

# **Listeria monocytogenes: UM AGENTE INFECCIOSO AINDA POUCO CONHECIDO NO BRASIL\***

Cristina Durante CRUZ\*\*  
Marina Baquerizo MARTINEZ\*\*\*  
Maria Teresa DESTRO\*\*\*\*

■ **RESUMO:** *Listeria monocytogenes* é o agente infeccioso responsável pela doença de origem alimentar denominada listeriose. Apesar de baixa incidência, a listeriose representa importante risco à saúde pública, pelo grau de severidade das seqüelas e alto índice de mortalidade (20% a 30%) que promove em populações de risco, como pacientes imunocomprometidos, idosos e gestantes. No Brasil e em outros países em desenvolvimento, além da falta de preocupação por parte das autoridades de saúde pública em relação à sua disseminação, não há estatísticas oficiais de casos de listeriose, pois sua notificação não é obrigatória. Considerando o aumento da incidência de *L. monocytogenes* no mundo todo, e a falta de informações atualizadas na língua portuguesa sobre o comportamento desta bactéria, sua prevalência, fatores de virulência e outros aspectos relevantes para a saúde pública, se elaborou esta revisão.

■ **PALAVRAS-CHAVE:** *Listeria monocytogenes*; listeriose; patogenicidade; revisão.

## **INTRODUÇÃO**

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria conhecida dos cientistas já há muitos anos. Suas características de patógeno intracelular vêm atraindo estudos desde que Murray, Webb e Swann relataram, em 1924, o primeiro isolamento de um microrganismo que foi responsável por uma leucocitose mononuclear típica em coelhos denominando-o de *Bacterium monocytogenes*.<sup>80</sup> Pirie, em 1930, isolou um microrganismo semelhante em roedores e o nomeou de *Listerella hepatolytica* em homenagem ao cirurgião britânico, Sir Joseph Lister. A denominação *Listeria monocytogenes* só foi definida em 1940 e, em 1948, foi incluída no Manual Bacteriológico Determinativo de Bergey.<sup>7</sup>

Até 1961, *L. monocytogenes* era a única espécie reconhecida do gênero *Listeria*, mas atualmente são consideradas seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* e *L. ivanovii*. *Listeria* é bacilo curto (0,4µm a 0,5µm de diâmetro e 0,5µm a 2µm

de comprimento), gram-positivo, anaeróbio facultativo, não esporulado e não formador de cápsulas. São móveis a temperatura de 25°C devido à presença de flagelos peritríquios.<sup>7</sup> Este microrganismo pode multiplicar-se em uma ampla faixa de temperatura (1°C – 45°C) e pH (4.3 – 9.6), além de tolerar concentrações salinas elevadas ( $\geq 10\%$ ).<sup>98</sup>

Dentre as seis espécies hoje reconhecidas, somente *L. monocytogenes* é considerada consistentemente patogênica a humanos. A doença por ela provocada, denominada listeriose, ganhou importância como enfermidade de origem alimentar no início dos anos 1980, sendo responsável por casos de aborto, meningite e septicemia, diagnosticada principalmente em pessoas pertencentes a grupos de risco tais como imunodeprimidos, idosos, crianças e mulheres grávidas.<sup>30</sup> Em meados de 1990 uma nova forma da infecção não invasiva foi reconhecida envolvendo sintomas gastrointestinais suaves, afetando pessoas saudáveis.<sup>22, 99, 100</sup>

Uma vez que, os alimentos contaminados são as maiores fontes de transmissão do microrganismo tanto nos surtos como nos casos esporádicos de listeriose, o trato gastrointestinal (TGI) é o principal ponto de entrada do patógeno e foco de colonização. A fim de colonizar o TGI, o microrganismo deve sobreviver às condições adversas, como a acidez estomacal, a alta osmolaridade e a presença de sais biