintos grupos de sorotipos (Quadro 4). Os genes marcadores amplificados na PCR são: *Imo 0737*, *orf 2819* (apresentam função putativa de reguladores transcricionais), *Imo 1118* função putativa de proteína e *orf 2110* função putativa de proteína secretora (Borucki & Call, 2003; Doumith et al., 2004; Leclercq et al., 2011).

Dentre os 13 sorotipos conhecidos de *L. monocytogenes*, os sorotipos 1/2a, 1/2b e 4b são responsáveis por aproximadamente 95% dos casos das infecções em humanos. Enquanto o sorotipo 1/2a representa mais de 50% do isolamento de alimentos e do meio ambiente, o sorotipo 4b foi o sorotipo causador da maioria dos principais surtos de listeriose humana no mundo (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007).

Quadro 3. Caracterização antigênica dos sorotipos de *L. monocytogenes*

Sorotipos	Antígenos Somáticos (O)	Antígeno flagelar(H)
1/2a	I, II, (III)	A, B
1/2b	I, II, (III)	A, B, C
1/2c	I, II, (III)	B, D
3a	II, (III), IV	A, B
3b	II, (III), IV, (XII), (XIII)	A, B, C
3c	II, (III), IV, (XII), (XIII)	B, D
4a	(III), (V), VII, IX	A, B, C
4ab	(III), V, VI, VII, IX, X	A, B, C
4b	(III), V, VI	A, B, C
4c	(III), V, VII	A, B, C
4d	(III), (V), VI, VIII	A, B, C
4e	(III), V, VI, (VIII), (IX)	A, B, C
7	(III), XII, XIII	A, B, C

As frações somáticas entre parênteses podem estar ausentes: (III), (V), (VIII), (XII) ou (XIII).
Adaptado de Farber & Peterkin, 1991.

Quadro 4. Sorogrupos moleculares segundo Doumith e colaboradores (2004)

Sorogrupos	Gene alvo			
	<i>lmo</i> 1118	<i>lmo</i> 0737	<i>orf</i> 2110	<i>orf</i> 2819
1/2a – 3a	-	+	-	-
1/2c – 3c	+	+	-	-
1/2b – 3b	-	-	-	+
4b-4d-4e	-	-	+	+
+: presença do fragmento amplificado -: ausência do fragmento amplificado pb: pares de bases				

1.8. Características Filogenéticas de *L.monocytogenes*

A espécie *L. monocytogenes* é formada por uma população estruturada, composta por 4 linhagens bem definidas, evidenciada por diversos estudos filogenéticos. Suas características ecológicas, evolutivas e fenotípicas, incluindo a virulência, são variadas. Há evidências de que as cepas pertencentes à linhagem I são mais virulentas do que as cepas da linhagem II. As cepas da linhagem I são mais frequentemente associadas a casos clínicos humanos e estão principalmente associadas a surtos envolvendo processos infecciosos invasivos.

Além disso, estudos *in vitro* e em animais indicam que os fenótipos associados a invasão e doença, são mais frequentes entre as cepas da linhagem I em comparação com cepas da linhagem II. Em adição, as cepas da linhagem I são altamente clonais, sugerindo que características genéticas importantes para a aptidão dentro do hospedeiro estão sob forte seleção. As cepas da linhagem II apresentam taxas de recombinação mais altas do que as cepas da linhagem I, o que pode contribuir para uma maior capacidade de adaptação a diversos nichos ecológicos. Tal plasticidade genômica aumentada entre as cepas da linhagem II corrobora os achados de vários estudos que mostram que estas estirpes são mais frequentemente isoladas de uma diversidade maior de fontes do que as cepas da linhagem I. Cepas das linhagens III e IV raramente estão associadas a doenças humanas e são predominantemente isoladas de fontes animais (ruminantes) (Quadro 5)(Nightingale et al., 2005; Den Bakker et al., 2008; Orsi, Den Bakker & Wiedmann, 2011; Pirone-Davies et al., 2018; Betchel & Gibbons, 2021).

Quadro 5. Resumo das linhagens de *L. monocytogenes*

Linhagem	Sorotipo	Características Genóticas	Distribuição
I	1/2b, 3b, 3c, 4b	Menor diversidade entre as linhagens; níveis mais baixos de recombinação entre as linhagens	Comumente isolada de várias fontes; super-representada entre cepas isoladas de humanos
II	1/2a, 1/2c, 3a	Mais diversa, níveis de recombinação mais elevados	Comumente isolada de várias fontes; super-representado dentre os alimentos e relacionada com alimentos, assim como ambientes naturais
III	4a, 4b, 4c	Muito diverso; níveis de recombinação entre aqueles da linhagem I e a linhagem II	Maioria dos isolados obtidos de ruminantes
IV	4a, 4b, 4c	Poucas cepas analisadas até o momento	Maioria dos isolados obtidos de ruminantes

Adaptado de Orsi, Den Bakker & Wiedmann, 2011.

As cepas dessa espécie foram classificadas nas suas respectivas linhagens através de uma variedade de abordagens genóticas, como a Ribotipagem, Eletroforese em Gel de Campo Pulsado (PFGE do inglês *pulsed field gel electrophoresis*), Tipificação de Sequência Multilocus (MLST do inglês *Multilocus sequence typing*) e Sequenciamento de Genoma Total (WGS do inglês *Whole Genome Sequencing*) (Brosch, Chen & Luchansky, 1994; Cai et al., 2002; Fuggett et al., 2006; Nadon et al., 2001; Ragon et al., 2008; Yin et al., 2019).

Alguns anos atrás, a PFGE era considerada o padrão ouro de vigilância microbiológica e possuía uma padronização internacional pela rede PulseNet, contudo a nomenclatura dos perfis não era coordenada entre os diferentes laboratórios internacionais da Rede. Ademais, a PFGE não refletia as relações

evolutivas entre as cepas e, alguns perfis são altamente prevalentes, o que resulta em um poder discriminatório limitado. A partir da ampla utilização da técnica de MLST, que é baseada no sequenciamento de sete genes conservados, os genótipos caracterizados passam a apresentar a sua nomenclatura padronizada internacionalmente. Tal fato possibilita investigar a possível transmissão de cepas de *L. monocytogenes* através do comércio internacional de alimentos (Moura et al., 2016; Wagner et al., 2021).

A tipificação baseada em sequência multilocus subdivide os complexos clonais (CC) distintos dentro das linhagens, ou seja, sublinhagens que podem estar associadas a manifestações mais graves da doença, como a listeriose invasiva (Maury et al., 2016; Yin et al., 2019). Ainda mais, os CC são grupos de tipos de sequências (ST do inglês *Sequence Type*) que ao serem identificados, caracterizam cepas de *L. monocytogenes* em grupos evolutivamente distintos (Ragon et al., 2008). Na espécie, a diversidade é refletida em particular pela variação na prevalência dos ST ou CC, segundo as fontes (alimentos, ambiente, animais, casos clínicos), o país de origem e o potencial de virulência da cepa (Maury et al., 2017). Os clones pertencentes à linhagem I CC1, CC2, CC4 e CC6 são associados a doenças humanas, enquanto os clones da linhagem II CC9 e CC121 estão fortemente associados aos alimentos e aos ambientes de processamento dos alimentos (Félix et al., 2018; Painset et al., 2019; Maury et al., 2019). Já os CC388, CC321, CC11, CC475 são clones relativamente raros e o CC87 parece ser prevalente em alimentos e casos clínicos na China (Quadro 6) (Painset et al., 2019; Zhang et al., 2020; Li et al., 2022).

Com o avanço das tecnologias de sequenciamento do genoma total (WGS do inglês *Whole Genome Sequencing*), os genomas bacterianos inteiros ficaram internacionalmente disponíveis para a análise, proporcionando um alto nível de discriminação das cepas, possibilitando inferir relações filogenéticas e o acesso a informações adicionais, como a investigação de marcadores genéticos de virulência e resistência. Além disso, o WGS tem sido usado em diversos estudos para a detecção e a investigação de surtos. A melhoria na caracterização das cepas obtidas com as análises de WGS forneceram evidências genéticas robustas, inclusive para vincular os casos e as definições de caso mais precisas do que a PFGE, permitindo que os casos fossem caracterizados como parte ou não de surtos investigados (Painset et al., 2019).

Quadro 6. Distribuição dos complexos clonais nas linhagens genéticas I e II de *L. monocytogenes* mais comumente observados na literatura mundial

Linhagem	Complexo Clonal	Sorotipo
I	CC1, CC2, CC3, CC4, CC5, CC6, CC87, CC218, CC388	1/2b, 3b, 3c, 4b
II	CC7, CC8, CC9, CC11, CC121, CC155, CC475	1/2a, 1/2c, 3a

1.9. Patogenicidade e Viruloma de *L. monocytogenes*

O sucesso da *L. monocytogenes* na indução de infecção se deve à sua capacidade de promover a própria internalização em células hospedeiras. Esta bactéria tem a capacidade de atravessar as três importantes barreiras do hospedeiro humano, o epitélio intestinal, a barreira hematoencefálica e a placenta, e posteriormente, se disseminar para outros órgãos (Chen et al., 2009).

O processo de infecção de células hospedeiras por *L. monocytogenes* envolve diversas etapas: adesão e invasão à célula hospedeira, internalização, lise vacuolar, proliferação intracelular e disseminação para as células hospedeiras adjacentes (Vázquez-Boland et al., 2001).

Quando ingerida através dos alimentos contaminados, *L. monocytogenes* sobrevive à exposição a alta acidez estomacal, sais biliares e enzimas proteolíticas do sistema hospedeiro. Posteriormente, se adere e entra nas células fagocíticas e não fagocíticas do hospedeiro por meio de proteínas de superfície chamadas internalinas (Carvalho et al., 2014).

O termo viruloma descreve o conjunto de genes que contribui para estabelecer o potencial patogênico de uma bactéria, a seguir será descrito o viruloma de *L. monocytogenes*. A bactéria é internalizada por macrófagos em vacúolos fagossômicos primários após aderir ao tecido epitelial gastrointestinal com

a ajuda das internalinas. Após ser internalizada, *L. monocytogenes* escapa do vacúolo com a ajuda de uma citolisina chamada listeriolisina O (LLO) e uma fosfatidilinositol fosfolipase específica (PlcA). O patógeno então se replica no citoplasma à medida que o hospedeiro fornece nutrientes suficientes. Os mecanismos de mobilidade baseados na actina da célula hospedeira facilitam o movimento bacteriano através do citoplasma para células vizinhas, evitando assim, a exposição ao sistema imune do hospedeiro. Tal evasão se deve a proteína de polimerização de actina (ActA), determinante molecular para o movimento bacteriano intracelular. Ao ser internalizada por células vizinhas, *L. monocytogenes* é confinada em um vacúolo de membrana dupla do qual escapa com a ajuda de LLO e PlcB para reiniciar seu ciclo de vida. PlcA e PlcB são duas fosfolipases que auxiliam na lise das membranas dos vacúolos, a primeira atua na fuga do vacúolo primário, enquanto a última é ativa durante a disseminação célula a célula. (Bonazzi, Lecuit & Cossart, 2009; Doyle et al., 2013; Neves et al., 2013). Na Figura 2, está resumido o ciclo intracelular de *L. monocytogenes* nas células hospedeiras.

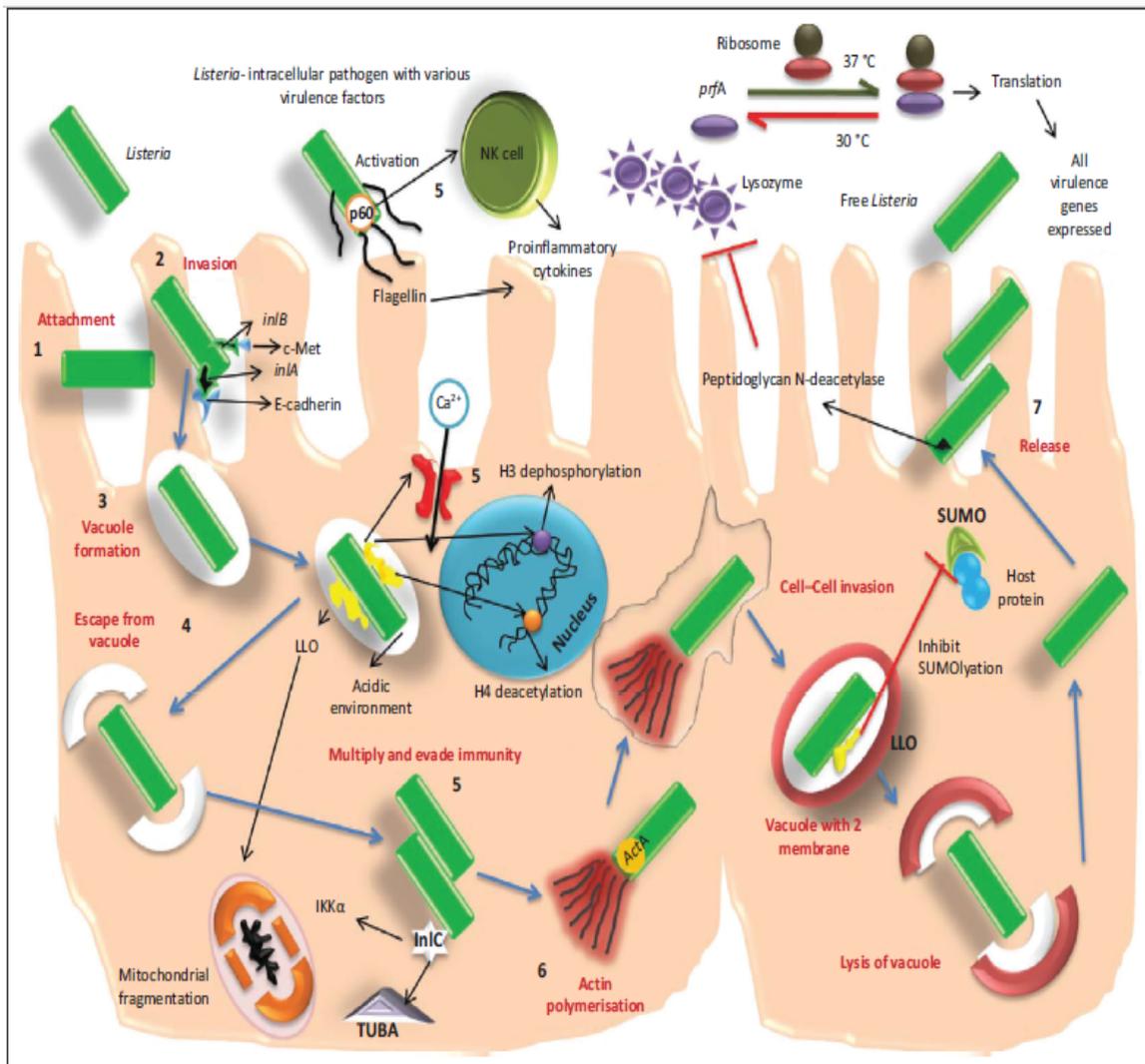


Figura 2. Genes de patogênese e virulência envolvidos na infecção por *L. monocytogenes* em células humanas (Adaptado de Matle, Mbatha & Madoroba, 2020)

L. monocytogenes possui um grande grupo de fatores de virulência que contribuem para sua patogenicidade e atuam em várias etapas do ciclo de infecção do hospedeiro. Grande parte dos determinantes de virulência são agrupados ao longo do cromossomo na ilha de patogenicidade de *Listeria monocytogenes* 1 (LIPI-1) (Matle, Mbatha & Madoroba, 2020). A LIPI-1 contém seis fatores de virulência, *prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl*, *actA* e *plcB*. O gene *prfA* codifica um ativador transcricional muito importante, o PrfA, que afeta direta ou indiretamente a transcrição de mais de 140 genes, incluindo os genes contidos na LIPI-1. Os genes *plcA* e *plcB* codificam a fosfatidilinositol fosfolipase C (PI-PLC) e fosfatidilcolina fosfolipase C (PC-PLC), respectivamente, que cooperam com a listeriolisina O (LLO)

para escapar dos fagossomos para o citoplasma. O gene *mpl* codifica uma zinco-metaloprotease necessária para maturação pró-PlcB e *actA* uma proteína de superfície que parece ser um fator de virulência multifuncional (Hadjilouka, Paramithiotis & Drosinos, 2018).

O crescimento intracelular e a sobrevivência de *L. monocytogenes* depende de diversos fatores de virulência, que devem ser expressos no momento e local corretos. A expressão da maioria desses fatores de virulência é controlada pelo principal ativador de virulência PrfA, uma proteína de 27 kDa pertencente à família Crp/Fnr de reguladores transcricionais. O PrfA atua ligando-se como um dímero a um sítio de ligação de consenso palindrômico, conhecido como PrfA-box, situado a montante (aproximadamente 40 pares de bases) dos sítios de início da transcrição de genes controlados positivamente pelo PrfA. A ausência de PrfA atenua significativamente a virulência de *L. monocytogenes*, em modelos de infecção de vertebrados e invertebrados, assim como nos modelos em cultura de células. Devido à sua importância para a patogênese, a expressão e a atividade de PrfA são controladas em vários níveis (transcricional, pós-transcricional e pós-traducional) para garantir que os genes de virulência sejam transcritos apenas quando necessário dentro do hospedeiro (Vasanthakrishnan et al., 2015; Tiensuu et al., 2019).

As fosfolipases do tipo C (PLC) clivam o grupo da cabeça polar dos fosfolipídios na ligação glicerol-fósforo, liberando diacilglicerol e um éster de fosfato solúvel em água. O gene *plcA*, codifica uma fosfolipase específica para fosfatidilinositol (PI-PLC). A outra fosfolipase, codificada por *plcB*, é uma enzima de amplo alcance que cliva a fosfatidilcolina (PC-PLC). Esta enzima cliva uma variedade de fosfolipídios, incluindo esfingomiélna em micelas detergentes, lipossomas e membranas biológicas (Smith et al., 1995).

As citolisinas dependentes de colesterol (CDC) representam a maior família de toxinas formadoras de poros. Mais de 50 CDC foram identificadas em *Firmicutes*, *Actinobacteria* e em *Proteobacteria* (Hotze et al., 2013; Tweten, Hotze, & Wade, 2015). Exceto aquelas produzidas por *Proteobacteria*, as CDC são produzidas por patógenos Gram-positivos oportunistas, e muitos tem papel importante na patogênese. Entre as CDC que demonstraram contribuições para a patogênese estão a perfringolisina (PFO) de *Clostridium perfringens*, pneumolisina (PLY) de *Streptococcus pneumoniae*, estreptolisina O (SLO) de *Streptococcus pyogenes*,

antrolisina (ALO) de *Bacillus anthracis* e listeriolisina O (LLO) de *Listeria monocytogenes*. A LLO é distinta por ser a única CDC produzida por um patógeno intracelular (Nguyen, Peterson & Portnoy, 2019). Para alcançar o citosol da célula hospedeira, *L. monocytogenes* deve primeiro escapar do vacúolo fagocitário de entrada, o que requer a LLO. Já no citosol, a bactéria se replica e produz um fator de nucleação de actina (ActA) para mover-se intracelularmente, formar saliências que são englobadas por células vizinhas formando vacúolos de membrana dupla e novamente, a LLO é necessária para escapar desses vacúolos secundários (Nguyen & Portnoy, 2020).

ActA é uma proteína transmembrana exposta de forma polar na superfície de *L. monocytogenes* e esta recruta diretamente o complexo de nucleação de actina Arp2/3 para a superfície bacteriana, estimulando a polimerização da actina em um pólo e levando à formação de caudas de actina em forma de cometa. A polimerização local da actina em um pólo de *L. monocytogenes* permite o seu movimento intracelular e a sua disseminação para as células adjacentes (Gouin, Quereda & Cossart, 2015; Costa et al., 2020).

A metaloprotease Mpl é um membro da família M4 de metaloproteases, representada pela termolisina de *Bacillus thermoproteolyticus*. O gene *mpl* é traduzido como uma pró-enzima com uma sequência sinal de 24 aminoácidos, que é removida após a secreção através da membrana bacteriana. A Mpl secretada amadurece por autocatálise intramolecular, liberando um propeptídeo de 176 aminoácidos e uma protease madura de 310 aminoácidos. Tanto a PlcB quanto a Mpl são sintetizadas como pró-enzimas inativas que se acumulam na interface membrana-parede celular. A diminuição do pH no vacúolo da célula hospedeira inicia a autoativação de Mpl através da autoclivagem, levando à maturação de PlcB através da clivagem mediada por Mpl do pró-peptídeo N-terminal de PlcB. A autoativação de Mpl também leva à rápida secreção de Mpl e PlcB através da parede celular para o espaço vacuolar, comprometendo a integridade da membrana do vacúolo devido a hidrólise dos fosfolipídios da membrana (Bitar, Cao & Marquis, 2008; Alvarez & Agaisse, 2016).

A ilha de patogenicidade de *L. monocytogenes* 3 (LIPI-3) foi descrita pela primeira vez em um conjunto de cepas da linhagem I, que codifica um agrupamento genético envolvido na produção de Listeriolisina S (LLS), um fator hemolítico e citotóxico que se mostra necessário para virulência de *L. monocytogenes in vivo*.

A LIPI-3 é composta por oito genes, o gene *//sA* codifica o peptídeo tóxico listeriolisina S, os genes *//sG* e *//sH* codificam para um transportador putativo, os genes *//sB*, *//sY* e *//sD* codificam enzimas de modificação pós-traducional putativas envolvidas na produção de anéis tiazol/oxazol/metiloxazol, o gene *//sP* codifica uma protease putativa, e o gene *//sX* codifica para uma proteína de função desconhecida específica para o gênero *Listeria* (Cotter et al., 2008; Tavares et al., 2020). Recentemente, diferentes estudos demonstraram que a listeriolisina S também age como uma bacteriocina e pode alterar a microbiota intestinal. Em um modelo de camundongo infectado oralmente, *L. monocytogenes* mutantes para listeriolisina S exibiram uma diminuição na capacidade de invadir o intestino 6 horas após a infecção e, além disso, mudanças significativas nas populações dos gêneros *Alloprevotella*, *Allobaculum* e *Streptococcus* sugerindo que a presença deste peptídeo apresenta um papel importante no ambiente intestinal (Quereda et al., 2017; Vilchis-Rangel et al., 2019).

A LIPI-4 foi caracterizada em 2016, como um sistema de fosfotransferase da família da celobiose contendo um agrupamento de seis genes. Esta ilha de patogenicidade está fortemente associada à infecção neural e placentária, e foi identificada pela primeira vez como um fator de virulência específico do complexo clonal (CC) 4 (Maury et al., 2016).

Além das ilhas de patogenicidade, outros grupos de genes estão envolvidos no sucesso da infecção do hospedeiro, como as internalinas, que formam um grupo de proteínas de superfície de *L. monocytogenes* que desempenham um papel fundamental na mediação da invasão celular. Em 1991, foi descrita a primeira proteína dessa família multigênica, a Internalina A (InIA) que é uma proteína de 80 kDa contendo 15 repetições ricas em leucina (LRR), um peptídeo de sinalização no N-terminal e uma região de ancoragem de superfície bacteriana LPXTG no C-terminal. O receptor da célula hospedeira para InIA é a proteína de superfície E-caderina, presente nas células do epitélio intestinal e a ligação do complexo InIA-E-caderina promove a internalização da bactéria pela célula hospedeira (Orsi et al., 2007; Drolia & Bhunia, 2019; Matereke & Okoh, 2020).

A Internalina B (InIB) é uma proteína de superfície vagamente associada a ácidos lipoteicóicos na superfície bacteriana. Desse modo, ambas as formas de InIB, associadas à superfície ou liberadas como forma solúvel, são moléculas sinalizadoras que podem cooperar para a entrada eficiente de *L. monocytogenes*. A

InIB interage com três diferentes moléculas de superfície celular: (1) o receptor da tirosina quinase Met (Receptor de Fator de Crescimento de Hepatócitos-HGF), expresso em tecidos epiteliais envolvido no desenvolvimento, regeneração de tecidos, diferenciação celular e motilidade celular ; (2) o receptor de complemento gC1q-R, o primeiro componente da cascata do complemento; e (3) glicosaminoglicanos de superfície. Ao atravessar a barreira intestinal, a InIB é necessária para a passagem pelas células M das placas de Peyer e desempenha um papel acessório na entrada nos enterócitos. Enquanto a internalização mediada por InIA é restrita a uma população limitada de células epiteliais, a internalização mediada por InIB tem diversas células como alvo, tais como hepatócitos, células epiteliais e endoteliais (Khelef et al., 2006; Sobyenin et al., 2017; Matereke & Okoh, 2020).

O gene *inIC* (internalina C) codifica uma pequena proteína de 297 aminoácidos, que exibe um peptídeo sinal de 34 aminoácidos e seis LRRs de 22 aminoácidos, seguido por um domínio tipo Ig. Este último domínio, como observado em outras internalinas, tem a função de estabilizar o domínio LRR e favorecer as interações proteína-proteína (Ooi et al., 2006; Gouin et al., 2010). A InIC, é secretada por *L. monocytogenes* e demonstrou regular a formação de protuberâncias de membrana em células polarizadas. Uma vez secretada, no citoplasma da célula hospedeira, a InIC interage com a proteína Tuba, uma proteína hospedeira que interage com N-WASP (proteína hospedeira da síndrome de Wiscott-Aldrich) nas junções intercelulares para estimular a polimerização da actina, e dessa forma controlar a morfologia e a manutenção do complexo apical. A interação de InIC com a proteína Tuba, desloca N-WASP e induz o relaxamento da tensão de actina cortical, melhorando a capacidade de *L. monocytogenes* de formar saliências e se espalhar eficientemente de célula a célula (Rajabian et al., 2009; Ireton et al., 2014; Costa et al., 2020).

Um estudo recente realizado por Ghosh e colaboradores (2018), sugeriu que a proteína InIF (Internalina F) contribui diretamente para a penetração da barreira hematoencefálica, visando células endoteliais cerebrais. Os pesquisadores descobriram que uma cepa mutante de *L. monocytogenes* com uma deleção do gene *inIF* teve uma redução de aproximadamente 10 vezes no potencial na colonização do cérebro em comparação com as bactérias do tipo selvagem, sugerindo um papel da InIF na infecção cerebral. Os autores usaram uma matriz de

afinidade contendo a proteína InIF para identificar a proteína de mamífero vimentina como um receptor hospedeiro em potencial. Embora a vimentina seja conhecida principalmente como uma proteína intracelular do citoesqueleto, ela também está presente na superfície de vários tipos de células de mamíferos, incluindo células endoteliais microvasculares cerebrais. Os resultados dos ensaios *in vivo* em camundongos fornece evidências de que a associação da InIF com a vimentina promove a neuroinvasão, mediando a infecção de células endoteliais cerebrais (Ghosh et al., 2018; Ireton et al., 2021).

A Internalina G (*InIG*) ainda não apresenta função bem definida, dado que existem poucos estudos sobre o papel desta proteína na invasão das células hospedeiras. Em 2007, um estudo composto por 133 cepas de *L. monocytogenes*, revelou que a InIG não era observada na linhagem I, mas estava presente em 74,2% da linhagem II e 30,7% da linhagem III. Posteriormente, Balandyt e colaboradores (2011) descreveram que a InIG estava presente majoritariamente nas cepas isoladas do ambiente e raramente, nas cepas clínicas provenientes de humanos e animais. Por esse motivo, sugeriu que a proteína estaria intimamente relacionada à sobrevivência no meio ambiente. Recentemente, Gou e colaboradores (2022) descreveu um experimento no qual a imunização de camundongos com a InIG resultava em um efeito protetor para a infecção por *L. monocytogenes*. No entanto, quando produzida uma cepa mutante com deleção para InIG, a virulência foi diminuída na infecção em camundongos mas a capacidade de adesão e invasão em células do tipo Caco-2 foi aumentada. (Jia et al., 2007; Balandyté et al., 2011; Gou et al., 2022).

A Internalina H (*InIH*), é uma proteína de superfície ancorada pela sortase A e regulada por σ B estresse-dependente, como a entrada na fase estacionária, choque térmico, acidez ou por estresse oxidativo. Está envolvida na multiplicação bacteriana numa fase sistêmica posterior à infecção precoce *in vivo* e além disso, a inativação de InIH aumenta a produção de interleucina-6 (IL-6) no fígado e no baço durante a infecção por *L. monocytogenes* em camundongos. Sugerindo que a InIH é uma proteína de superfície induzida pelo estresse que facilita a sobrevivência do patógeno nos tecidos, moderando a resposta inflamatória (Personnic et al., 2010).

A Internalina J (*InIJ*), assim como a InIA, possui um domínio N-terminal de repetição rica em leucina (LRR) e um motivo LPXTG C-terminal característico de proteínas de superfície ancoradas ao peptidoglicano por uma sortase. No entanto,

as LRR de InIJ tem uma sequência de consenso contendo cisteína diferente daquelas LRR na InIA. A InIJ não é produzida por bactérias cultivadas *in vitro* em meio de infusão cérebro-coração ou mesmo se replicando no citosol de células cultivadas em tecidos. Ao contrário disso, é eficientemente produzida e localizada na superfície de bactérias presentes no fígado e sangue dos animais infectados. Surpreendentemente, a expressão de inIJ por um promotor heterólogo em *L. monocytogenes* ou *L. innocua* promoveu a adesão bacteriana às células humanas *in vitro*. Desse modo, esses achados sugeriram fortemente que InIJ atua como uma adesina ancorada por sortase expressa especificamente durante a infecção *in vivo* (Sabet et al., 2005; Bierne et al., 2007; Sabet et al., 2008)

Outra internalina associada à superfície, a InIK, mostrou estar envolvida na capacidade de *Listeria* escapar da autofagia pelo recrutamento da proteína MVP (*major vault protein*) à superfície bacteriana. É uma molécula de quatro domínios que apresenta o domínio LRR clássico em seu N-terminal, que é seguido por três domínios cujas dobras são distintas daquelas identificadas em outras internalinas. Essa estrutura lembra um “braço dobrado”, com um domínio de reconhecimento do ligante potencial localizado na região do “cotovelo”. A InIK foi a primeira internalina que demonstrou participar na ajuda de um patógeno bacteriano a escapar da autofagia através do reconhecimento da proteína do hospedeiro, e a flexibilidade entre os domínios de sua estrutura alongada pode desempenhar um papel fundamental nessa função complexa (Neves et al., 2013).

Por meio de genômica comparativa, foi identificado o gene *vip*, que codifica uma proteína de superfície LPXTG ausente nas espécies não-patogênicas de *Listeria*. Este gene é regulado positivamente pelo PrfA, o ativador transcricional dos principais fatores de virulência da *Listeria*. A proteína Vip está ancorada na parede celular de *L. monocytogenes* pela sortase A e é necessária para a entrada em algumas células de mamíferos interagindo com a Gp96, receptor do retículo endoplasmático localizada na superfície das células hospedeiras durante a invasão e que essa interação é crítica para uma infecção bem-sucedida *in vivo* (Cabanes et al., 2005; Martins et al., 2012).

L. monocytogenes se utiliza das hexoses-fosfato da célula hospedeira como fonte de carbono e energia para fomentar o rápido crescimento intracelular. A captação das hexoses é realizada por Hpt, um homólogo bacteriano da translocase de mamíferos, que transporta glicose-6-fosfato do citosol para o retículo

endoplasmático na etapa final da gliconeogênese e glicogenólise. A expressão da Hpt permease é controlada pelo regulador central de virulência PrfA, que ao entrar nas células hospedeiras induz um conjunto de fatores de virulência necessários para o parasitismo intracelular. Desse modo, as duas espécies patogênicas *L. monocytogenes* e *L. ivanovii*, são capazes de utilizar glicose-1-fosfato (G1P), ao contrário das espécies não-patogênicas, uma vez que a utilização de G1P é diretamente dependente de PrfA e co-expressa com fator de virulência (Hpt) dependente de PrfA. A glicose, ao contrário, é usada constitutivamente por *Listeria* spp. patogênicas e não-patogênicas. O G1P é um açúcar disponível no compartimento intracelular do hospedeiro, o que sugere que o mecanismo responsável por sua utilização pode desempenhar um papel relevante no parasitismo intracelular por *Listeria*. Uma vez que, a perda da Hpt resultou em prejuízo na proliferação bacteriana no citosol hospedeiro e numa virulência atenuada em camundongos (Chico-Calero et al., 2002).

A fixação às superfícies das mucosas é o evento inicial na patogênese de *L. monocytogenes*, o gene *lapB* (Proteína de adesão *Listeria* B) codifica uma proteína de superfície LPXTG que está ausente de espécies de *Listeria* não-patogênicas. A expressão da adesina LapB é regulada positivamente pelo PrfA, e é regulado positivamente em baços de camundongos durante a infecção. É uma proteína de superfície ancorada a sortase A, necessária para adesão e entrada em células de mamíferos e para virulência após inoculação intravenosa ou oral em camundongos (Reis et al., 2010; Reddy et al., 2016).

Ainda no contexto de fixação à superfície das mucosas intestinais, a Lap (Proteína de adesão de *Listeria*) interage com o seu receptor da célula hospedeira, a proteína de choque térmico 60 (Hsp60) no lado apical, causando uma disfunção no epitélio e assim promove a translocação de *L. monocytogenes* através da barreira epitelial. A proteína LAP ativa a sinalização de fator nuclear NF-κB, facilitando a abertura mediada pela quinase de cadeia leve de miosina (MLCK) da barreira epitelial por meio da redistribuição celular das proteínas juncionais epiteliais claudina-1, ocludina e E-caderina (Drolia et al., 2018; Drolia et al., 2020).

A superfície celular de *L. monocytogenes* é rica em proteínas que tornam o mecanismo de invasão do patógeno complexo, o gene *aut*, codifica uma proteína Auto de 572 aminoácidos contendo uma sequência sinal, um domínio de autolisina

N-terminal e um domínio de ancoragem na parede celular C-terminal composto por quatro módulos GW. O gene *aut* é expresso independentemente do regulador do gene de virulência PrfA e codifica uma proteína de superfície com atividade autolítica. No estudo de Cabanes e colaboradores (2004), foram mostradas evidências de que Auto é necessário para a entrada de *L. monocytogenes* em células eucarióticas não-fagocíticas cultivadas. A baixa invasividade de um mutante de deleção *aut* correlacionou-se com a sua virulência reduzida após inoculação intravenosa de camundongos e infecção oral de cobaias. Durante a infecção, a atividade autolítica do Auto também pode ser crítica. No estudo de Betchel e colaboradores (2021), foi realizada uma análise genômica de 504 cepas de *L. monocytogenes* em diferentes grupos de alimentos disponíveis publicamente e foi constatada deleção total ou parcial de *aut* em determinada população da bactéria, sugerindo que de *L. monocytogenes* pode apresentar associações com alimentos específicos, como os queijos e que o conteúdo gênico pode contribuir para esse padrão (Cabanes et al., 2004; Bechtel & Gibbons, 2021).

Outro fator de adesão encontrado na espécie é codificado pelo gene *ami*, uma amidase autolítica de *L. monocytogenes* que é direcionada para a superfície bacteriana através de seu domínio de ancoragem na parede celular C-terminal (CWA). Milohani e colaboradores (2004) observaram que cepas nocautes de *ami* exibiram adesão significativamente menor a células eucarióticas em comparação com o tipo selvagem, indicando funções de *ami* na ligação a células hospedeiras. No estudo de Bechtel e Gibbons (2021), o gene *ami* sofreu deleções totais ou parciais assim como a autolisina Aut, sugerindo populações genéticas com conteúdo gênico específico para determinados nichos de alimentos (Milohanic et al., 2004; Bechtel & Gibbons, 2021).

AgrC/AgrA é um sistema regulatório de dois componentes que faz parte do sistema de comunicação Agr. Inicialmente descrito em *Staphylococcus aureus*, esse sistema de comunicação célula a célula é organizado como um operon de quatro genes, *agrBDCA*. AgrB é uma proteína ligada à membrana que processa o propeptídeo AgrD em um peptídeo autoindutor maduro (AIP). A detecção de AIP pela histidina quinase AgrC induz a regulação transcricional através da ativação do regulador AgrA. Atualmente, o papel na adaptação de *L. monocytogenes* ao seu ambiente, é apenas parcialmente compreendido. No entanto, quando Vivant e colaboradores (2015) submeteram uma cepa selvagem de *L. monocytogenes* e uma

cepa mutante com deleção de AgrA a diferentes microcosmos, a cepa contendo a deleção apresentou sobrevivência significativamente reduzida nos microcosmos de solo biótico, e as análises do transcriptoma mostraram grandes alterações do transcriptoma na cepa com deleção de *agrA*, enquanto as variações nos transcriptomas entre o tipo selvagem e o mutante Δ *agrA* foram modestos sob condições abióticas. Em ambientes bióticos do solo, 578 genes codificadores de proteínas e um extenso repertório de RNAs não codificantes (ncRNAs) foram transcritos diferencialmente. A transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas no envelope celular e em processos celulares, incluindo o sistema fosfotransferase e transportadores ABC, e proteínas envolvidas na resistência a peptídeos antimicrobianos foi afetada. Sob condições de solo esterilizado, as diferenças foram limitadas a 86 genes e 29 ncRNAs. Esses resultados sugerem que o regulador de resposta AgrA do sistema de comunicação Agr desempenha papéis importantes durante a vida saprofítica de *L. monocytogenes* no solo. Alguns estudos mostram que o sistema de comunicação Agr de *L. monocytogenes* está envolvido na adesão a superfícies abióticas nos estágios iniciais da formação de biofilmes e durante a infecção do hospedeiro mamífero (Riedel et al., 2009; Vivant et al., 2014; Vivant et al., 2015).

OppA é uma lipoproteína ligada a superfície da célula importante para a adaptação de *L. monocytogenes* e outras bactérias ao frio, participa de uma série de processos: absorção bacteriana de nutrientes, reciclagem da parede celular peptídeos, renovação de peptidoglicanos e detecção do meio via peptídeos específicos ou inespecíficos (Goodell & Higgins, 1987; Borezee et al., 2000; Schliep et al., 2012). Borezee e colaboradores (2000) relataram que uma cepa de *L. monocytogenes* mutante para *oppA* foi incapaz de usar peptídeos com mais de três resíduos, demonstrando que OppA medeia o transporte de oligopeptídeos para dentro da célula. A extensão do *turnover* de peptidoglicano permaneceu inalterada em mutantes sem *oppA*, indicando que os fragmentos peptídicos reciclados por OppA são responsáveis por apenas uma pequena parte das vias de reciclagem em *Escherichia coli* e outras bactérias gram-negativas (Reith & Mayer, 2011). Apesar disso, vários estudos relataram que algumas cepas de *L. monocytogenes* mostraram níveis mais elevados de transcritos de *oppA* em células de fase estacionária cultivadas a 4°C e, resultados recentes mostraram que não são todas as cepas de *L. monocytogenes* que superexpressam OppA quando cultivadas em baixas

temperaturas (Chan et al., 2007; Cacace et al., 2010; Cabrita et al., 2013). OppA também pode estar envolvida na formação de biofilmes. Um estudo realizado com *Vibrio fluvialis* mostrou que tanto em meios ricos quanto em meios mínimos contendo peptona ou triptona, um mutante *oppA* formava biofilmes em níveis mais altos do que a cepa selvagem (Lee et al., 2004). Um trabalho recente relatou que um suposto transportador ABC, uma permease, apresenta 99% de similaridade com a OppA, está envolvida na regulação negativa da formação de biofilmes de *L. monocytogenes* (Zhu et al., 2008; Zhu et al., 2011). O sistema *opp* em *L. monocytogenes* pode explicar a contaminação de queijo e outros alimentos lácteos fermentados por este patógeno. Na verdade, esses tipos de alimentos contêm uma ampla variedade de peptídeos, variando de 4 a pelo menos 18 resíduos gerado pelas proteinases associadas ao envelope das células lactocócicas (Borezee et al., 2000; Detmers et al., 1998). No entanto, Cabrita e colaboradores (2013) não conseguiram detectar esta proteína no sobrenadante de uma cultura a 11°C de uma cepa persistentemente presente em ambiente de queijaria. O fato de que esta estirpe não depende dessa proteína para a captação de oligopeptídeos pode ter contribuído para sua persistência no ambiente frio da indústria de laticínios. Estudos feitos em *E. coli* mostraram que mutações sem sentido ou reduções transcricionais em OppA podem fornecer resistência a antibióticos aminoglicosídeos, como canamicina, estreptomicina, isepamicina e neomicina. A maioria dessas cepas resistentes apresentaram redução ou níveis indetectáveis de OppA (Acosta et al., 2000; Kashiwagi et al., 1998). OppA se liga a análogos peptídicos tóxicos e os transporta para o interior da célula. Semelhante a outras bactérias como *Bacillus subtilis* (Solomon et al., 2003), OppA medeia o transporte do derivado peptídico tóxico bialaphos em *L. monocytogenes*. Outros antibióticos, como bacilisina, fosfotricil e vancomicina entram nas células via um transportador peptídico, que é significativo para o desenvolvimento de antimicrobianos direcionados aos sistemas de importação ABC (Eirich et al., 2011; Garmory & Titball, 2004).

O viruloma de *L. monocytogenes* possui mais de 70 genes de virulência e em sua grande maioria ainda pouco conhecidos. Apenas os principais e com funções mais bem definidas foram descritos e abordados acima. *Listeria* é um patógeno com grande plasticidade em seu arcabouço genético, permitindo adaptar-se a ecossistemas diversos e isso se deve aos seus sistemas regulatórios Sigma (σ) B e PrfA, que assim ativam mecanismos de sobrevivência que ajudam a superar as

condições adversas dentro do hospedeiro, e como num mecanismo “liga e desliga” alterna entre um microrganismo saprófito inofensivo para um patógeno altamente competente.

Nosso estudo, através do sequenciamento do genoma completo, analisou cepas de *L. monocytogenes* circulantes de diferentes regiões do país e períodos, possibilitando um maior entendimento da relação genômica entre elas e o seu perfil de virulência (Quadro 7).

Quadro 7. Lista dos genes de virulência abordados no estudo e suas respectivas funções

Gene	Função
Aderência Bacteriana	
<i>ami</i>	adesão e virulência da célula hospedeira
<i>dltA</i>	adesão e virulência da célula hospedeira
<i>fbpA</i>	adesão e invasão da célula hospedeira
<i>lap</i>	adesão da célula hospedeira
<i>lapB</i>	adesão e invasão da célula hospedeira
Invasão	
<i>aut</i>	entrada em células eucarióticas e virulência
<i>aut IVb</i>	entrada em células eucarióticas e virulência
<i>cwhA</i>	entrada em células eucarióticas e virulência
<i>lpeA</i>	entrada em células eucarióticas
<i>vip</i>	entrada em células eucarióticas e virulência
Sobrevivência intracelular	
<i>hpt</i>	replicação intracelular
<i>lplA1</i>	replicação intracelular
<i>oppA</i>	crescimento a baixa temperatura e sobrevivência intracelular
<i>prsA2</i>	relevante para a infecção da célula hospedeira

Gene	Função
<i>purQ</i>	replicação intracelular
<i>svpA</i>	sobrevivência intracelular
Regulação da transcrição e tradução	
<i>agrA</i>	adaptação às condições ambientais
<i>agrC</i>	adaptação às condições ambientais
<i>cheA</i>	proteína de quimiotaxia
<i>cheY</i>	proteína de quimiotaxia
<i>fur</i>	regulador de virulência
<i>lisK</i>	crescimento e adaptação a baixas temperaturas, tolerância ao estresse e virulência
<i>lisR</i>	crescimento e adaptação a baixas temperaturas, tolerância ao estresse e virulência
<i>sigB</i>	adaptação a estresse
<i>stp</i>	regula EF-Tu e controla a sobrevivência bacteriana no hospedeiro infectado
<i>virR</i>	regulon de virulência, também medeia a resistência contra compostos antimicrobianos
<i>virS</i>	medeia a resistência contra compostos antimicrobianos
Ancoragem de Proteínas de Superfície	
<i>lgt</i>	crescimento intracelular e controle da liberação de lipoproteínas
<i>lspA</i>	maturação da lipoproteína
<i>srtA</i>	ancoragem celular
<i>srtB</i>	ancoragem celular
Modulação Imune	
<i>intA</i>	escape do sistema imune e virulência

Gene	Função
Modificação de peptidoglicano	
<i>oatA</i>	escape do sistema imune e virulência
<i>pdgA</i>	virulência bacteriana e evasão do sistema imune inato do hospedeiro
Resistência à Bile	
<i>bsh</i>	sobrevivência e persistência intestinal
<i>mdrM</i>	resistência a antibióticos e outros compostos tóxicos e resposta imune do hospedeiro
Formação de Biofilme e Virulência	
<i>comK</i>	formação de biofilme e virulência

Fonte: Banco de dados BIGSDB-Lm, Instituto Pasteur

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Listeria monocytogenes é um patógeno de origem alimentar que pode causar infecções graves em humanos, particularmente em populações vulneráveis, como mulheres grávidas, recém-nascidos e indivíduos imunocomprometidos. No Brasil, a listeriose não é uma doença de notificação obrigatória, mesmo com a publicação de estudos que evidenciam a presença do patógeno nos alimentos e a ocorrência de casos de listeriose ao longo dos anos. Compreender a diversidade genética e a relação filogenética das cepas de *L. monocytogenes* pode ajudar a identificar fontes potenciais de contaminação e rotas de transmissão, o que poderia favorecer as intervenções de saúde pública e contribuir para a prevenção de possíveis surtos.

A caracterização do viruloma (genes de virulência) das cepas de *L. monocytogenes* pode fornecer informações sobre a patogenicidade de diferentes cepas e o seu potencial de causar quadros clínicos severos. Como vem sendo relatado na literatura internacional, alguns complexos clonais estão associados a casos clínicos envolvendo cepas com maior potencial de virulência.

Ainda mais, comparar as relações filogenéticas e o viruloma de isolados de *L. monocytogenes* de diferentes fontes pode ajudar a identificar cepas com características em comum e possíveis reservatórios do patógeno, o que poderia contribuir para a implementação de medidas de segurança alimentar e assim, prevenir infecções humanas.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Determinar os genes de virulência e os complexos clonais presentes em cepas de *L. monocytogenes* selecionadas da Coleção de Listeria (CLIST/IOC/FIOCRUZ) em seus diferentes nichos ecológicos através da análise dos dados de sequenciamento de genoma total e do uso de ferramentas de bioinformática.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as cepas de *L. monocytogenes* da Coleção de Listeria (CLIST/IOC/Fiocruz) quanto ao repertório de genes de virulência.
- Caracterizar a diversidade filogenética das cepas de *L. monocytogenes* de origem humana, alimentar e ambiental da Coleção de Listeria (CLIST/IOC/Fiocruz)

4. MATERIAL E MÉTODOS

a. Cepas Bacterianas

Sessenta e quatro cepas de *L. monocytogenes* provenientes da Coleção de Listeria (CLIST) do Laboratório de Zoonoses Bacterianas, Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ/RJ foram submetidas ao sequenciamento do genoma total em 2017. No entanto, 7 dessas cepas não apresentaram cobertura suficiente para realizar a montagem do genoma. Em 2021, duas cepas de *L. monocytogenes* foram sequenciadas e acrescentadas ao estudo. E no ano seguinte, um novo sequenciamento foi realizado num total de 24 cepas, das quais, foram incluídas 17 novas cepas e a repetição do sequenciamento das 7 cepas que apresentaram baixa cobertura do genoma em 2017.

O estudo abrangeu um total de 83 cepas de *L. monocytogenes* sequenciadas que foram isoladas previamente de alimentos (31), ambiente de processamento de alimentos (3) e casos clínicos (49) entre os anos de 1977 a 2021 nos estados de São Paulo (39), Rio de Janeiro (24), Rio Grande do Sul (10), Pernambuco (3), Espírito Santo (2), Bahia (2), Paraíba (1), Santa Catarina (1) e no Distrito Federal (1). As cepas foram previamente identificadas por testes bioquímicos e/ou por PCR multiplex conforme Doumith e colaboradores (2004).

As cepas inicialmente incluídas no estudo são provenientes da Dissertação de Mestrado intitulada “*Listeria monocytogenes*: sorotipos, genes de virulência e relação genética entre amostras de origem humana e de alimentos no Brasil”, concluída em 2015 (158). Naquela ocasião, foram selecionadas todas as 57 cepas clínicas (no período de 1975 a 2013) depositadas na Coleção de Listeria (CLIST) e 43 cepas isoladas de alimentos. O critério de seleção para inclusão destas cepas de alimentos no presente estudo foi: selecionar uma cepa por sorotipo de acordo com a data e local de isolamento, no período de 2001 a 2013 de acordo com a disponibilidade das mesmas na CLIST. Utilizou-se como critério de inclusão uma cepa de *L. monocytogenes* pertencente, pelo menos, a cada um dos 56 pulsotipos encontrados na dissertação e a inclusão das cepas envolvidas no surto de listeriose no Rio de Janeiro em 2008. Durante o período presente do

estudo, surgiu a oportunidade de sequenciar 19 novas cepas. Estas contemplaram cepas isoladas em anos mais recentes e depositadas na CLIST.

A Coleção de *Listeria* (CLIST) do Laboratório de Zoonoses Bacterianas, Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ/RJ é membro da *World Federation for Culture Collections* (WFCC) sob o número WDCM 947 e todas as cepas da Coleção bacteriana estão mantidas por criopreservação em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) acrescido de glicerol a 20% em freezer a -80°C. As cepas da CLIST, incluindo as utilizadas no estudo, foram anteriormente identificadas de forma fenotípica e molecular, e são oriundas de Instituições de Ensino Superior e de Pesquisa, Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN), hospitais, laboratórios clínicos, ambiente e de indústrias alimentícias de diversas regiões do Brasil.

b. Sequenciamento do Genoma Total de *L.monocytogenes*

O DNA genômico das cepas de *L. monocytogenes* foi purificado com o Kit Dneasy Blood and Tissue (Qiagen, Valencia, Califórnia, EUA). O DNA obtido foi quantificado utilizando o fluorímetro QUBIT (Life Technologies, Carlsbad, Califórnia, EUA). O Kit Nextera XT (Illumina, San Diego, Califórnia, EUA) foi empregado para o preparo da biblioteca de DNA genômico. O sequenciamento de DNA foi realizado nas plataformas HiSeq 2500 (Illumina Inc., San Diego, Califórnia, EUA) da Policlínica Piquet Carneiro-UERJ e MiSeq (Illumina Inc., San Diego, Califórnia, EUA) da Rede de Plataformas Tecnológicas (RTP) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC)- FIOCRUZ/RJ.

As leituras obtidas com o sequenciamento foram processadas através do programa fastp versão 0.23.2 (Chen et al., 2018). O programa Mash versão 2.3 (Ondov et al., 2016) foi utilizado para analisar as leituras em relação à cobertura esperada dos genomas e a identidade das cepas contra os genomas do GTDB lançamento 207 (Parks et al., 2021). Assim, somente as cepas de *L. monocytogenes* com cobertura de leitura superior a 20X foram selecionadas para a montagem dos genomas através do programa Unicycler versão v0.5.0 (Wick et al., 2017) e nas subsequentes análises. As métricas das montagens genômicas foram avaliadas com o programa QUAST versão 5.1.0rc1 (Gurevich et al., 2013).

Os genomas obtidos foram anotados com o programa PGAP versão 2022-04-14.build 6021 (Tatusova et al., 2016).

c. Tipificação das cepas

A análise *in silico* foi realizada a partir da montagem dos genomas de *L. monocytogenes*, utilizando o programa MLST versão 2.21 (<https://github.com/tseemann/mlst>) contra o esquema de tipificação listeria_2 do PubMLST (Jolley, Bray, & Maiden, 2018). Os complexos clonais (CC) e os Multi-Locus Sequence Type (ST) foram caracterizados a partir de sete genes conservados analisados, *abcZ* (codifica o transportador ABC), *bglA* (beta-glucosidase), *cat* (catalase), *dapE* (succinil diaminopimelato desuccinilase), *dat* (D-aminoácido aminotransferase), *ldh* lactato desidrogenase e a *lhkA* (histidina quinase).

A análise dos sorotipos das cepas sequenciadas foi realizada com o programa LisSero versão 0.4.9 (Doumith et al., 2004). O programa JolyTree versão 2.1.211019ac foi utilizado na construção da árvore filogenética das cepas sequenciadas (Criscuolo, 2020). A análise da árvore filogenética utilizando as sequências genômicas de *L. monocytogenes* foi baseada em MinHash, utilizada para reduzir sequências grandes (ou conjuntos de sequências) a representações de esboço compactadas. Dessa forma, a similaridade das sequências originais pode ser rapidamente estimada (Ondov et al., 2016).

d. Viruloma de *L.monocytogenes*

A análise *in silico* dos genes envolvidos na virulência de *L. monocytogenes* foi obtida através do software ABRicate (<https://github.com/tseemann/abricate>) versão 1.0.1 contra o banco de dados BIGSdb-Lm (Moura et al., 2016). No estudo, foi analisada a presença de genes envolvidos na invasão celular, adesão, sobrevivência intracelular, regulação da transcrição e tradução.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização das cepas de *L. monocytogenes*

Das 83 cepas da Coleção de *Listeria* sequenciadas, 72 cepas foram classificadas como *L. monocytogenes*, duas cepas foram caracterizadas como outras espécies de *Listeria*, a cepa CLIST 4610 foi classificada como *L. innocua* e a CLIST 4778 como *L. kieliensis*. A cepa CLIST 2929 foi identificada como *Streptococcus oralis*. Desse modo, todas as cepas não caracterizadas como *L. monocytogenes* foram excluídas das análises subsequentes.

As cepas CLIST 0715, CLIST 0720, CLIST 1015, CLIST 2161, CLIST 2164, CLIST 2167, CLIST 2168, CLIST 3720 não apresentaram cobertura suficiente para a montagem dos genomas (<20x) e por esse motivo, foram excluídas do estudo.

A montagem genômica foi realizada nas 72 cepas de *L. monocytogenes*, apresentando um tamanho médio de 2.944.098 pares de bases e uma média de 61,5 contigs com conteúdo médio de citosina-guanina de 37,91%. Os genomas possuem em média 2.927 genes, sendo 2.889,47 genes codificantes, 47,04 RNAs e 25,54 pseudogenes. Todas as montagens se mostraram completas em relação ao conteúdo de genes ($\geq 95\%$) e livres de contaminação ($< 5\%$) pela análise com o programa CheckM.

As 72 cepas de *L. monocytogenes* foram isoladas de casos clínicos (43), de alimentos (26) e de ambientes de processamento de alimentos (3). As cepas foram enviadas ao Laboratório de Zoonoses Bacterianas e depositadas na Coleção de *Listeria* do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) para o diagnóstico laboratorial conclusivo. Os isolamentos ocorreram entre 1977 e 2021, sendo proveniente dos estados de São Paulo (n=31), Rio de Janeiro (n=23), Rio Grande do Sul (n=9), Espírito Santo (n=2), Pernambuco (n=3), Bahia (1), Distrito Federal (n=1), Paraíba (1) e Santa Catarina (n=1) (Tabela 1).

Dentre as cepas clínicas humanas, o líquido cefalorraquidiano foi o espécime predominante entre os isolados (n=20), seguido de sangue (n=18), conforme a Tabela 2. Três cepas foram isoladas de ambientes de produção dos alimentos, como ralo de processamento, piso da sala de salmoura e o ralo do chuveiro de ambiente

de cozimento (Tabela 3). Nos alimentos a principal fonte de isolamento foram os laticínios (n=9), seguida de saladas (n=6) como observado na Tabela 4.

Tabela 1. Distribuição das 72 cepas de *L. monocytogenes* em diferentes anos e Estados

Estado	Período de Isolamento					Total(%)
	1977-1980	1981-1990	1991-2000	2001-2010	2011-2021	
São Paulo	8	3	5	13	2	31 (43)
Rio de Janeiro	0	1	2	12	8	23 (32)
Rio Grande do Sul	0	0	0	4	5	9 (13)
Pernambuco	2	0	0	0	1	3 (5)
Espírito Santo	0	0	0	1	1	2 (3)
Bahia	0	0	0	0	1	1 (1)
Paraíba	0	0	0	1	0	1 (1)
Santa Catarina	0	0	0	0	1	1 (1)
Distrito Federal	0	1	0	0	0	1 (1)
Total (%)	10 (13)	5 (7)	7 (10)	31 (43)	19 (27)	72 (100)

Tabela 2. Distribuição das 43 cepas clínicas de *L. monocytogenes* segundo os espécimes clínicos

Estado	Espécimes Clínicos					Total (%)
	Líquor (%)	Sangue (%)	Líquido peritoneal (%)	Placenta (%)	Fezes (%)	
São Paulo	11	5	0	0	0	16 (37)
Rio de Janeiro	4	10	2	0	1	17 (40)
Rio Grande do Sul	2	1	0	1	0	4 (9)
Pernambuco	0	2	0	0	0	2 (5)
Espírito Santo	1	1	0	0	0	2 (5)
Paraíba	1	0	0	0	0	1 (2)
Distrito Federal	1	0	0	0	0	1 (2)
Total (%)	20	19	2	1	1	43 (100)

Tabela 3. Distribuição das 3 cepas de *L. monocytogenes* isoladas em ambiente de processamento de alimentos

Estado	Ambiente de Produção de Alimentos			Total (%)
	Ralo da sala do processamento	Piso da Sala de Salmoura	Ralo do Chuveiro de Cozimento	
Rio Grande do Sul	1	1	0	2 (67)
Rio de Janeiro	0	0	1	1 (33)
Total (%)	1 (33)	1 (33)	1 (33)	3 (100)

Tabela 4. Distribuição das 26 cepas de *L. monocytogenes* isoladas de alimentos

Estado	Alimentos					Total (%)
	Salada	Laticínio	Embutido	Prato Pronto	Produto cárneo	
São Paulo	4	1	1	5	4	15 (58)
Rio de Janeiro	1	4	0	0	0	5 (19)
Rio Grande do Sul	0	3	0	0	1	4 (15)
Bahia	1	0	0	0	0	1 (4)
Santa Catarina	0	1	0	0	0	1 (4)
Total (%)	6	9	1	5	5	26 (100)

5.2. Tipificação Molecular das cepas *L. monocytogenes*

A árvore filogenética baseada em MinHash foi obtida a partir das sequências genômicas de *L. monocytogenes*, observada na Figura 3, permitiu estimar a similaridade entre as cepas de *L. monocytogenes* presentes no estudo. A análise *in silico* de MLST das 72 cepas de *L. monocytogenes* revelou a presença de 11 Complexos Clonais, com a predominância do Complexo Clonal 3 (18 cepas), seguidos dos CCs em frequência decrescente: CC1 (15), CC2 (11), CC218 (10), CC9 (9), CC59 (2), CC155 (2), CC8 (2), CC7 (1), CC4 (1) e CC315 (1) (Figura 4 e Figura 5). Na distribuição dos CC nos diferentes Estados, observou-se que os complexos clonais CC1, CC3 e CC218 foram encontrados predominantemente em cepas oriundas de São Paulo e do Rio de Janeiro (Figura 6).

O complexo clonal prevalente nas cepas do estudo foi o CC3 (18 cepas), observado tanto nas cepas isoladas de alimentos quanto nas cepas clínicas. No grupo selecionado para o estudo, o CC3 foi primeiramente observado em uma cepa de lícior em São Paulo no ano de 1977, permaneceu sendo observado em cepas clínicas do mesmo estado até 1981. Mais tardiamente, o CC3 foi observado no Rio de Janeiro em 2000 em uma cepa de hemocultura de um recém nato, em duas

cepas de queijo em 2005 e 2006, e no ano de 2008, em 4 cepas de *L. monocytogenes* isoladas de amostras clínicas envolvidas em um surto de listeriose hospitalar no Rio de Janeiro (Figura 7).

O surto de listeriose ocorrido em 2008 em uma unidade hospitalar do Rio de Janeiro envolvendo 6 pacientes foi descrito anteriormente por Martins e colaboradores (2010). Quatro cepas de *L. monocytogenes* isoladas desses pacientes foram analisadas no presente estudo. Foi observado que todas as cepas pertencem ao CC3, com uma cepa tendo sido recuperada de líquido peritoneal e as demais recuperadas do sangue do paciente (Tabela 5). Na árvore filogenética, foi observada a proximidade genética entre as cepas do surto hospitalar (CLIST 2085, CLIST 2088, CLIST 2083, CLIST 2082), e além disso, uma alta relação filogenética entre a cepa CLIST 2169 (RJ-2000-sangue) e a cepa CLIST 2083 (RJ-2008-sangue).

Ainda no clado que compreende o CC3, observou-se alta relação entre a CLIST 2170 isolada de líquido na Paraíba em 2001 e a CLIST 1400 isolada de alimento no Rio de Janeiro em 2006. As cepas de origem clínica CLIST 3710, CLIST 3718, CLIST 3713 e CLIST 3708, isoladas em anos subsequentes em São Paulo (1977-1981) também revelaram alta proximidade filogenética, e a cepa CLIST 3981, isolada de alimento no Rio de Janeiro em 2005 revelou alta relação com a cepa CLIST 3708 (Figura 8).

No Rio de Janeiro, o CC1 foi observado em casos de listeriose em diferentes anos (1990, 1995, 2014 e 2017), mas não foi obtida nenhuma cepa de fonte alimentar do Estado no grupo do estudo (Figura 9). No entanto, a cepa clínica CLIST 4496 isolada no Rio de Janeiro em 2017 está altamente relacionada às cepas de alimento no estado de São Paulo de 2009 (CLIST 0663/prato pronto e CLIST 0678/salada pronta) inserida no mesmo clado. Em São Paulo, o CC1 foi observado em uma cepa de líquido, quatro cepas de saladas prontas para o consumo e pratos prontos em 2009, e 1 prato pronto para o consumo em 2011 (Figura 10).

A cepa CLIST 3620, isolada de queijo em SP/2013 e a CLIST 3960, isolada de sangue no RJ/2014 revelaram grande proximidade filogenética. Além disso, foi possível observar um agrupamento formado por duas cepas clínicas: CLIST 2934 e CLIST 2938, isoladas em São Paulo no ano de 1982 e Rio de Janeiro em 1995, respectivamente (Figura 10).

O CC2 foi observado em 2 cepas clínicas em São Paulo (1977), alimentos no Rio Grande do Sul em 2002 e 2011, e em cepas clínicas em 2010 e 2014, uma cepa isolada de alimento na Bahia (2014), e no Rio de Janeiro foi observado em cepas clínicas em 2006, 2012 e 2021. No ano de 2021, foi observado o CC2 na cepa CLIST 4774, isolada de sangue e o mesmo clone foi isolado de uma cepa de ricota (CLIST 4775). Essas cepas isoladas mais recentemente, ficaram agrupadas a uma cepa clínica isolada de líquido no Rio de Janeiro em 2012 (CLIST 0001) (Figura 11).

O CC218 foi observado em São Paulo a partir de 2 casos de listeriose em uma unidade hospitalar em 1992 e 3 casos nessa mesma unidade em 1997. No entanto, o CC218 foi observado somente em uma cepa de prato pronto isolada em 2001 no mesmo Estado. Ademais, o CC218 foi observado em casos de listeriose oriundos de outros estados da região sudeste com grande relação genética e isolados em diferentes anos (CLIST 2930, CLIST 0629 e CLIST 2087) (Figura 12).

As cepas CLIST 2940, CLIST 2943, CLIST 3987, CLIST 2946, CLIST 2944, CLIST 2945 e CLIST 3945 formaram um agrupamento de cepas clínicas isoladas em São Paulo (1992 e 1997), no Rio de Janeiro (2014) e uma cepa de alimento isolada em São Paulo (2001) (Figura 13).

A primeira observação do CC9 foi em 1978, um caso clínico em Pernambuco e outro em São Paulo, posteriormente, foi isolado nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro nos anos de 1985, 2001, 2008, 2011 e 2016 de espécimes clínicos, alimentos e ambiente de produção de alimentos. O isolamento mais recente foi em 2016 no Rio de Janeiro, mais especificamente, de um *swab* coletado do ralo de cozimento da área de produção (Figura 14).

Duas cepas (CLIST 3980 e CLIST 2088) isoladas no Rio de Janeiro a partir de uma amostra de ricota (2005) e sangue (2008), respectivamente, tiveram as sequências genômicas enviadas ao Instituto Pasteur e foram caracterizadas como novos ST, descritos neste estudo. A cepa CLIST 3980 pertence ao CC155 e ST 1434, já CLIST 2088 pertence ao CC3 e ST 1435 e estava envolvida no surto de listeriose hospitalar ocorrido em 2008 no Estado.

Figura 3. Árvore Filogenética das 72 cepas de *L. monocytogenes* sequenciadas utilizando o Programa Jolytree versão 2.1.211019ac

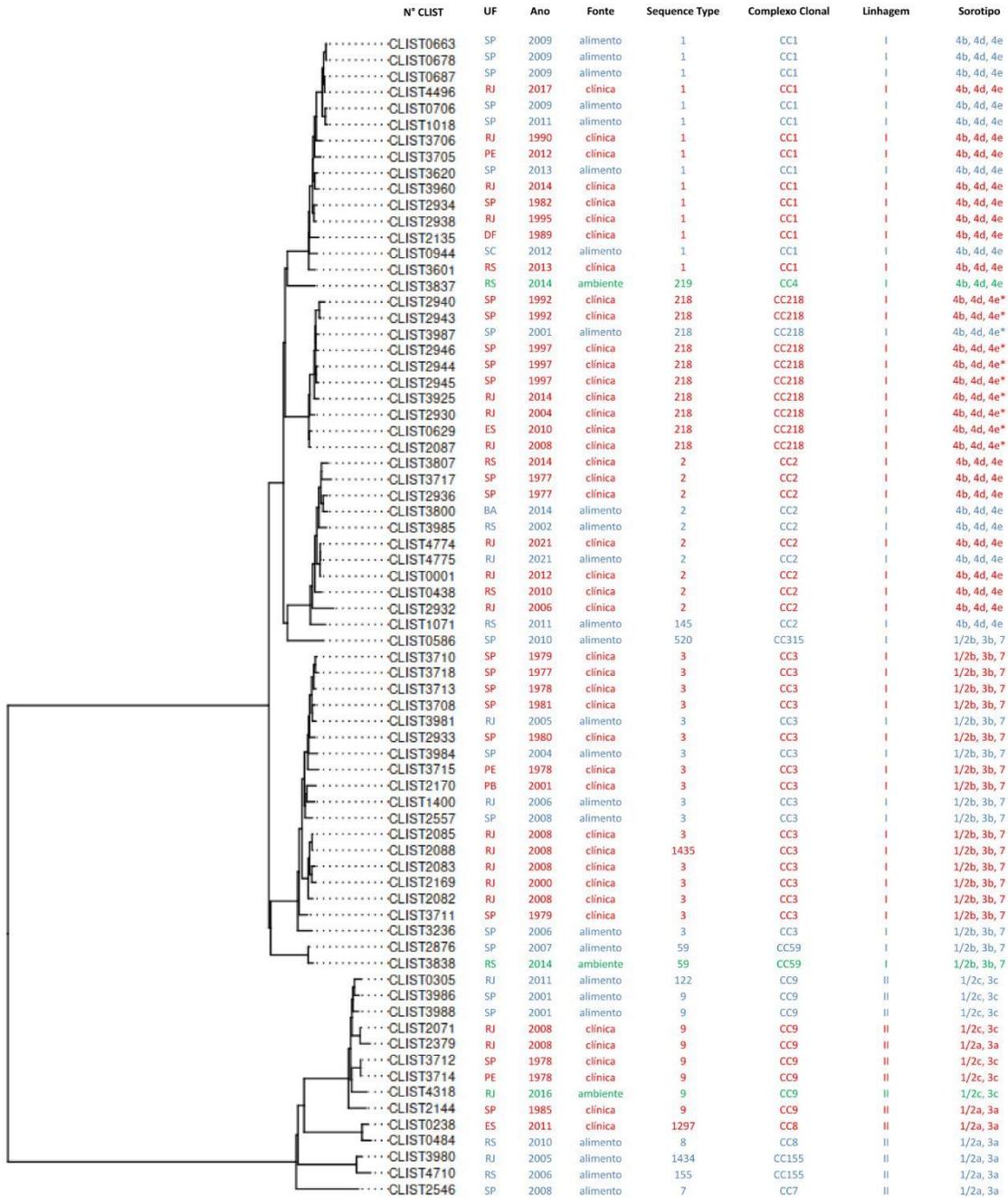


Figura 4. Distribuição dos complexos clonais nas 72 cepas de *L. monocytogenes* segundo a fonte de isolamento

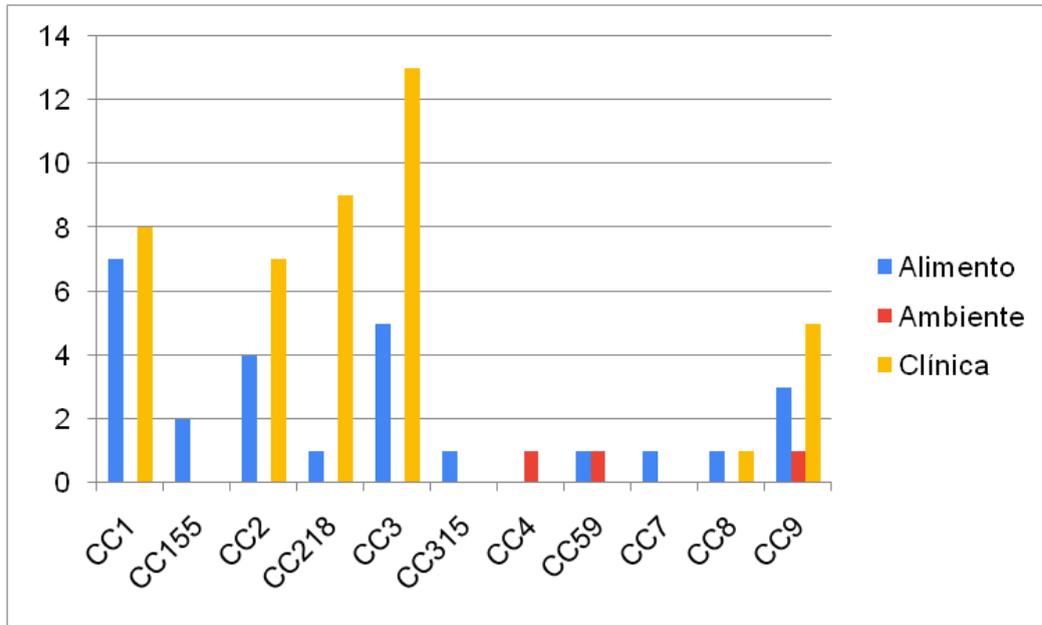


Figura 5. Distribuição dos complexos clonais nas 72 cepas de *L. monocytogenes* conforme o isolado clínico, alimentar ou ambiental

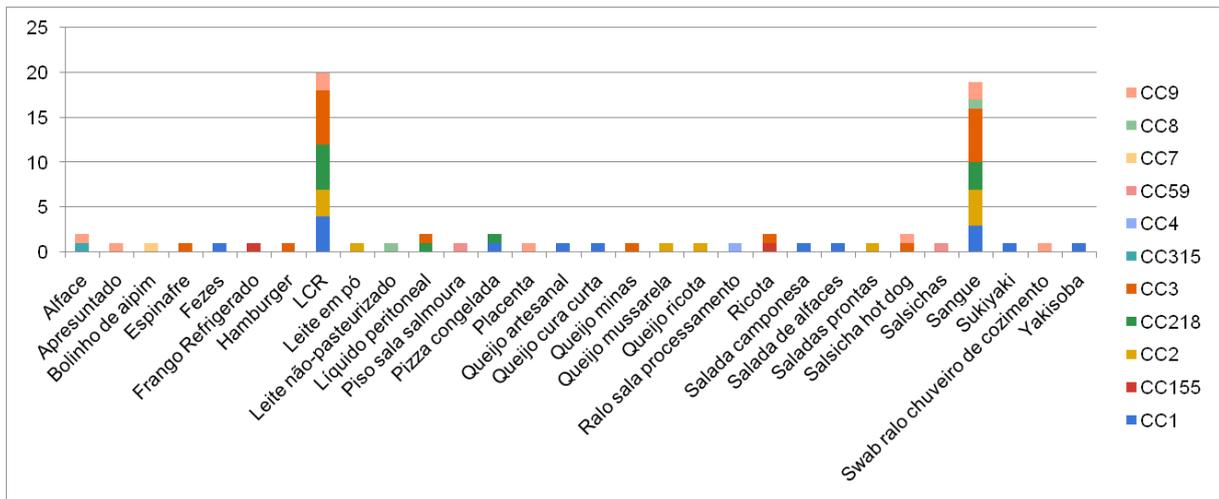


Figura 6. Distribuição das 72 cepas de *L. monocytogenes* de acordo com o Estado

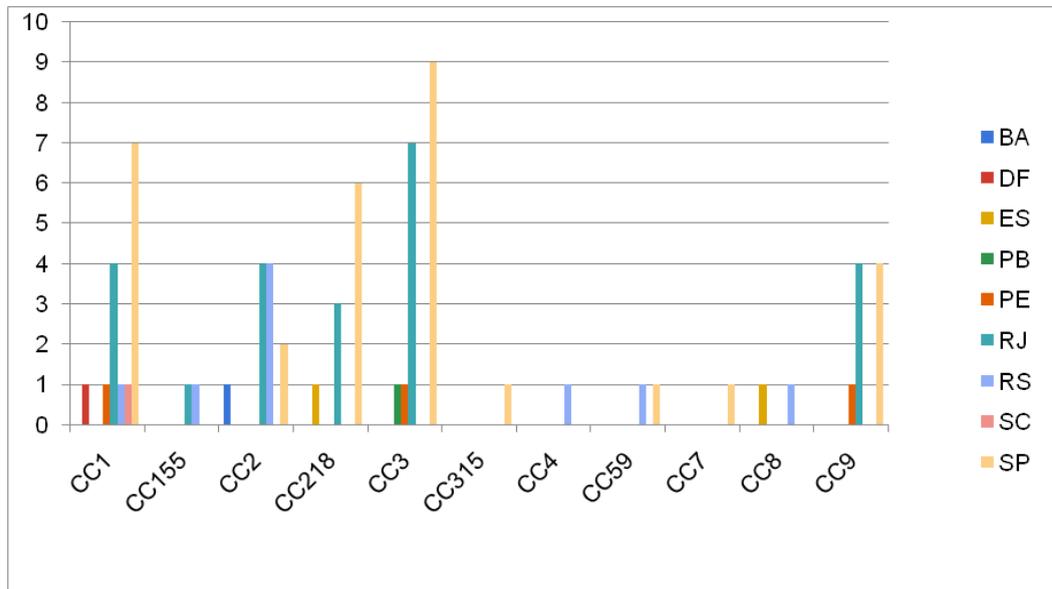


Figura 7. Distribuição das 18 cepas do Complexo Clonal 3 de *L. monocytogenes* conforme o ano de isolamento

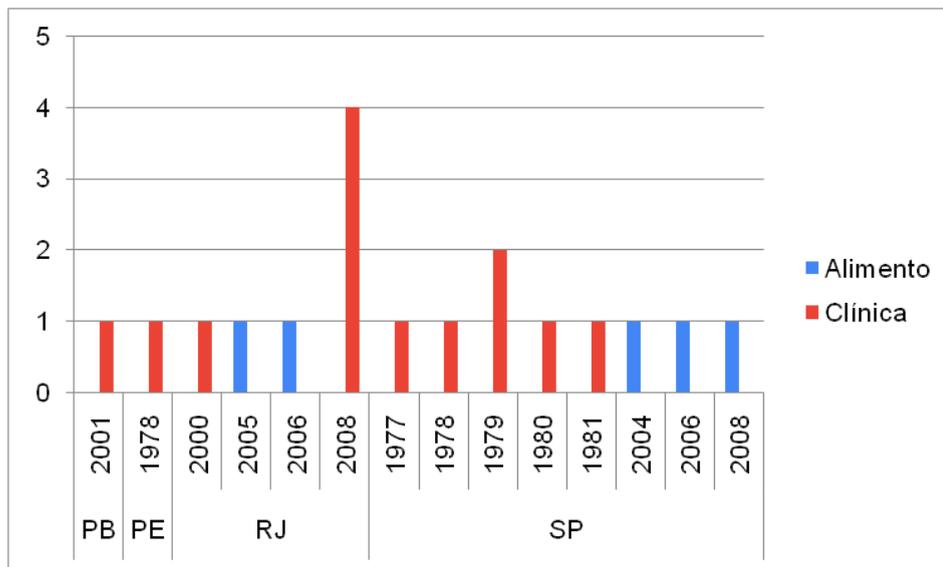


Tabela 5. Distribuição clonal das cepas clínicas de *L. monocytogenes* envolvidas em um surto de uma unidade hospitalar no Rio de Janeiro em 2008

N° CLIST	UF	Ano	Fonte	Isolado	CC
CLIST 2085	RJ	2008	Clínica	Sangue	CC3
CLIST 2088	RJ	2008	Clínica	Sangue	CC3
CLIST 2083	RJ	2008	Clínica	Sangue	CC3
CLIST 2082	RJ	2008	Clínica	Líquido peritoneal	CC3

Figura 8. Árvore Filogenética das 18 cepas de *L. monocytogenes* sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 3 (Programa Jolymtree versão 2.1.211019ac)

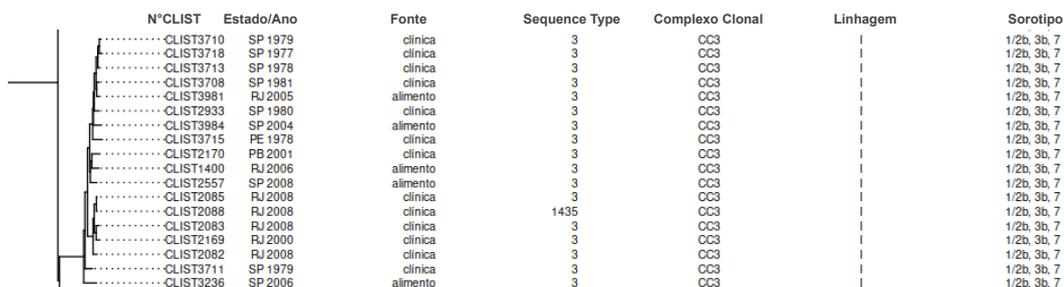


Figura 9. Distribuição das 15 cepas do Complexo Clonal 1 de *L. monocytogenes* de acordo com o ano de isolamento

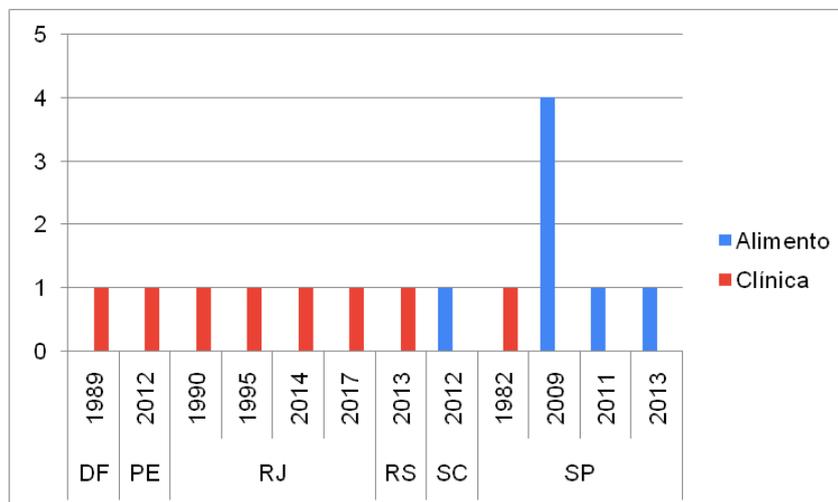


Figura 10. Árvore Filogenética das 15 cepas de *L. monocytogenes* sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 1 (Programa Jolytree versão 2.1.211019ac)

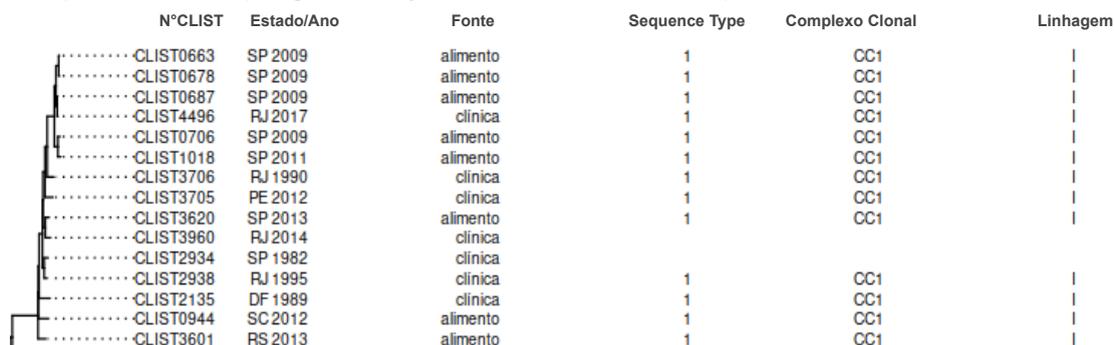


Figura 11. Árvore Filogenética das 11 cepas de *L. monocytogenes* sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 2 (Programa Jolytree versão 2.1.211019ac)

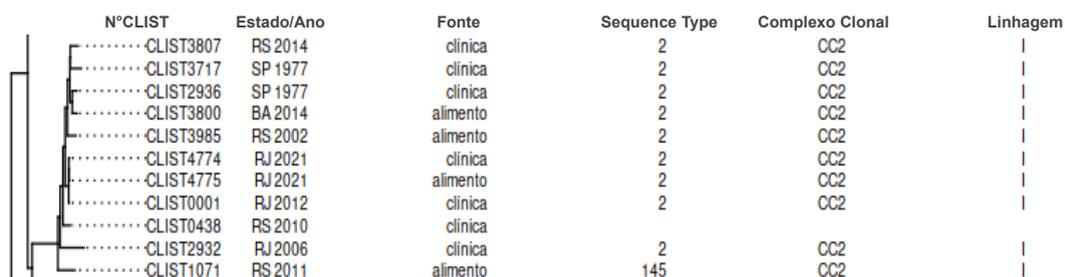


Figura 12. Distribuição das 10 cepas do Complexo Clonal 218 de *L. monocytogenes* de acordo com o ano de isolamento

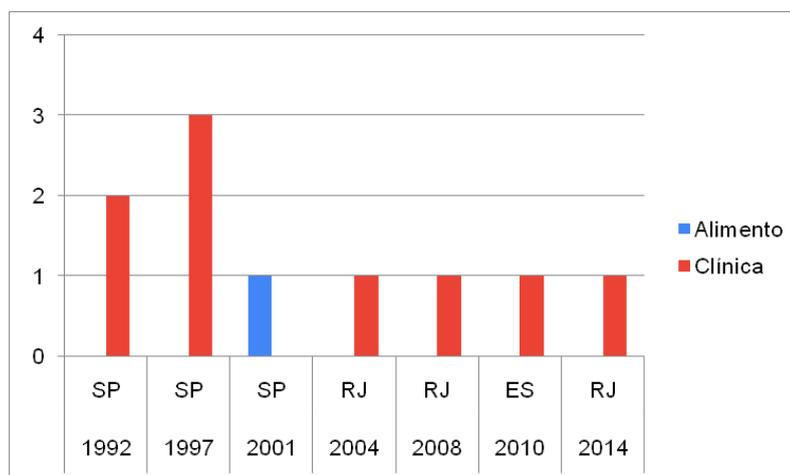
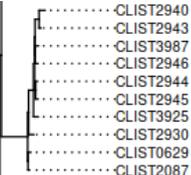
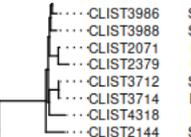


Figura 13. Árvore Filogenética das 10 cepas de *L. monocytogenes* sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 218 (Programa Jolymtree versão 2.1.211019ac)



N°CLIST	Estado/Ano	Fonte	Sequence Type	Complexo Clonal	Linhagem	Sorotipo
CLIST2940	SP 1992	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST2943	SP 1992	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST3987	SP 2001	alimento	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST2946	SP 1997	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST2944	SP 1997	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST2945	SP 1997	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST3925	RJ 2014	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST2930	RJ 2004	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST0629	ES 2010	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e
CLIST2087	RJ 2008	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e ^e

Figura 14. Árvore Filogenética das cepas de *L. monocytogenes* sequenciadas pertencentes ao Complexo Clonal 9 (Programa Jolymtree versão 2.1.211019ac)

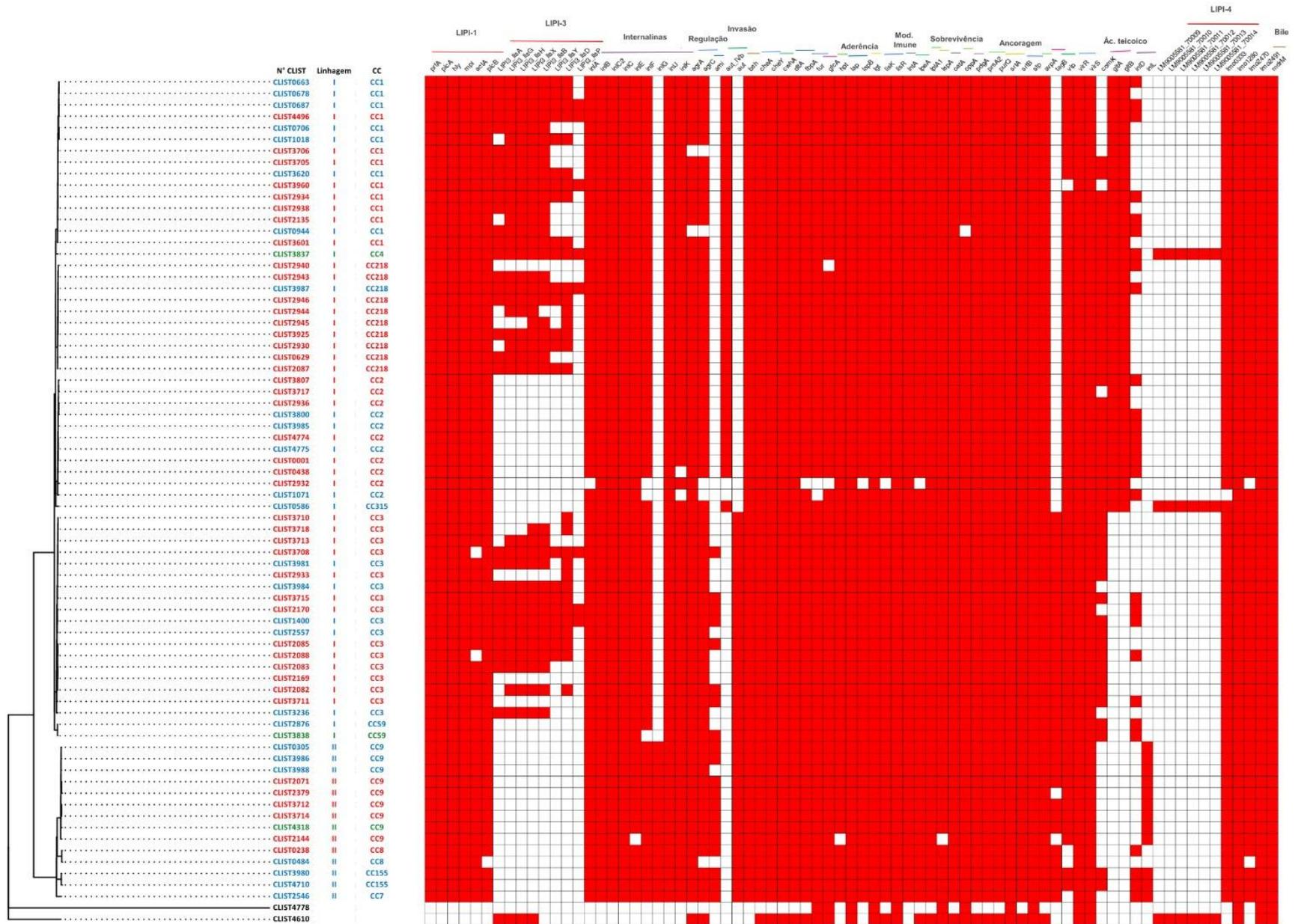


N°CLIST	Estado/Ano	Fonte	Sequence Type	Complexo Clonal	Linhagem	Sorotipo
CLIST3986	SP 2001	alimento	9	CC9	II	1/2c, 3c
CLIST3988	SP 2001	alimento	9	CC9	II	1/2c, 3c
CLIST2071	RJ 2008	clínica	9	CC9	II	1/2c, 3c
CLIST2379	RJ 2008	clínica	9	CC9	II	1/2a, 3a
CLIST3712	SP 1978	clínica	9	CC9	II	1/2c, 3c
CLIST3714	PE 1978	clínica	9	CC9	II	1/2c, 3c
CLIST4318	RJ 2016	ambiente	9	CC9	II	1/2c, 3c
CLIST2144	SP 1985	clínica	9	CC9	II	1/2a, 3a

5.3. Viruloma de *L. monocytogenes*

Na Figura 15, o *heatmap* mostra a presença ou ausência dos genes de virulência em todas as 72 cepas de *L. monocytogenes* do estudo. Os quadrados dos genes presentes nas cepas estão coloridos em vermelho e os genes ausentes nas cepas permanecem sem preenchimento (branco), as cepas clínicas estão identificadas em vermelho, as cepas isoladas de alimentos em azul e as cepas isoladas do ambiente de produção de alimentos estão identificadas em verde. As cepas CLIST 4610 e CLIST 4778 incluídas no *heatmap*, pertencem às espécies *L. innocua* e *L. kieliensis*, respectivamente. As mesmas foram utilizadas como cepas externas ao clado da espécie.

Figura 15. Viruloma das 72 cepas de *L. monocytogenes* utilizando o banco de BIGSdb-LM do Instituto Pasteur, Paris



5.3.1. Ilhas de Patogenicidade

As Ilhas de Patogenicidade descritas em *L. monocytogenes* são as LIPI-1, LIPI-3 e LIPI-4. A LIPI-1 contempla os genes *prfA*, *plcB*, *plcA*, *hly*, *mpl* e *actA*, neste estudo foi detectada a presença dos genes *prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl* em todas as 72 cepas de *L. monocytogenes*. No entanto, dois genes presentes nessa ilha de patogenicidade, *actA* ou *plcB*, não foram observados em três cepas. A cepa CLIST 2088 (sangue/CC3/RJ/2008) e CLIST 3708 (Líquor/CC3/SP/1981) não apresentaram o gene *actA*, e o gene *plcB* não foi observado na cepa CLIST 0484 (leite/CC8/RS/2010).

A LIPI-3 é codificante da listeriosina S, um fator de virulência que apresenta função de hemolisina e bacteriocina, e está envolvida na modulação da microbiota intestinal. Característico da linhagem I (sorotipos 1/2b, 3b, 4b, 4d e 4e), a LIPI-3 não foi observada em nenhuma das 14 cepas da linhagem II (sorotipos 1/2a, 3a, 1/2c, 3c). Ao analisar o genoma das 57 cepas pertencentes à linhagem I (79% do total das cepas do estudo), os genes pertencentes à LIPI-3 foram identificados em 41 genomas (57% do total de cepas do estudo). As 41 cepas que apresentaram genes que compõem a LIPI-3, foram caracterizadas como pertencentes a 4 complexos clonais distintos: CC1, CC4, CC218 e CC3, totalizando 15 cepas do CC1, 16 do CC3, 9 do CC218 e 1 do CC4 (Tabela 6). No entanto, a frequência dos genes encontrados na LIPI-3 destas cepas é heterogênea, como é possível observar na Tabela 7. Dentre as 15 cepas do CC1, *lisa* não foi observado em 2 cepas, *lisD* em 6 cepas, *lisY* em 6 cepas, *lisP* em 12 cepas. Nas 16 cepas do CC3, é observada a ausência dos genes *lisY* e *lisP*, 8 e 13, respectivamente. Na cepa do CC4, todos os genes constituintes estavam presentes. Já nas 9 cepas do CC218, foi observado que o gene *lisY* estava ausente em 4 e *lisP*, em 8 cepas.

Apesar dessas cepas do estudo apresentarem genes constituintes da LIPI-3, o estudo realizado por Clayton e colaboradores (2011), demonstrou que os genes *lisa*, *lisG*, *lisH*, *lisX*, *lisB*, *lisY* e *lisD* são essenciais para a atividade hemolítica da Listeriolisina S; por meio da geração de mutantes com deleção em diferentes genes que compõem a LIPI-3. Por este motivo, somente 21 cepas de *L. monocytogenes* apresentaram todos os genes considerados essenciais para a atividade hemolítica. Todas pertencentes à linhagem I, oito cepas pertencentes ao CC1, 8 do CC3, 1 do CC4 e 4 do CC218.

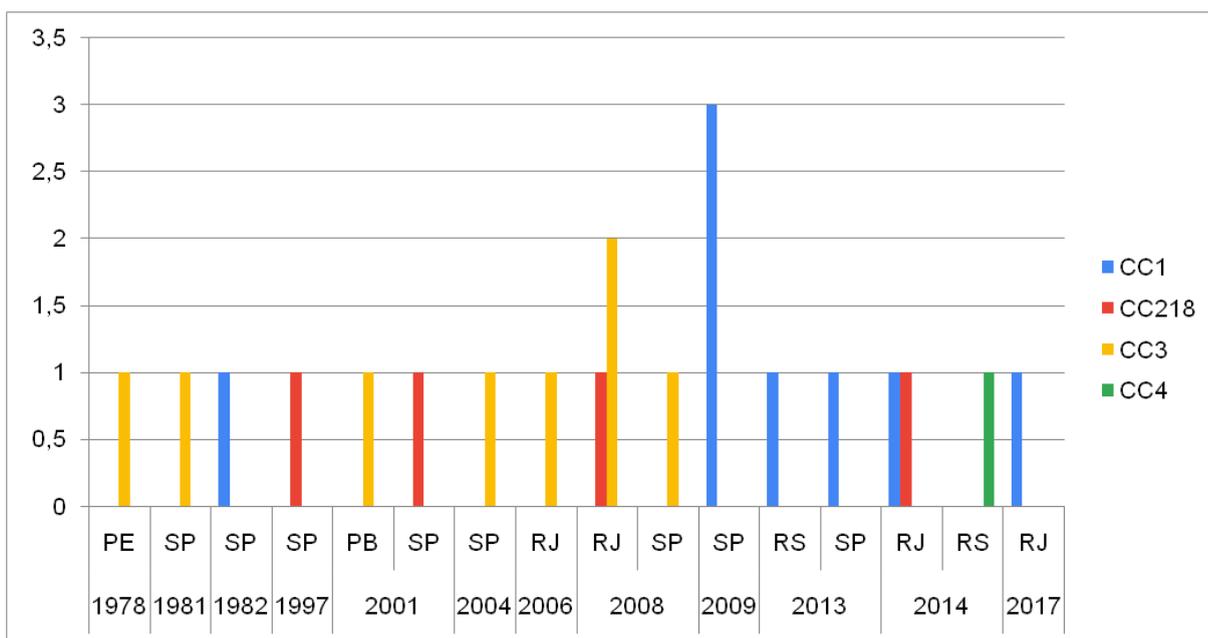
Entretanto a LIPI-3 não foi observada em nenhuma cepa dos complexos clonais CC2, CC315 e CC59, também pertencentes à linhagem I (Figuras 15 e 16).

A LIPI-4 foi observada em duas cepas de *L. monocytogenes*, CLIST 586 e CLIST 3837, a primeira pertencente ao CC315 foi isolada de alface em 2010 (São Paulo) e a última do CC4 isolada de um ralo do ambiente de processamento de alimentos em 2014 (Rio Grande do Sul).

Tabela 6. Presença dos genes constituintes da LIPI-3 em 41 cepas de *L. monocytogenes*

Complexos Clonais (nº de cepas)	Genes da LIPI-3							
	<i>lIsA</i>	<i>lIsB</i>	<i>lIsD</i>	<i>lIsG</i>	<i>lIsH</i>	<i>lIsX</i>	<i>lIsY</i>	<i>lIsP</i>
CC1 (15)	13	15	9	15	15	15	9	3
CC218 (9)	6	8	7	8	8	9	5	1
CC3 (16)	11	14	13	13	13	14	8	3
CC4 (1)	1	1	1	1	1	1	1	1

Figura 16. Distribuição das 21 cepas de *L. monocytogenes* positivas para LIPI-3 de acordo com os respectivos Complexos Clonais, Estado e Ano de Isolamento



5.3.2. Internalinas

As internalinas codificadas pelos genes *inIB*, *inIC*, *inIC2* e *inIJ*, estavam presentes em todas as 72 cepas do estudo. O gene *inIA* não foi detectado em 1 cepa de origem clínica CLIST 2932 (sangue/CC2/RJ/2006), e *inIE* não estava presente em 1 cepa CLIST 2144 (sangue/CC9/SP/1985). Os genes *inIK* e *inIF* não foram observados em 2 e 3 cepas, respectivamente (Figura 17).

O gene *inID* foi observado em 28 (39%) cepas: 8 pertencentes ao CC2; 6 ao CC1; 5 ao CC3; 2 cepas do complexo clonal CC59, CC155 e CC218; e uma cepa pertencente ao CC4, CC7 e CC8 por complexo clonal, respectivamente (Figura 18).

O gene *inIG* foi encontrado em 14 cepas do estudo, correspondendo a 100% das cepas da linhagem II do estudo (CC7, CC8, CC9 e CC155), não observada em nenhuma das cepas pertencentes à linhagem I. O gene *inIL*, assim como o *inIG*, foi observado exclusivamente em cepas da linhagem II, totalizando 12 cepas dos seguintes CC: 9 do CC9, 2 do CC155 e 1 do CC7.

Figura 17. Frequência dos genes codificadores de internalinas 72 cepas de *L. monocytogenes*

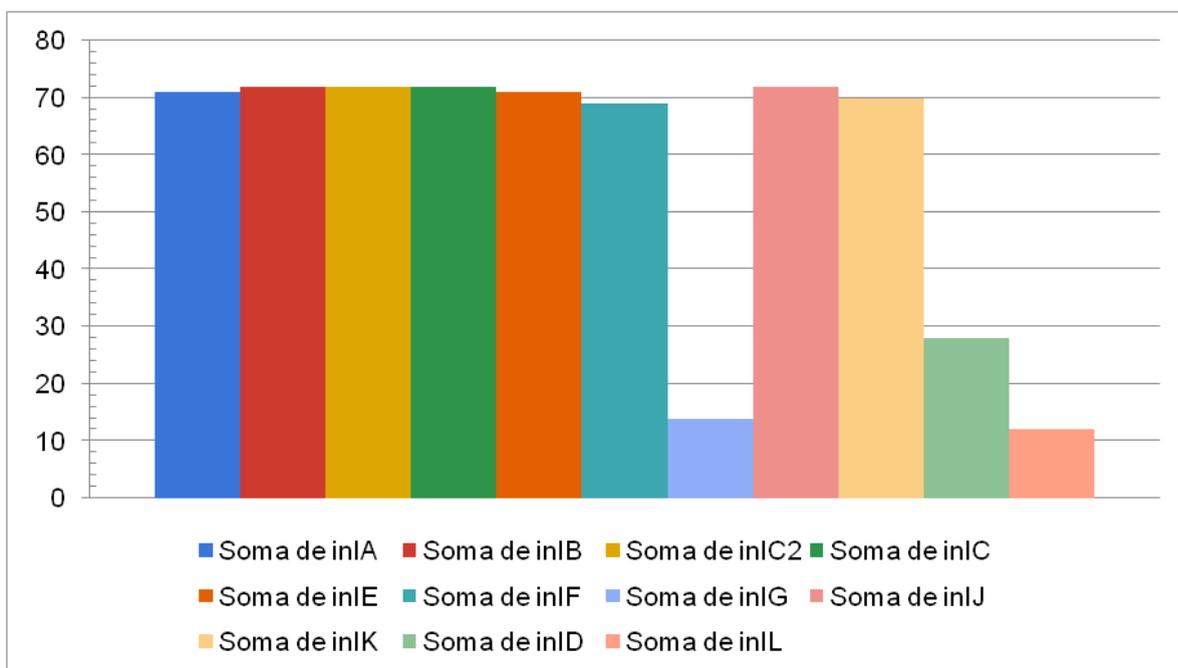
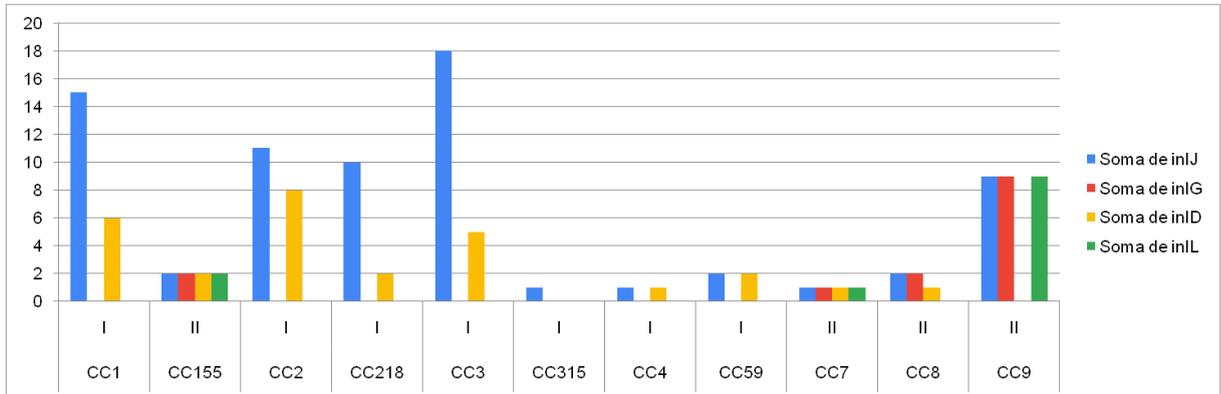


Figura 18. Frequência dos genes codificadores internalinas D, G, J e L nas 72 cepas de *L. monocytogenes*



5.3.3. Aderência Bacteriana (*ami*, *dltA*, *fbpA*, *lap*, *lapB*)

Os genes envolvidos na adesão bacteriana ao hospedeiro *dltA* e *lap* foram observados em todas as 72 cepas do estudo, enquanto os genes *fbpA* e *lapB* foram observados em 71 cepas e ausentes somente na cepa CLIST 2932 (sangue/CC2/RJ/2006) (Figura 19). O gene *ami* foi encontrado em 20 (28%) cepas, apresentando maior heterogeneidade quanto à distribuição da amostra do estudo. Foi encontrado mais frequentemente em cepas clínicas dos CC3 (7 das 18) e CC9 (8 das 9) cepas de *L. monocytogenes* (Figura 20).

Figura 19. Frequência dos genes *dltA*, *fbpA*, *lap* e *lapB* nas 72 cepas de envolvidos na aderência bacteriana ao hospedeiro

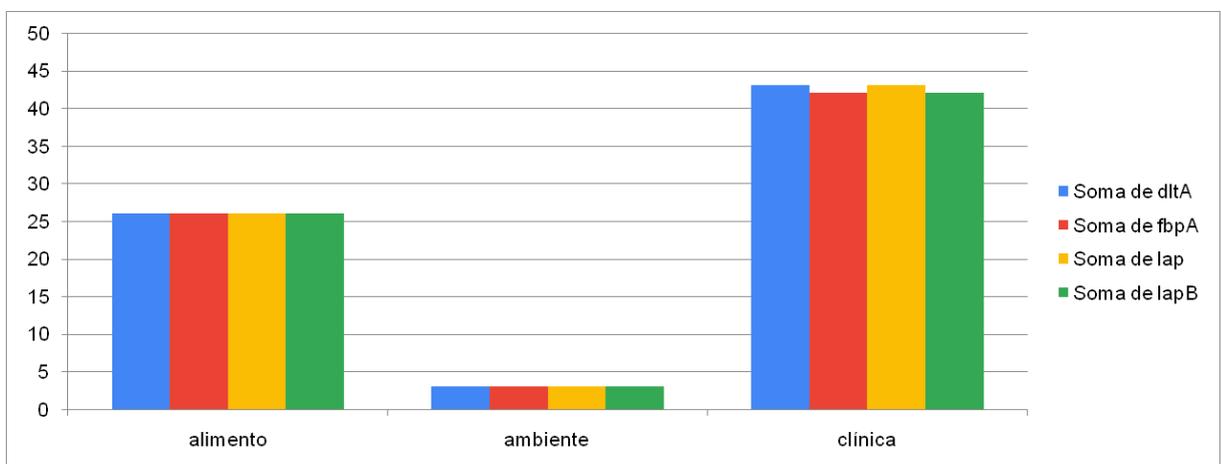
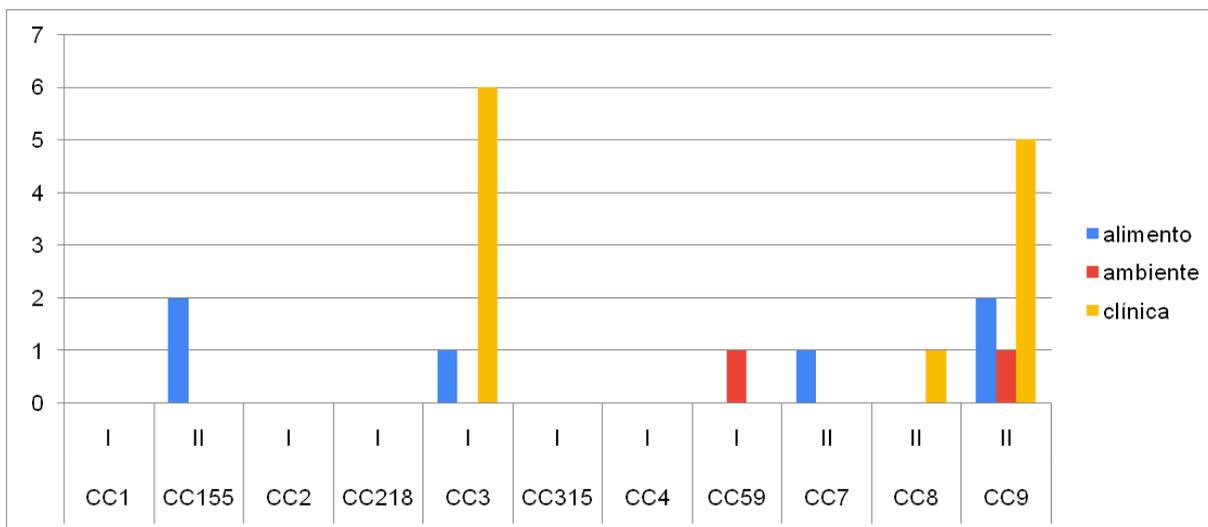


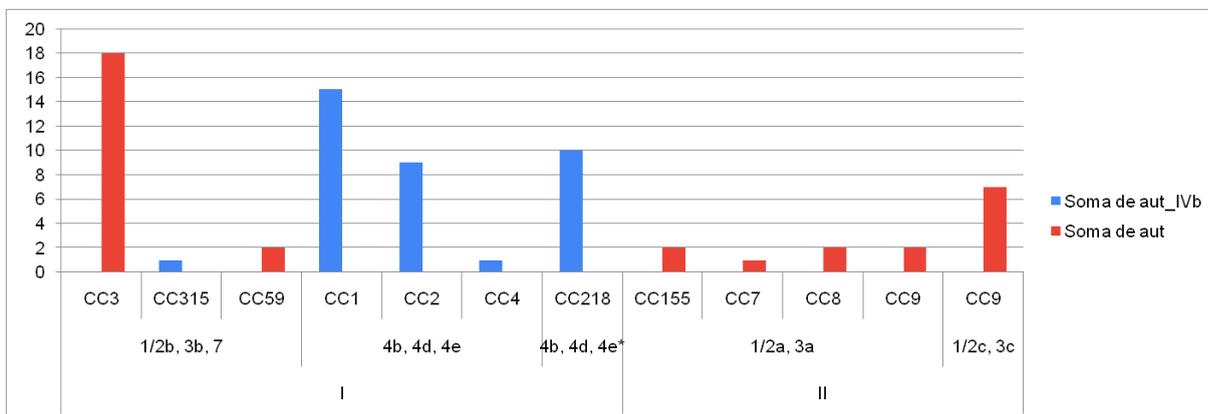
Figura 20. Frequência da presença do gene *ami* em 72 cepas de *L. monocytogenes* quanto ao Complexo Clonal e a fonte de isolamento



5.3.4. Invasão (*aut*, *aut IVb*, *cwhA*, *lpeA*, *vip*)

O gene *cwhA* foi encontrado em todas as 72 cepas do estudo, *lpeA* em 71, *vip* em 68, *aut* em 34 (47%) e *aut IVb* em 36 (50%) cepas, respectivamente. Enquanto o gene *aut* foi observado mais frequentemente nos CC3 (18 cepas) e CC9 (9 cepas), principalmente em cepas clínicas, o gene *aut IVb* foi mais frequentemente observado nos CC1 (15 cepas) e CC218 (10 cepas). Enquanto as cepas do CC1 apresentaram *aut IVb* de origem clínica e alimentar, a maioria das cepas do CC218 eram de origem clínica (Figura 21).

Figura 21. Presença dos genes *aut* e *aut_IVb* nas 72 cepas de *L. monocytogenes* conforme os complexos clonais



5.3.5. Sobrevivência intracelular (*hpt*, *lplA1*, *oppA*, *prsA2*, *purQ* e *svpA*)

Os genes relacionados à sobrevivência de *L. monocytogenes* estavam presentes de forma homogênea entre os complexos clonais. Os genes *lplA1*, *prsA2*, *purQ*, *svpA* estavam presentes nas 72 cepas do estudo, já os genes *hpt* e *oppA* estavam ausentes em uma cepa, cada.

5.3.6. Regulação da transcrição e tradução (*agrA*, *agrC*, *cheA*, *cheY*, *fur*, *lisK*, *lisR*, *sigB*, *stp*, *virR* e *virS*)

Os genes regulatórios de processos bacterianos *cheA*, *cheY*, *lisR*, *stp*, *virR* e *virS* foram encontrados em todas as cepas do estudo. Os genes *lisK*, *agrA*, *fur* e *agrC* foram detectados em 71, 70, 70 e 67 cepas, respectivamente.

5.3.7. Ancoragem de Proteínas de Superfície (*lgt*, *lspA*, *srtA*, *srtB*)

Os genes associados à ancoragem de proteínas de superfície *lgt*, *srtA* e *srtB* estavam presentes em todas as cepas do estudo, já o gene *lspA* estava ausente em uma cepa CLIST 2144 (CC9), isolada de sangue em São Paulo no ano de 1985.

5.3.8. Modulação Imune (*intA*) e modificação de peptidoglicano (*oatA*, *pdgA*)

O gene *intA*, *pdgA* e *oatA* foram observados em todas as 72 cepas do estudo.

5.3.9. Resistência à Bile (*bsh* e *mdrM*)

Os genes *bsh* e *mdrM* foram encontrados em todas as 72 cepas do estudo.

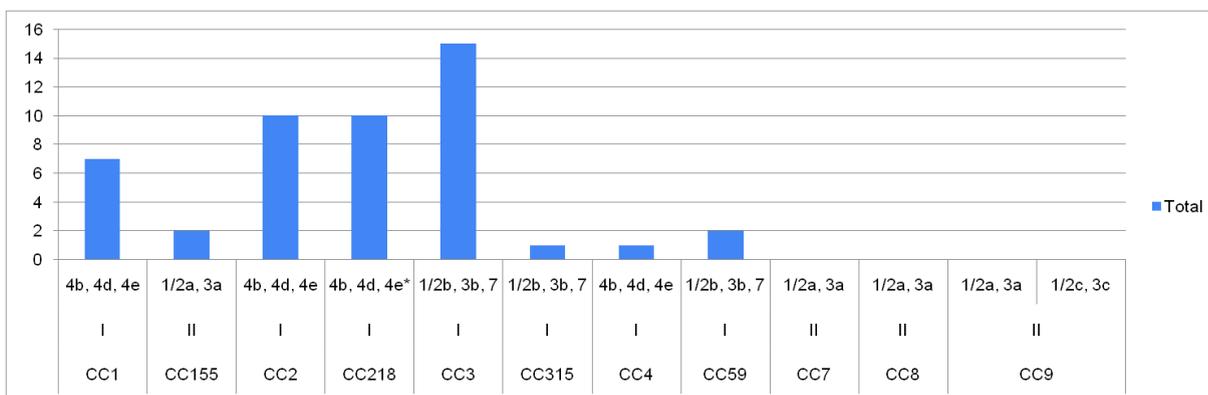
5.3.10. Formação de Biofilme e Virulência (*comK*)

O gene *comK*, foi encontrado em 48 cepas do estudo. Dentre elas, destaca-se frequência da detecção na linhagem I, em todas as cepas do CC218 (10), seguido dos CC2 (10 das 11) e CC3 (15 das 18), conforme a Tabela 7. Na linhagem II, o gene foi detectado somente em duas cepas do CC 155, isoladas de alimentos (CLIST 3980 e CLIST 4710) (Figura 22).

Tabela 7. Distribuição do gene *comK* nos Complexos Clonais de 72 cepas de *L. monocytogenes*

Complexo clonal	Presença do gene <i>comK</i>	Total de cepas de <i>L. monocytogenes</i> por CC
CC1	7	15
CC155	2	2
CC2	10	11
CC218	10	10
CC3	15	18
CC315	1	1
CC4	1	1
CC59	2	2
CC7	0	1
CC8	0	2
CC9	0	9
Total geral	48	72

Figura 22. Presença do gene *comK* nas linhagens I e II e complexos clonais de 72 cepas de *L. monocytogenes*



6. DISCUSSÃO

Neste estudo, a análise dos genomas de *L. monocytogenes* de origem clínica, alimentar e do ambiente de produção de alimentos da Coleção de *Listeria* (CLIST) isolados no período entre 1977 e 2021, evidencia uma representação significativa da circulação do patógeno concentrada na região sudeste. O estudo incluiu cepas provenientes de diferentes regiões do Brasil, entretanto a dificuldade existente de obtenção dessas cepas, resultou na super-representação das cepas obtidas em São Paulo (43%) e no Rio de Janeiro (32%), foi possível evidenciar a circulação de cepas altamente relacionadas em várias cidades simultaneamente ou com variação de temporalidade.

Foram identificados 11 complexos clonais distintos, com predomínio dos CC: CC1, CC2, CC3 e CC218 da linhagem I e o CC9 da linhagem II. As cepas desses CC foram observadas em diferentes anos de ambas as fontes, clínicas e de alimentos. Dentre eles, destaca-se o envolvimento do CC3 em casos de listeriose em anos subsequentes em São Paulo (1977-1981), a alta relação filogenética da cepa CLIST 3708 (SP/LCR/1981) com a cepa CLIST 3981 (RJ/ricota/2005) e a implicação desse CC no surto de listeriose hospitalar no Rio de Janeiro em 2008. Do mesmo modo, no CC1 destaca-se a alta relação de cepas isoladas de pratos prontos e saladas prontas para o consumo em São Paulo (2009) altamente relacionadas a uma amostra isolada de fezes no Rio de Janeiro em 2017. Já o CC218 foi responsável por dois surtos de listeriose na mesma unidade hospitalar em São Paulo nos anos de 1992 e 1997 com alta relação genética assim como, a cepa posteriormente isolada em 2014 a partir de uma cepa clínica no Rio de Janeiro (CLIST 3925), destacando a relevância do agrupamento na região sudeste. A primeira observação do CC2 no estudo foi uma cepa clínica em São Paulo em 1977 com posterior isolamento em diferentes estados ao longo dos anos (RJ, RS, BA, SP). Contudo, no ano de 2021 no Rio de Janeiro foi observada alta relação entre a cepa CLIST 4774 (sangue) e CLIST 4775 (ricota), sugerindo que o alimento envolvido poderia estar relacionado à contaminação alimentar no referido caso de listeriose ocorrido no mesmo ano e estado. A única cepa isolada de placenta do estudo (CLIST3714/PE/1978), estava associada ao CC9, um agrupamento

majoritariamente encontrado em cepas de origem alimentar e associado a indivíduos altamente imunocomprometidos segundo o estudo realizado por Maury e colaboradores (2016)(84). O mesmo CC também estava associado a mais 4 cepas clínicas, no entanto, somente 1 cepa apresentava informações quanto ao quadro clínico do paciente (CLIST 2071/RJ/2008/sangue/paciente vivendo com HIV) disponível no acervo da CLIST.

Como a listeriose é uma doença transmitida majoritariamente por alimentos, nossos achados apontam para possíveis fontes de infecção e persistência, seja nos alimentos e/ou instalações de produção de alimentos, nas quais *L. monocytogenes* pode permanecer por vários anos (Lakicevic & Nastasijevic, 2016, Castro et al., 2018).

O aumento das investigações baseadas no genoma do patógeno realizadas no território nacional, incluindo cepas humanas, alimentares, ambientais e aquelas provenientes de testes regulatórios de alimentos, seria primordial na identificação de grupos de cepas relacionadas e monitoramento das fontes de contaminação, permitindo a implementação de medidas para um melhor controle da listeriose no Brasil. No entanto, a limitação financeira existente para o sequenciamento dos genomas e consequente, a escassez de genomas sequenciados reflete as disparidades globais na investigação genômica de patógenos (Moura et al., 2017; Bepalova et al., 2021).

A caracterização dos CC das 35 cepas brasileiras realizada por Camargo e colaboradores (2019) mostra a prevalência dos CC3, CC9, CC218 no estudo, corroborando os nossos achados. As cepas deste estudo apresentaram grande representatividade de cepas relacionadas aos casos clínicos, já os achados de Camargo e colaboradores (2019) eram predominantemente de fonte alimentar, mostrando reservatórios alimentares dos CC no cenário nacional, ainda que não tenha especificado o estado de origem.

Outros estudos realizados anteriormente também englobaram o sequenciamento de cepas de origem brasileira, Chenal-Francisque e colaboradores (2011) analisaram 300 cepas, dentre elas, somente 6 foram isoladas no Brasil representantes dos CC1, CC9, CC121, CC195 (1 cepa de 1980) e CC218 (1989). No entanto, 4 das 6 cepas não possuíam a informação do ano de isolamento. Já o estudo publicado por Haase e colaboradores em 2014 (173), incluía 28 cepas de origem brasileira majoritariamente de fonte alimentar e do ambiente de produção

com a maioria dos isolamentos nos anos de 1994, CC1 (2 cepas), CC2 (2), CC3 (2), CC7 (2), CC9 (4), CC59 (6), CC155 (1), CC199 (3), CC218 (5 cepas, 3 cepas isoladas de camarão) e CC288 (1). Apesar desses estudos enriquecerem o conhecimento dos CC de relevância nacional, esses dados são ainda incipientes, com dados cronológicos incompletos ou de isolamento da cepa concentrado em um mesmo ano, dificultando estabelecer uma estimativa mais fidedigna.

No estudo de Chenal-Francisque e colaboradores (2011), a genotipificação de 300 isolados dos 5 continentes e de diversas fontes mostrou a existência de poucos agrupamentos prevalentes e distribuídos globalmente. Os agrupamentos CC1 e CC2 foram predominantes em todas as regiões do mundo, exceto no norte da África para o CC1. Já o CC3 ficou entre os 4 agrupamentos mais comuns em todas as regiões, enquanto o CC9 ficou em terceiro lugar na Europa e no Hemisfério Ocidental. Os autores sugerem que a dispersão desses agrupamentos pode ocorrer por vários meios, como viagens humanas, comércio de animais ou alimentos e a migração de animais silvestres.

O estudo realizado no Chile por Toledo e colaboradores (2018), analisou 38 cepas do período de 2009 a 2011 revelando que os CC mais comuns foram CC1 (60%) e CC9 (46%). Na Linhagem I, os isolados foram agrupados em CC1 (n = 15), CC2 (n = 2), CC3 (n = 1), CC5 (n = 3), CC6 (n = 3) e um *singleton* (ST392). Na Linhagem II, os isolados foram agrupados em CC7 (n = 2), CC8 (n = 2), CC9 (n = 6), CC37 (n = 1) e CC121 (n = 2). A maioria dos CC identificados entre as cepas chilenas representavam os CC mais comuns em todo o mundo, tendo o CC1 e CC9 como os CC mais comumente relatados na Europa e na América do Sul/Central (Ragon et al., 2008; Chenal-Francisque et al., 2011). Além disso, o CC1 foi isolado mais comumente em cepas clínicas e CC9 em cepas de alimentos.

O estudo de Maury e colaboradores (2016), analisou 6.663 cepas de *L. monocytogenes* coletadas ao longo de 9 anos na França e evidenciou os clones mais prevalentes: CC121 (17,6% do total de isolados), CC1 (11,4%), CC9 (9,9%), CC2 (7,6%), CC6 (7,3%), CC8 e CC16 (6,6%), CC5 (5,1%) e CC4 (5,1%). Foi observado no estudo que os clones CC1, CC2, CC4 e CC6 estão fortemente associados à origem clínica (62% das cepas desses clones são de origem clínica), enquanto os clones CC121 e CC9 estão fortemente associados à origem alimentar (apenas 10,3% de origem clínica), sendo esses mais frequentemente isolados de pacientes imunocomprometidos.

L. monocytogenes possui determinantes de virulência agrupados ao longo do cromossomo em ilhas genômicas ou ilha de patogenicidade de *Listeria-1* (LIPI-1). No entanto, LIPI-3 e LIPI-4 também foram identificados por sequenciamento do genoma total como importantes representantes de fatores de virulência (Jeyaletchumi et al., 2012; Denes et al., 2014; Matle, Mbatha & Madoroba, 2020).

A investigação dos genes de virulência é capaz de mostrar diferenças importantes entre linhagens e sublinhagens. A LIPI-1, abriga vários genes importantes, incluindo *prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl*, *actA* e *plcB*, que participam da invasão do hospedeiro e proliferação celular, é amplamente distribuído da espécie (Chen et al., 2017). Como esperado, a principal ilha de patogenicidade LIPI-1 foi altamente conservada e presente em todas as cepas do estudo. Os genes *actA* e *plcB* foram a exceção, uma vez que as cepas CLIST 2088 (sangue/CC3/RJ/2008) e CLIST 3708 (Líquor/CC3/SP/1981) não apresentaram o gene *actA*, e na cepa CLIST 0484 (leite/CC8/RS/2010) não foi observado o gene *plcB*.

A LIPI-3 desempenha um importante papel na colonização gastrointestinal e está fortemente associada às cepas da linhagem I (Quereda et al., 2016; Hilliard et al., 2018). Neste estudo, LIPI-3 foi detectada somente em cepas da linhagem I, resultados concordantes com os achados de outros estudos (Cotter et al., 2008; Hilliard et al., 2018). Quarenta e uma cepas apresentaram genes constituintes da LIPI-3, entretanto não apresentaram todos os genes *lisa*, *lisG*, *lisH*, *lisX*, *lisB*, *lisY* e *lisD*, que segundo Clayton e colaboradores (2011), são essenciais para a atividade hemolítica da Listeriolisina S. Portanto, das 41 cepas de *L. monocytogenes*, 21 apresentaram todos os genes essenciais. Oito pertencentes ao CC1, 8 do CC3, 1 do CC4 e 4 do CC218. E nenhuma das cepas CC2, CC315 e CC59, também pertencentes à linhagem I, apresentaram genes da LIPI-3, mostrando que a LIPI-3 pode ser variável entre os complexos clonais dentro da linhagem I.

Um estudo realizado recentemente na Irlanda revelou uma associação significativa da LIPI-3 ao CC1, CC3, CC4 e CC54 corroborando os nossos achados, exceto pela diferença no CC54, não encontrado nesse estudo, e o CC218 frequentemente presente na nossa amostra mas não encontrado nas cepas do estudo irlandês (Myintzaw et al., 2023). Sabe-se que a LIPI-1 está envolvida na invasão das células hospedeiras e na formação de caudas de actina, que ajudam uma bactéria a se mover dentro da célula hospedeira. A LIPI-3, por outro lado, é expressa apenas em

condições de estresse oxidativo e confere melhor capacidade em termos de escape fagossômico.

A presença da LIPI-1 e LIPI-3 em uma mesma cepa pode aumentar a capacidade da *L. monocytogenes* invadir as células hospedeiras, mover-se em seu interior e escapar dos fagossomos, levando ao aumento da virulência (Cotter et al., 2008; Vilchis-Rangel et al., 2019; Guidi et al., 2021).

A LIPI-4, que codifica um sistema de fosfotransferase da família da celobiose, está fortemente associado a certas cepas da linhagem I que estão associadas à invasão do sistema nervoso central e da placenta (MAURY et al., 2016). Nesse estudo contendo 72 cepas, duas cepas da linhagem I apresentaram a LIPI-4, uma cepa do CC4 (ralo do ambiente de processamento de alimentos/2014/RS), como a descrição inicial da ilha descrita por Maury e colaboradores em 2016. A outra cepa pertencia ao CC315 (alface/2010/SP). Apesar da amostra do estudo não ter revelado o acometimento humano por nenhum CC que possuía a LIPI-4, ressaltamos a circulação desta nos alimentos e ambiente de produção, representando um risco potencial à saúde pública.

L. monocytogenes possui um vasto repertório de virulência, e neste estudo, apresentou-se homogêneo quanto à presença de diversos genes, tais quais, *inIA*, *inIB*, *inIC*, *inIE*, *inIK*, *inIF*, *inIJ* (internalinas), *dltA*, *fbpA*, *lap*, *lapB* (aderência bacteriana), *cwhA*, *lpeA*, *vip* (invasão), *hpt*, *lplA1*, *oppA*, *prsA2*, *purQ* e *svpA* (sobrevivência intracelular), *agrA*, *agrC*, *cheA*, *cheY*, *fur*, *lisK*, *lisR*, *rsbV*, *sigB*, *stp*, *virR* e *virS* (regulação da transcrição e tradução), *lgt*, *lspA*, *srtA*, *srtB* (ancoragem de proteínas de superfície), *intA* (modulação imune), *oatA*, *pdgA* (modificação de peptidoglicano) e *bsh* e *mdrM* (resistência à bile).

Os genes *inIL* e *inIG*, foram observados somente nas cepas da linhagem II, achados em concordância com o estudo de Toledo e colaboradores (2018) no Chile. No estudo de Popowska e colaboradores (2017) foi relatado que a *InIL* está envolvida na formação de biofilmes e na ligação à proteína MUC2, presente no muco intestinal. Já o estudo de Gou e colaboradores (2022), mostrou que no teste de infecção em camundongos a virulência de *L. monocytogenes* foi diminuída após a deleção do gene *inIG*. O estudo de Myintzaw e colaboradores (2023) sugeriu que a combinação de uma maior proporção de genes de tolerância ao stress e a presença do gene *inIL*, poderia permitir que os CC de linhagem II (CC20, CC18, CC26, CC9,

CC7 e CC155) persistam no ambiente de processamento de alimentos e, eventualmente, infectem indivíduos imunocomprometidos.

O gene *ami*, ligado a adesão bacteriana estava presente em 20 cepas (28%), foi encontrado mais frequentemente em cepas clínicas dos CC3 (linhagem I) e CC9 (linhagem II). Esse achado difere dos encontrados por Raschle e colaboradores (2021), que na análise de cepas de *L. monocytogenes* em águas superficiais de rios e lagos que irrigam toda a Suíça mostrou que o gene de adesão *ami* estava ausente em quase todas as cepas da linhagem I, exceto por uma cepa. Apesar de não termos estudado nenhuma cepa originária de fonte aquífera esta é uma possível fonte de contaminação de alimentos frescos.

O gene *aut* estava presente nas cepas da linhagem II e nos CC3 e CC59 da linhagem I. O gene *aut IV*, alelo do gene de invasão *aut*, foi observado somente nas cepas da linhagem I nos CC1, CC2, CC4 e CC218, clones do sorotipo 4b, e uma cepa do CC315 pertencente ao sorotipo 1/2b. No estudo de Raschle e colaboradores (2021) anteriormente citado, todas as cepas pertencentes ao sorotipo 4b continham *aut_IVb*, mas a análise não citava esse alelo em nenhuma cepa de outro sorotipo.

A detecção do gene *comK*, se deu majoritariamente na linhagem I, observado nos CC1, CC2, CC3, CC4 e CC218. Ressalta-se a elevada frequência nos CC2, CC3 e CC218, os dois últimos envolvidos em surtos de listeriose abordados no estudo. Do mesmo modo, o estudo realizado por Moura e colaboradores (2016), revelou que a presença do gene *comK* foi dispersa em várias sub linhagens e muito mais frequente na linhagem I do que na linhagem II.

Quando um profago se insere no gene *comK* durante o crescimento intracelular no gene *comK*, o mesmo tem a transcrição interrompida nas cepas de *L. monocytogenes*. A excisão do profago leva à formação de um gene *comK* funcional, necessário para a regulação do sistema Com durante a infecção. O sistema Com é necessário para que uma bactéria escape dos fagossomos dos macrófagos. Portanto, o profago desempenha um papel significativo na regulação da virulência do patógeno. A presença de uma forma não interrompida do gene *comK* está envolvida na sobrevivência intracelular e na formação de biofilmes (Verghese et al., 2011; Rabinovich et al., 2012)

A complexidade da diversidade de fontes de contaminação, a subnotificação dos casos de listeriose, dificuldade de obtenção de espécimes clínicos e a falta de dados epidemiológicos (a listeriose não é uma doença de notificação compulsória),

são fatores que dificultam o estudo sobre a dinâmica do patógeno no Brasil. Apesar das limitações, o presente estudo traz à luz características acerca do microrganismo circulante no país, chama a atenção para a necessidade do rígido monitoramento da cadeia de produção de alimentos e da intensificação de medidas educativas para a prevenção da listeriose, sobretudo àquela população mais suscetível ao risco de quadros severos.

7. CONCLUSÕES

- Foi observada alta prevalência do complexo clonal 3 nas cepas de *L. monocytogenes* isoladas ao longo dos anos em São Paulo e Rio de Janeiro que compõem essa amostra de estudo.
- Diversas cepas dos complexos clonais CC1, CC2, CC3, CC9 e CC218 foram observadas e algumas delas apresentaram íntima relação filogenética, mesmo isoladas em diferentes anos e estados.
- Uma cepa do CC2 de fonte humana e outra obtida de alimento foram isoladas no mesmo estado e ano (Rio de Janeiro/2021), apresentando íntima relação filogenética. Desse modo, o alimento ricota seria uma possível fonte de contaminação alimentar para o caso de listeriose ocorrido.
- Duas cepas provenientes de sangue humano do CC3 foram obtidas com intervalo de oito anos (2000 e 2008) no Rio de Janeiro com alta proximidade genética. A cepa CLIST 2083 estava envolvida no surto de listeriose hospitalar em 2008, mostrando que essas cepas intimamente relacionadas do CC3 continuaram circulando ao longo dos anos.
- Dois novos ST foram descritos neste estudo, o ST 1434 encontrado na cepa CLIST 3980 (RJ/CC155/ricota/2005) e o ST 1435 na cepa CLIST 2088 (RJ/CC3/sangue/2008), a última envolvida no surto de listeriose hospitalar ocorrido no Rio de Janeiro.
- A LIPI-1 foi observada em todas as cepas do estudo, enquanto a LIPI-3, LIPI-4 e gene *comK* foram observados majoritariamente nas cepas linhagem I que compõem 80% (58) cepas do estudo, representadas pelos CC1, CC2, CC3, CC4, CC59, CC218 e CC315. Revelando potencial de virulência superior ao observado nas cepas da linhagem II do estudo.

- A LIPI-4 não foi observada em cepas clínicas do estudo, entretanto foi evidenciada em uma cepa isolada de alface (CC315/São Paulo/2010) e mais recentemente, do ralo do ambiente de processamento de alimentos (CC4/Rio Grande do Sul/2014), cepas de *L. monocytogenes* com tropismo pelo sistema nervoso central e placenta detectadas nos alimentos.
- Os genes *inIG* e *inIL* foram característicos da linhagem II no estudo, o mecanismo de virulência do primeiro gene ainda não foi completamente elucidado e o último está envolvido na formação de biofilmes e na ligação à proteínas do muco intestinal.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta MBR, Ferreira RCC, Padilla G, Ferreira LCS, Costa SOP. Altered expression of oligopeptide-binding protein (OppA) and aminoglycoside resistance in laboratory and clinical *Escherichia coli* strains. *J Med Microbiol.* maio de 2000;49(5):409–13.
- Allerberger F, Huhulescu S. Pregnancy related listeriosis: treatment and control. *Expert Rev Anti Infect Ther.* março de 2015;13(3):395–403.
- Almeida, RM. LISTERIA MONOCYTOGENES: SOROTIPOS, GENES DE VIRULÊNCIA E RELAÇÃO GENÉTICA ENTRE AMOSTRAS DE ORIGENS HUMANA E DE ALIMENTOS NO BRASIL [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2015.
- Alvarez DE, Agaisse H. The Metalloprotease Mpl Supports *Listeria monocytogenes* Dissemination through Resolution of Membrane Protrusions into Vacuoles. *Infect Immun.* 24 de maio de 2016;84(6):1806–14.
- Antimicrobial Resistance: Challenges and Perspectives - Doyle - 2013 - Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety - Wiley Online Library [Internet]. [citado 4 de abril de 2022]. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12008>
- Balandyté L, Brodard I, Frey J, Oevermann A, Abril C. Ruminant Rhombencephalitis-Associated *Listeria monocytogenes* Alleles Linked to a Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis Complex. *Applied and Environmental Microbiology.* dezembro de 2011;77(23):8325–35.
- Bechtel TD, Gibbons JG. Population Genomic Analysis of *Listeria monocytogenes* From Food Reveals Substrate-Specific Genome Variation. *Front Microbiol.* 9 de fevereiro de 2021;12:620033.
- Bertsch D, Rau J, Eugster MR, Haug MC, Lawson PA, Lacroix C, et al. *Listeria fleischmannii* sp. nov., isolated from cheese. *Int J Syst Evol Microbiol.* fevereiro de 2013;63(Pt 2):526–32.
- Bespalova TY, Mikhaleva TV, Meshcheryakova NY, Kustikova OV, Matovic K, Dmitrić M, et al. Novel Sequence Types of *Listeria monocytogenes* of Different Origin Obtained in the Republic of Serbia. *Microorganisms.* junho de 2021;9(6):1289.
- Bierne H, Sabet C, Personnic N, Cossart P. Internalins: a complex family of leucine-rich repeat-containing proteins in *Listeria monocytogenes*. *Microbes Infect.* agosto de 2007;9(10):1156–66.
- Bitar AP, Cao M, Marquis H. The Metalloprotease of *Listeria monocytogenes* Is Activated by Intramolecular Autocatalysis. *J Bacteriol.* janeiro de 2008;190(1):107–11.
- Boerlin P, Rocourt J, Grimont F, Grimont PAD, Jacquet C, Piffaretti JC. *Listeria ivanovii* subsp. *londoniensis* subsp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology.* 1o de janeiro de 1992;42(1):69–73.
- Bonazzi M, Lecuit M, Cossart P. *Listeria monocytogenes* Internalin and E-cadherin: From Bench to Bedside. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* outubro de 2009;1(4):a003087.
- Boqvist S, Söderqvist K, Vågsholm I. Food safety challenges and One Health within Europe. *Acta Vet Scand.* 3 de janeiro de 2018;60:1.
- Borezee E, Msadek T, Durant L, Berche P. Identification in *Listeria monocytogenes* of MecA, a Homologue of the *Bacillus subtilis* Competence Regulatory Protein. *J Bacteriol.* outubro de 2000;182(20):5931–4.
- Borucki MK, Call DR. *Listeria monocytogenes* serotype identification by PCR. *J Clin Microbiol.* dezembro de 2003;41(12):5537–40.
- Brosch R, Chen J, Luchansky JB. Pulsed-field fingerprinting of *listeriae*: identification of genomic

- divisions for *Listeria monocytogenes* and their correlation with serovar. *Appl Environ Microbiol.* julho de 1994;60(7):2584–92.
- Buchrieser C, Rocourt J. The Genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic Position, Taxonomy, and Identification. Em 2007.
- Burn CG. Clinical and Pathological Features of an Infection Caused by a New Pathogen of the Genus *Listerella*. *Am J Pathol.* maio de 1936;12(3):341-348.1.
- Cabanes D, Dussurget O, Dehoux P, Cossart P. Auto, a surface associated autolysin of *Listeria monocytogenes* required for entry into eukaryotic cells and virulence. *Molecular Microbiology.* 2004;51(6):1601–14.
- Cabanes D, Sousa S, Cebriá A, Lecuit M, García-del Portillo F, Cossart P. Gp96 is a receptor for a novel *Listeria monocytogenes* virulence factor, Vip, a surface protein. *EMBO J.* 3 de agosto de 2005;24(15):2827–38.
- Cabrita P, Batista S, Machado H, Moes S, Jenő P, Manadas B, et al. Comparative analysis of the exoproteomes of *Listeria monocytogenes* strains grown at low temperatures. *Foodborne Pathog Dis.* maio de 2013;10(5):428–34.
- Cacace G, Mazzeo MF, Sorrentino A, Spada V, Malorni A, Siciliano RA. Proteomics for the elucidation of cold adaptation mechanisms in *Listeria monocytogenes*. *J Proteomics.* 10 de setembro de 2010;73(10):2021–30.
- Cai S, Kabuki DY, Kuaye AY, Cargioli TG, Chung MS, Nielsen R, et al. Rational Design of DNA Sequence-Based Strategies for Subtyping *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol.* setembro de 2002;40(9):3319–25.
- Camargo AC, Woodward JJ, Call DR, Nero LA. *Listeria monocytogenes* in Food-Processing Facilities, Food Contamination, and Human Listeriosis: The Brazilian Scenario. *Foodborne Pathogens and Disease.* novembro de 2017;14(11):623–36.
- Carlin CR, Liao J, Hudson LK, Peters TL, Denes TG, Orsi RH, et al. Soil Collected in the Great Smoky Mountains National Park Yielded a Novel *Listeria* sensu stricto Species, *L. swaminathanii*. *Microbiol Spectr.* 10(3):e00442-22.
- Carlin CR, Liao J, Weller D, Guo X, Orsi R, Wiedmann M 2021. *Listeria cossartiae* sp. nov., *Listeria immobilis* sp. nov., *Listeria portnoyi* sp. nov. and *Listeria rustica* sp. nov., isolated from agricultural water and natural environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 71(5):004795.
- Carvalho F, Sousa S, Cabanes D. How *Listeria monocytogenes* organizes its surface for virulence. *Front Cell Infect Microbiol.* 29 de abril de 2014;4:48.
- Castro H, Jaakkonen A, Hakkinen M, Korkeala H, Lindström M. Occurrence, Persistence, and Contamination Routes of *Listeria monocytogenes* Genotypes on Three Finnish Dairy Cattle Farms: a Longitudinal Study. *Appl Environ Microbiol.* 31 de janeiro de 2018;84(4):e02000-17.
- Charlier-Woerther C, Lecuit M. Listériose et grossesse. *La Presse Médicale.* junho de 2014;43(6):676–82.
- Chen J, Luo X, Jiang L, Jin P, Wei W, Liu D, et al. Molecular characteristics and virulence potential of *Listeria monocytogenes* isolates from Chinese food systems. *Food Microbiology.* 1o de fevereiro de 2009;26(1):103–11.
- Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics.* 1o de setembro de 2018;34(17):i884–90.
- Chen Y, Luo Y, Curry P, Timme R, Melka D, Doyle M, et al. Assessing the genome level diversity of *Listeria monocytogenes* from contaminated ice cream and environmental samples linked to a listeriosis outbreak in the United States. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171389.

Chenal-Francisque V, Lopez J, Cantinelli T, Caro V, Tran C, Leclercq A, et al. Worldwide Distribution of Major Clones of *Listeria monocytogenes*. *Emerg Infect Dis*. junho de 2011;17(6):1110–2.

Chico-Calero I, Suárez M, González-Zorn B, Scotti M, Slaghuis J, Goebel W, et al. Hpt, a bacterial homolog of the microsomal glucose- 6-phosphate translocase, mediates rapid intracellular proliferation in *Listeria*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 8 de janeiro de 2002;99(1):431–6.

Chlebicz A, Śliżewska K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. *Int J Environ Res Public Health*. maio de 2018;15(5):863.

Clayton EM, Hill C, Cotter PD, Ross RP. Real-Time PCR Assay To Differentiate Listeriolysin S-Positive and -Negative Strains of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*. janeiro de 2011;77(1):163–71.

Costa AC, Pinheiro J, Reis SA, Cabanes D, Sousa S. *Listeria monocytogenes* Interferes with Host Cell Mitosis through Its Virulence Factors InlC and ActA. *Toxins (Basel)*. 20 de junho de 2020;12(6):411.

Cotter PD, Draper LA, Lawton EM, Daly KM, Groeger DS, Casey PG, et al. Listeriolysin S, a Novel Peptide Haemolysin Associated with a Subset of Lineage I *Listeria monocytogenes*. *PLOS Pathogens*. 12 de setembro de 2008;4(9):e1000144.

Criscuolo A. On the transformation of MinHash-based uncorrected distances into proper evolutionary distances for phylogenetic inference [Internet]. *F1000Research*; 2020 [citado 7 de dezembro de 2022]. Disponível em: <https://f1000research.com/articles/9-1309>

Cruz CD, Martinez MB, Destro MT. *Listeria monocytogenes*: UM AGENTE INFECCIOSO:12.

Cummins AJ, Fielding AK, McLauchlin J. *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS. *Journal of Infection*. 1o de janeiro de 1994;28(1):89–91.

Dalton CB, Merritt TD, Unicomb LE, Kirk MD, Stafford RJ, Lalor K, et al. A national case-control study of risk factors for listeriosis in Australia. *Epidemiol Infect*. março de 2011;139(3):437–45.

de Noordhout CM, Devleeschauwer B, Angulo FJ, Verbeke G, Haagsma J, Kirk M, et al. The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. novembro de 2014;14(11):1073–82.

den Bakker HC, Didelot X, Fortes ED, Nightingale KK, Wiedmann M. Lineage specific recombination rates and microevolution in *Listeria monocytogenes*. *BMC Evolutionary Biology*. 8 de outubro de 2008;8(1):277.

den Bakker HC, Warchocki S, Wright EM, Allred AF, Ahlstrom C, Manuel CS, et al. *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatica* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. *Int J Syst Evol Microbiol*. junho de 2014;64(Pt 6):1882–9.

Denes T, Vongkamjan K, Ackermann HW, Moreno Switt AI, Wiedmann M, den Bakker HC. Comparative genomic and morphological analyses of *Listeria* phages isolated from farm environments. *Appl Environ Microbiol*. agosto de 2014;80(15):4616–25.

Detmers FJM, Kunji ERS, Lanfermeijer FC, Poolman B, Konings WN. Kinetics and specificity of peptide uptake by the oligopeptide transport system of *Lactococcus lactis*. *Biochemistry*. 1998;37(47):16671–9.

Doijad SP, Poharkar KV, Kale SB, Kerkar S, Kalorey DR, Kurkure NV, et al. *Listeria goaensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. outubro de 2018;68(10):3285–91.

Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. agosto de 2004;42(8):3819–22.

Doyle M. *Foodborne Bacterial Pathogens*. CRC Press; 1989. 818 p.

Drolia R, Amalaradjou MAR, Ryan V, Tenguria S, Liu D, Bai X, et al. Receptor-targeted engineered

probiotics mitigate lethal *Listeria* infection. *Nat Commun.* 11 de dezembro de 2020;11(1):6344.

Drolia R, Bhunia AK. Crossing the Intestinal Barrier via *Listeria* Adhesion Protein and Internalin A. *Trends in Microbiology.* maio de 2019;27(5):408–25.

Drolia R, Tenguria S, Durkes AC, Turner JR, Bhunia AK. *Listeria* Adhesion Protein Induces Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction for Bacterial Translocation. *Cell Host Microbe.* 11 de abril de 2018;23(4):470–484.e7.

Eirich J, Orth R, Sieber SA. Unraveling the Protein Targets of Vancomycin in Living *S. aureus* and *E. faecalis* Cells. *J Am Chem Soc.* 10 de agosto de 2011;133(31):12144–53.

Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol Rev.* setembro de 1991;55(3):476–511.

Félix B, Feurer C, Mailliet A, Guillier L, Boscher E, Kerouanton A, et al. Population Genetic Structure of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated From the Pig and Pork Production Chain in France. *Front Microbiol.* 2018;9:684.

Fouks Y, Amit S, Many A, Haham A, Mandel D, Shinar S. Listeriosis in pregnancy: under-diagnosis despite over-treatment. *J Perinatol.* janeiro de 2018;38(1):26–30.

Freitag IGR, Pereira R de CL, Machado ES, Hofer E, Vallim DC, Hofer CB. Seroprevalence of *Listeria monocytogenes* in HIV infected pregnant women from Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases.* 1o de novembro de 2021;25(6):101635.

Fugett E, Fortes E, Nnoka C, Wiedmann M. International Life Sciences Institute North America *Listeria monocytogenes* strain collection: development of standard *Listeria monocytogenes* strain sets for research and validation studies. *J Food Prot.* dezembro de 2006;69(12):2929–38.

Garmory HS, Titball RW. ATP-binding cassette transporters are targets for the development of antibacterial vaccines and therapies. *Infect Immun.* dezembro de 2004;72(12):6757–63.

Genes significantly associated with lineage II food isolates of *Listeria monocytogenes*. *BMC Genomics.* Full Text [Internet]. [citado 5 de agosto de 2022]. Disponível em: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-018-5074-2>

Ghosh P, Halvorsen EM, Ammendolia DA, Mor-Vaknin N, O’Riordan MXD, Brumell JH, et al. Invasion of the Brain by *Listeria monocytogenes* Is Mediated by InlF and Host Cell Vimentin. *mBio.* 27 de fevereiro de 2018;9(1):e00160–18.

Gill DA. Ovine Bacterial Encephalitis (Circling Disease) and the Bacterial Genus *Listerella**. *Australian Veterinary Journal.* 1937;13(2):46–56.

Goodell EW, Higgins CF. Uptake of cell wall peptides by *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* agosto de 1987;169(8):3861–5.

Gou H, Liu Y, Shi W, Nan J, Wang C, Sun Y, et al. The Characteristics and Function of Internalin G in. *Polish Journal of Microbiology.* 28 de fevereiro de 2022;71(1):63–71.

Gouin E, Adib-Conquy M, Balestrino D, Nahori MA, Villiers V, Colland F, et al. The *Listeria monocytogenes* InlC protein interferes with innate immune responses by targeting the I κ B kinase subunit IKK α . *Proc Natl Acad Sci U S A.* 5 de outubro de 2010;107(40):17333–8.

Gouin E, Quereda JJ, Torres JJQ, Cossart P. Intracellular bacteria find the right motion. *Cell.* 9 de abril de 2015;161(2):199–200.

Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, et al. Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. *Clin Infect Dis.* 1o de março de 2012;54(5):652–60.

Goulet V, King LA, Vaillant V, de Valk H. What is the incubation period for listeriosis? *BMC Infect Dis.* 10 de janeiro de 2013;13:11.

Graves LM, Helsel LO, Steigerwalt AG, Morey RE, Daneshvar MI, Roof SE, et al. *Listeria marthii* sp.

nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. *Int J Syst Evol Microbiol*. junho de 2010;60(Pt 6):1280–8.

Gray ML, Killinger AH. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriological Reviews*. junho de 1966;30(2):309.

Guidi F, Orsini M, Chiaverini A, Torresi M, Centorame P, Acciari VA, et al. Hypo- and Hyper-Virulent *Listeria monocytogenes* Clones Persisting in Two Different Food Processing Plants of Central Italy. *Microorganisms* [Internet]. 13 de fevereiro de 2021 [citado 13 de maio de 2021];9(2). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7918772/>

Guillet C, Join-Lambert O, Le Monnier A, Leclercq A, Mechaï F, Mamzer-Bruneel MF, et al. Human Listeriosis Caused by *Listeria ivanovii*. *Emerg Infect Dis*. janeiro de 2010;16(1):136–8.

Gurevich A, Saveliev V, Vyahhi N, Tesler G. QUASt: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*. 15 de abril de 2013;29(8):1072–5.

Haase JK, Didelot X, Lecuit M, Korkeala H, *L. monocytogenes* MLST Study Group, Achtman M. The ubiquitous nature of *Listeria monocytogenes* clones: a large-scale Multilocus Sequence Typing study. *Environ Microbiol*. fevereiro de 2014;16(2):405–16.

Hadjilouka A, Paramithiotis S, Drosinos EH. Genetic Analysis of the *Listeria* Pathogenicity Island 1 of *Listeria monocytogenes* 1/2a and 4b Isolates. *Curr Microbiol*. julho de 2018;75(7):857–65.

Hilliard A, Leong D, O’Callaghan A, Culligan EP, Morgan CA, DeLappe N, et al. Genomic Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolates Associated with Clinical Listeriosis and the Food Production Environment in Ireland. *Genes (Basel)*. 20 de março de 2018;9(3):171.

Hof H. History and epidemiology of listeriosis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1o de abril de 2003;35(3):199–202.

Hofer CB, Hofer E. Listeriose. Em: *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Segunda Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 1569–75.

Hofer E, Reis CMF dos. Espécies e sorovares de *Listeria* isolados de animais doentes e portadores no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. junho de 2005;25(2):79–83.

Hotze EM, Le HM, Sieber JR, Bruxvoort C, McInerney MJ, Tweten RK. Identification and Characterization of the First Cholesterol-Dependent Cytolysins from Gram-Negative Bacteria. *Infect Immun*. janeiro de 2013;81(1):216–25.

Ireton K, Mortuza R, Gyanwali GC, Gianfelice A, Hussain M. Role of internalin proteins in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*. 2021;116(6):1407–19.

Ireton K, Rigano LA, Polle L, Schubert WD. Molecular mechanism of protrusion formation during cell-to-cell spread of *Listeria*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014;4:21.

Jeyaletchumi P, Tunung R, Selina PM, Chai LC, Radu S, Farinazleen MG, et al. Assessment of *Listeria monocytogenes* in salad vegetables through kitchen simulation study. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*. 2012;40(1):55–62.

Jia Y, Nightingale KK, Boor KJ, Ho A, Wiedmann M, McGann P. Distribution of Internalin Gene Profiles of *Listeria monocytogenes* Isolates from Different Sources Associated with Phylogenetic Lineages. *Foodborne Pathogens and Disease*. junho de 2007;4(2):222–32.

Kashiwagi K, Tshako MH, Sakata K, Saisho T, Igarashi A, Pinto da Costa SO, et al. Relationship between Spontaneous Aminoglycoside Resistance in *Escherichia coli* and a Decrease in Oligopeptide Binding Protein. *Journal of Bacteriology*. 15 de outubro de 1998;180(20):5484–8.

Khelef N, Lecuit M, Bierne H, Cossart P. Species specificity of the *Listeria monocytogenes* InlB protein. *Cellular Microbiology*. 2006;8(3):457–70.

Lakicevic B, Nastasijevic I. *Listeria monocytogenes* in retail establishments: Contamination routes and control strategies. *Food Reviews International*. 4 de maio de 2017;33(3):247–69.

- Lang Halter E, Neuhaus K, Scherer S. *Listeria weihenstephanensis* sp. nov., isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. *Int J Syst Evol Microbiol.* fevereiro de 2013;63(Pt 2):641–7.
- Leclercq A, Chenal-Francisque V, Dieye H, Cantinelli T, Drali R, Brisse S, et al. Characterization of the novel *Listeria monocytogenes* PCR serogrouping profile IVb-v1. *International journal of food microbiology.* 1o de março de 2011;147:74–7.
- Leclercq A, Clermont D, Bizet C, Grimont PAD, Le Flèche-Matéos A, Roche SM, et al. *Listeria rocourtiae* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* setembro de 2010;60(Pt 9):2210–4.
- Leclercq A, Moura A, Vales G, Tessaud-Rita N, Aguilhon C, Lecuit M. *Listeria thailandensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* janeiro de 2019;69(1):74–81.
- Lee EM, Ahn SH, Park JH, Lee JH, Ahn SC, Kong IS. Identification of oligopeptide permease (opp) gene cluster in *Vibrio fluvialis* and characterization of biofilm production by oppA knockout mutation. *FEMS Microbiol Lett.* 1o de novembro de 2004;240(1):21–30.
- Li X, Shi X, Song Y, Yao S, Li K, Shi B, et al. Genetic diversity, antibiotic resistance, and virulence profiles of *Listeria monocytogenes* from retail meat and meat processing. *Food Research International.* 1o de dezembro de 2022;162:112040.
- Listeriosis [Internet]. [citado 12 de julho de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>
- Lotoux A, Milohanic E, Bierne H. The Viable But Non-Culturable State of *Listeria monocytogenes* in the One-Health Continuum. *Front Cell Infect Microbiol.* 18 de março de 2022;12:849915.
- Lourenco A, Linke K, Wagner M, Stessl B. The Saprophytic Lifestyle of *Listeria monocytogenes* and Entry Into the Food-Processing Environment. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2022 [citado 23 de março de 2022];13. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2022.789801>
- Martin C. J. Maiden KAJ, James E. Bray. Open-access bacterial population genomics: Wellcome Open Research [Internet]. [citado 7 de dezembro de 2022]. Disponível em: <https://wellcomeopenresearch.org/articles/3-124/v1>
- Martins IS, Faria FC da C, Miguel MAL, Dias MP de SC, Cardoso FLL, Magalhães AC de G, et al. A cluster of *Listeria monocytogenes* infections in hospitalized adults. *Am J Infect Control.* novembro de 2010;38(9):e31–6.
- Martins M, Custódio R, Camejo A, Almeida MT, Cabanes D, Sousa S. *Listeria monocytogenes* Triggers the Cell Surface Expression of Gp96 Protein and Interacts with Its N Terminus to Support Cellular Infection. *J Biol Chem.* 14 de dezembro de 2012;287(51):43083–93.
- Matereke LT, Okoh AI. *Listeria monocytogenes* Virulence, Antimicrobial Resistance and Environmental Persistence: A Review. *Pathogens* [Internet]. 30 de junho de 2020 [citado 10 de novembro de 2020];9(7). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7400505/>
- Matle I, Mbatha KR, Madoroba E. A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis. *Onderstepoort J Vet Res.* 9 de outubro de 2020;87(1):1869.
- Matle I, Mbatha KR, Madoroba E. A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis. *Onderstepoort J Vet Res.* 9 de outubro de 2020;87(1):1869.
- Maury MM, Bracq-Dieye H, Huang L, Vales G, Lavina M, Thouvenot P, et al. Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaption to mammalian gut accounts for their association with dairy products. *Nat Commun* [Internet]. 6 de junho de 2019 [citado 2 de junho de 2020];10. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6554400/>
- Maury MM, Chenal-Francisque V, Bracq-Dieye H, Han L, Leclercq A, Vales G, et al. Spontaneous Loss of Virulence in Natural Populations of *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun.* novembro de

2017;85(11):e00541-17.

Maury MM, Tsai YH, Charlier C, Touchon M, Chenal-Francisque V, Leclercq A, et al. Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat Genet.* março de 2016;48(3):308–13.

Mazaheri T, Cervantes-Huamán BRH, Bermúdez-Capdevila M, Ripolles-Avila C, Rodríguez-Jerez JJ. *Listeria monocytogenes* Biofilms in the Food Industry: Is the Current Hygiene Program Sufficient to Combat the Persistence of the Pathogen? *Microorganisms* [Internet]. 15 de janeiro de 2021 [citado 12 de março de 2021];9(1). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7830665/>

McKellar RC. Use of the CAMP test for identification of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol.* dezembro de 1994;60(12):4219–25.

McLauchlin J, Rees CED. *Listeria*. Em: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* [Internet]. American Cancer Society; 2015 [citado 22 de junho de 2020]. p. 1–29. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118960608.gbm00547>

McLauchlin J. The relationship between *Listeria* and listeriosis. *Food Control.* 10 de agosto de 1996;7(4):187–93.

Milohanic E, Jonquières R, Glaser P, Dehoux P, Jacquet C, Berche P, et al. Sequence and Binding Activity of the Autolysin-Adhesin Ami from Epidemic *Listeria monocytogenes* 4b. *Infect Immun.* agosto de 2004;72(8):4401–9.

Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, Maury MM, Leclercq A, Tarr C, et al. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nat Microbiol.* 10 de outubro de 2016;2:16185.

Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado | *Listeria* | CDC [Internet]. 2018 [citado 31 de março de 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html>

Murray EGD, Webb RA, Swann MBR. 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.* 1926;29(4):407–39.

Myintzaw P, Pennone V, McAuliffe O, Begley M, Callanan M. Association of Virulence, Biofilm, and Antimicrobial Resistance Genes with Specific Clonal Complex Types of *Listeria monocytogenes*. *Microorganisms.* 17 de junho de 2023;11(6):1603.

Nadon CA, Woodward DL, Young C, Rodgers FG, Wiedmann M. Correlations between molecular subtyping and serotyping of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol.* julho de 2001;39(7):2704–7.

Neves D, Job V, Dortet L, Cossart P, Dessen A. Structure of internalin InlK from the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *J Mol Biol.* 15 de novembro de 2013;425(22):4520–9.

Nguyen BN, Peterson BN, Portnoy DA. Listeriolysin O: a phagosome-specific cytolysin revisited. *Cell Microbiol.* março de 2019;21(3):e12988.

Nguyen BN, Portnoy DA. An Inducible Cre-lox System to Analyze the Role of LLO in *Listeria monocytogenes* Pathogenesis. *Toxins (Basel).* 7 de janeiro de 2020;12(1):38.

Núñez-Montero K, Leclercq A, Moura A, Vales G, Peraza J, Pizarro-Cerdá J, et al. *Listeria costaricensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* março de 2018;68(3):844–50.

Ondov BD, Treangen TJ, Melsted P, Mallonee AB, Bergman NH, Koren S, et al. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biology.* 20 de junho de 2016;17(1):132.

Ooi A, Hussain S, Seyedarabi A, Pickersgill RW. Structure of internalin C from *Listeria monocytogenes*. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* novembro de 2006;62(Pt 11):1287–93.

Orsi RH, Bakker HC den, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution,

ecology, and phenotypic characteristics. *International Journal of Medical Microbiology*. 1o de fevereiro de 2011;301(2):79–96.

Orsi RH, Ripoll DR, Yeung M, Nightingale KK, Wiedmann MY 2007. Recombination and positive selection contribute to evolution of *Listeria monocytogenes* InA. *Microbiology*. 153(8):2666–78.

Orsi RH, Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100:5273–87.

Painset A, Björkman JT, Kiil K, Guillier L, Mariet JF, Félix B, et al. LiSEQ – whole-genome sequencing of a cross-sectional survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and human clinical cases in Europe. *Microb Genom*. 18 de fevereiro de 2019;5(2):e000257.

Parks DH, Chuvochina M, Rinke C, Mussig AJ, Chaumeil PA, Hugenholtz P. GTDB: an ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy. *Nucleic Acids Research*. 7 de janeiro de 2022;50(D1):D785–94.

Personnic N, Bruck S, Nahori MA, Toledo-Arana A, Nikitas G, Lecuit M, et al. The Stress-Induced Virulence Protein InIH Controls Interleukin-6 Production during Murine Listeriosis. *Infect Immun*. maio de 2010;78(5):1979–89.

Pirie JHH. *Listeria*: Change of Name for a Genus Bacteria. *Nature*. fevereiro de 1940;145(3668):264–264.

Popowska M, Krawczyk-Balska A, Ostrowski R, Desvaux M. InlL from *Listeria monocytogenes* Is Involved in Biofilm Formation and Adhesion to Mucin. *Front Microbiol*. 20 de abril de 2017;8:660.

Quereda JJ, Dussurget O, Nahori MA, Ghozlane A, Volant S, Dillies MA, et al. Bacteriocin from epidemic *Listeria* strains alters the host intestinal microbiota to favor infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 17 de maio de 2016;113(20):5706–11.

Quereda JJ, Leclercq A, Moura A, Vales G, Gómez-Martín Á, García-Muñoz Á, et al. *Listeria valentina* sp. nov., isolated from a water trough and the faeces of healthy sheep. *Int J Syst Evol Microbiol*. novembro de 2020;70(11):5868–79.

Quereda JJ, Meza-Torres J, Cossart P, Pizarro-Cerdá J. Listeriolysin S: A bacteriocin from epidemic *Listeria monocytogenes* strains that targets the gut microbiota. *Gut Microbes*. 3 de fevereiro de 2017;8(4):384–91.

Rabinovich L, Sigal N, Borovok I, Nir-Paz R, Herskovits AA. Prophage Excision Activates *Listeria* Competence Genes that Promote Phagosomal Escape and Virulence. *Cell*. 17 de agosto de 2012;150(4):792–802.

Ragon M, Wirth T, Hollandt F, Lavenir R, Lecuit M, Monnier AL, et al. A New Perspective on *Listeria monocytogenes* Evolution. *PLOS Pathogens*. 5 de setembro de 2008;4(9):e1000146.

Rajabian T, Gavicherla B, Heisig M, Müller-Altrock S, Goebel W, Gray-Owen SD, et al. The bacterial virulence factor InlC perturbs apical cell junctions and promotes cell-to-cell spread of *Listeria*. *Nat Cell Biol*. outubro de 2009;11(10):1212–8.

Raschle S, Stephan R, Stevens MJA, Cernela N, Zurfluh K, Muchaamba F, et al. Environmental dissemination of pathogenic *Listeria monocytogenes* in flowing surface waters in Switzerland. *Sci Rep*. 27 de abril de 2021;11(1):9066.

Raufu IA, Moura A, Vales G, Ahmed OA, Aremu A, Thouvenot P, et al. *Listeria ilorinensis* sp. nov., isolated from cow milk cheese in Nigeria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2022;72(6):005437.

Reddy S, Akgul A, Karsi A, Abdelhamed H, Wills RW, Lawrence ML. The role of *Listeria monocytogenes* cell wall surface anchor protein LapB in virulence, adherence, and intracellular replication. *Microbial Pathogenesis*. 1o de março de 2016;92:19–25.

Reis O, Sousa S, Camejo A, Villiers V, Gouin E, Cossart P, et al. LapB, a Novel *Listeria*

- monocytogenes* LPXTG Surface Adhesin, Required for Entry into Eukaryotic Cells and Virulence. The Journal of Infectious Diseases. 15 de agosto de 2010;202(4):551–62.
- Reith J, Mayer C. Peptidoglycan turnover and recycling in Gram-positive bacteria. Appl Microbiol Biotechnol. outubro de 2011;92(1):1–11.
- Riedel CU, Monk IR, Casey PG, Waidmann MS, Gahan CGM, Hill C. AgrD-dependent quorum sensing affects biofilm formation, invasion, virulence and global gene expression profiles in *Listeria monocytogenes*. Mol Microbiol. março de 2009;71(5):1177–89.
- Rocourt J, Alonso JM, Seeliger HP. [Comparative virulence of the 5 genomic groups of *Listeria monocytogenes* (sensu lato)]. Ann Microbiol (Paris). junho de 1983;134A(3):359–64.
- Rocourt J, Boerlin P, Grimont F, Jacquet C, Piffaretti JC. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. Int J Syst Bacteriol. janeiro de 1992;42(1):171–4.
- Rocourt J, Seeliger HP. [Distribution of species of the genus *Listeria*]. Zentralbl Bakteriologie Mikrobiol Hyg A. maio de 1985;259(3):317–30.
- 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 Bacteriology. 1o de julho de 1987;37:266–70.
- Ryser ET, Marth EH. *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety. CRC Press; 2007. 894 p.
- Sabet C, Lecuit M, Cabanes D, Cossart P, Bierne H. LPXTG Protein InIJ, a Newly Identified Internalin Involved in *Listeria monocytogenes* Virulence. Infect Immun. outubro de 2005;73(10):6912–22.
- Sabet C, Toledo-Arana A, Personnic N, Lecuit M, Dubrac S, Poupel O, et al. The *Listeria monocytogenes* Virulence Factor InIJ Is Specifically Expressed In Vivo and Behaves as an Adhesin. Infect Immun. abril de 2008;76(4):1368–78.
- Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, Allen AC, Haldane EV, Wort AJ, et al. Epidemic listeriosis—evidence for transmission by food. N Engl J Med. 27 de janeiro de 1983;308(4):203–6.
- Schlech WF. Epidemiology and Clinical Manifestations of *Listeria monocytogenes* Infection. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Braunstein M, Rood JI, organizadores. Microbiol Spectr [Internet]. 31 de maio de 2019 [citado 6 de julho de 2021];7(3). Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.GPP3-0014-2018>
- Schliep M, Ryall B, Ferenci T. The identification of global patterns and unique signatures of proteins across 14 environments using outer membrane proteomics of bacteria. Mol BioSyst. 2 de outubro de 2012;8(11):3017–27.
- Schuchat A, Swaminathan B, Broome CV. Epidemiology of human listeriosis. Clin Microbiol Rev. abril de 1991;4(2):169–83.
- Seeliger HPR, Höhne K. Chapter II Serotyping of *Listeria monocytogenes* and Related Species. Em: Bergan T, Norris JR, organizadores. Methods in Microbiology [Internet]. Academic Press; 1979 [citado 16 de março de 2021]. p. 31–49. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0580951708703726>
- Select *Listeria monocytogenes* Subtypes Commonly Found in Foods Carry Distinct Nonsense Mutations in inlA, Leading to Expression of Truncated and Secreted Internalin A, and Are Associated with a Reduced Invasion Phenotype for Human Intestinal Epithelial Cells | Applied and Environmental Microbiology [Internet]. [citado 5 de agosto de 2022]. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.71.12.8764-8772.2005>
- Silk BJ, Date KA, Jackson KA, Pouillot R, Holt KG, Graves LM, et al. Invasive Listeriosis in the Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 2004–2009: Further Targeted Prevention Needed for Higher-Risk Groups. Clinical Infectious Diseases. 1o de junho de 2012;54(suppl_5):S396–404.

- Smith AM, Tau NP, Smouse SL, Allam M, Ismail A, Ramalwa NR, et al. Outbreak of *Listeria monocytogenes* in South Africa, 2017–2018: Laboratory Activities and Experiences Associated with Whole-Genome Sequencing Analysis of Isolates. *Foodborne Pathog Dis.* 1o de julho de 2019;16(7):524–30.
- Smith GA, Marquis H, Jones S, Johnston NC, Portnoy DA, 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.* novembro de 1995;63(11):4231–7.
- Sobyanin K, Sysolyatina E, Krivozubov M, Chalenko Y, Karyagina A, Ermolaeva S. Naturally occurring InlB variants that support intragastric *Listeria monocytogenes* infection in mice. *FEMS Microbiology Letters.* 1o de fevereiro de 2017;364(3):fnx011.
- Solomon J, Su L, Shyn S, Grossman A. Isolation and Characterization of Mutants of the *Bacillus subtilis* Oligopeptide Permease with Altered Specificity of Oligopeptide Transport. *Journal of bacteriology.* 1o de dezembro de 2003;185:6425–33.
- Stuart SE, Welshimer 1973. Intrageneric Relatedness of *Listeria Pirie*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 23(1):8–14.
- Surto multiestadual de listeriose ligado a maçãs carameladas pré-embaladas e produzidas comercialmente com maçãs Bidart Bros. | *Listeria* | CDC [Internet]. 2018 [citado 31 de março de 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/caramel-apples-12-14/index.html>
- Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect.* agosto de 2007;9(10):1236–43.
- Tatusova T, DiCuccio M, Badretdin A, Chetvernin V, Nawrocki EP, Zaslavsky L, et al. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline. *Nucleic Acids Research.* 19 de agosto de 2016;44(14):6614–24.
- Tavares R de M, Silva DAL da, Camargo AC, Yamatogi RS, Nero LA. Interference of the acid stress on the expression of IIsX by *Listeria monocytogenes* pathogenic island 3 (LIPI-3) variants. *Food Research International.* 1o de junho de 2020;132:109063.
- The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal.* 2016;14(12):e04634.
- Tiensuu T, Guerreiro DN, Oliveira AH, O'Byrne C, Johansson J. Flick of a switch: regulatory mechanisms allowing *Listeria monocytogenes* to transition from a saprophyte to a killer. *Microbiology.* 1o de agosto de 2019;165(8):819–33.
- Tortajada C, Porta R, Riba M, Santoma MJ, Palacín E, Español M. Brote nosocomial por *Listeria monocytogenes* en una Unidad de Neonatos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 1o de março de 2012;30(3):143–6.
- Tourdjman M, Laurent E, Leclercq A. Listériose humaine: Une zoonose d'origine alimentaire. *Revue Francophone des Laboratoires.* 1o de julho de 2014;464:37–44.
- Tweten RK, Hotze EM, Wade KR. The Unique Molecular Choreography of Giant Pore Formation by the Cholesterol-Dependent Cytolysins of Gram-Positive Bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2015;69:323–40.
- Vallim DC, Barroso Hofer C, Lisboa R de C, Victor Barbosa A, Alves Rusak L, Reis CMF dos, et al. Twenty Years of *Listeria* in Brazil: Occurrence of *Listeria* Species and *Listeria monocytogenes* Serovars in Food Samples in Brazil between 1990 and 2012. *BioMed Research International.* 11 de outubro de 2015;2015:e540204.
- Vasanthakrishnan RB, de las Heras A, Scotti M, Deshayes C, Colegrave N, Vázquez-Boland JA. PrfA regulation offsets the cost of *Listeria* virulence outside the host. *Environmental Microbiology.* 2015;17(11):4566–79.
- Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin Microbiol Rev.* julho de

2001;14(3):584–640.

Verghese B, Lok M, Wen J, Alessandria V, Chen Y, Kathariou S, et al. comK prophage junction fragments as markers for *Listeria monocytogenes* genotypes unique to individual meat and poultry processing plants and a model for rapid niche-specific adaptation, biofilm formation, and persistence. *Appl Environ Microbiol.* maio de 2011;77(10):3279–92.

Vilchis-Rangel RE, Espinoza-Mellado MDR, Salinas-Jaramillo IJ, Martinez-Peña MD, Rodas-Suárez OR. Association of *Listeria monocytogenes* LIPI-1 and LIPI-3 marker IIsX with invasiveness. *Curr Microbiol.* maio de 2019;76(5):637–43.

Vivant AL, Garmyn D, Gal L, Hartmann A, Piveteau P. Survival of *Listeria monocytogenes* in Soil Requires AgrA-Mediated Regulation. *Appl Environ Microbiol.* agosto de 2015;81(15):5073–84.

Vivant AL, Garmyn D, Gal L, Piveteau P. The Agr communication system provides a benefit to the populations of *Listeria monocytogenes* in soil. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2014 [citado 20 de julho de 2022];4. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2014.00160>

Weller D, Andrus A, Wiedmann M, den Bakker HC. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. *Int J Syst Evol Microbiol.* janeiro de 2015;65(Pt 1):286–92.

Wick RR, Judd LM, Gorrie CL, Holt KE. Unicycler: Resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. *PLOS Computational Biology.* 8 de junho de 2017;13(6):e1005595.

Xie T, Liu W, Anderson BD, Liu X, Gray GC. A system dynamics approach to understanding the One Health concept. *PLoS One.* 6 de setembro de 2017;12(9):e0184430.

Yin Y, Yao H, Doijad S, Kong S, Shen Y, Cai X, et al. A hybrid sub-lineage of *Listeria monocytogenes* comprising hypervirulent isolates. *Nat Commun.* 30 de setembro de 2019;10(1):4283.

Zhang H, Chen W, Wang J, Xu B, Liu H, Dong Q, et al. 10-Year Molecular Surveillance of *Listeria monocytogenes* Using Whole-Genome Sequencing in Shanghai, China, 2009–2019. *Front Microbiol.* 15 de dezembro de 2020;11:551020.

Zhu X, Liu W, Lametsch R, Aarestrup F, Shi C, She Q, et al. Phenotypic, proteomic, and genomic characterization of a putative ABC-transporter permease involved in *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *Foodborne Pathog Dis.* abril de 2011;8(4):495–501.

Zhu X, Long F, Chen Y, Knøchel S, She Q, Shi X. A putative ABC transporter is involved in negative regulation of biofilm formation by *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol.* dezembro de 2008;74(24):7675–83.

9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1

Viruloma das 72 cepas de *L. monocytogenes* Sequenciadas

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
CLIST0663	SP	2009	alimento	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST0678	SP	2009	alimento	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST0687	SP	2009	alimento	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST4496	RJ	2017	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST0706	SP	2009	alimento	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST1018	SP	2011	alimento	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
CLIST3706	RJ	1990	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST3705	PE	2012	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3620	SP	2013	alimento	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3960	RJ	2014	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST2934	SP	1982	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2938	RJ	1995	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2135	DF	1989	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
CLIST0944	SC	2012	alimento	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3601	RS	2013	clínica	1	CC1	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3837	RS	2014	ambiente	219	CC4	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, LM9005581_70009, LM9005581_70010, LM9005581_70011, LM9005581_70012, LM9005581_70013, LM9005581_70014
CLIST2940	SP	1992	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2943	SP	1992	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3987	SP	2001	alimento	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2946	SP	1997	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA,

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
								oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2944	SP	1997	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsD, llsG, llsH, llsX, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2945	SP	1997	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsB, llsD, llsX, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3925	RJ	2014	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2930	RJ	2004	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST0629	ES	2010	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST2087	RJ	2008	clínica	218	CC218	I	4b, 4d, 4e*	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3807	RS	2014	clínica	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
CLIST3717	SP	1977	clínica	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST2936	SP	1977	clínica	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3800	BA	2014	alimento	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3985	RS	2002	alimento	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST4774	RJ	2021	clínica	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST4775	RJ	2021	alimento	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST0001	RJ	2012	clínica	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST0438	RS	2010	clínica	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlF, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA , lpeA , vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt,

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linagem	Sorotipo	Genes Detectados
								oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2932	RJ	2006	clínica	2	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlJ, dtlA, lap, cwhA, vip, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, cheA, cheY, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST1071	RS	2011	alimento	145	CC2	I	4b, 4d, 4e	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, cheA, cheY, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST0586	SP	2010	alimento	520	CC315	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut lvb, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK, LM9005581_70009, LM9005581_70010, LM9005581_70011, LM9005581_70012, LM9005581_70013, LM9005581_70014
CLIST3710	SP	1979	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsD, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3718	SP	1977	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsX, llsB, llsD, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3713	SP	1978	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3708	SP	1981	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA,

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
								agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3981	RJ	2005	alimento	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, dtIA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2933	SP	1980	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsD, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, dtIA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3984	SP	2004	alimento	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, dtIA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST3715	PE	1978	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, dtIA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2170	PB	2001	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, dtIA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB
CLIST1400	RJ	2006	alimento	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, llsP, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, inID, dtIA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2557	SP	2008	alimento	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inIA, inIB, inIC, inIC2, inIE, inIK, inIF, inIJ, dtIA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR,

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
								sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2085	RJ	2008	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2088	RJ	2008	clínica	1435	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, plcB, llsA, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, llsY, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2083	RJ	2008	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2169	RJ	2000	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2082	RJ	2008	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsB, llsD, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3711	SP	1979	clínica	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3236	SP	2006	alimento	3	CC3	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, llsA, llsB, llsG, llsH, llsX, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB,

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
								stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST2876	SP	2007	alimento	59	CC59	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST3838	RS	2014	ambiente	59	CC59	I	1/2b, 3b, 7	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlJ, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST0305	RJ	2011	alimento	122	CC9	II	1/2c, 3c	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST3986	SP	2001	alimento	9	CC9	II	1/2c, 3c	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST3988	SP	2001	alimento	9	CC9	II	1/2c, 3c	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST2071	RJ	2008	clínica	9	CC9	II	1/2c, 3c	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST2379	RJ	2008	clínica	9	CC9	II	1/2a, 3a	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA,

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
								oatA, bsh, mdrM
CLIST3712	SP	1978	clínica	9	CC9	II	1/2c, 3c	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA , lpeA , vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST3714	PE	1978	clínica	9	CC9	II	1/2c, 3c	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA , lpeA , vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST4318	RJ	2016	ambiente	9	CC9	II	1/2c, 3c	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA , lpeA , vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST2144	SP	1985	clínica	9	CC9	II	1/2a, 3a	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA , lpeA , vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST0238	ES	2011	clínica	1297	CC8	II	1/2a, 3a	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlD, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA , lpeA, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST0484	RS	2010	alimento	8	CC8	II	1/2a, 3a	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, dtlA, lap, fbpA, lapB, cwhA , lpeA, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM
CLIST3980	RJ	2005	alimento	1434	CC155	II	1/2a, 3a	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlD, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA , lpeA , vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK

Amostra	UF	Ano	Fonte	ST	CC	Linhagem	Sorotipo	Genes Detectados
CLIST4710	RS	2006	alimento	155	CC155	II	1/2a, 3a	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlD, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, vip, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM, comK
CLIST2546	SP	2008	alimento	7	CC7	II	1/2a, 3a	prfA, plcB, plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, inlC2, inlE, inlK, inlF, inlJ, inlG, inlD, inlL, dtlA, lap, fbpA, lapB, ami, cwhA, lpeA, aut, lplA1, prsA2, purQ, svpA, hpt, oppA, agrA, agrC, cheA, cheY, fur, lisK, lisR, sigB, stp, virR, virS, lgt, lspA, srtA, srtB, intA, pgdA, oatA, bsh, mdrM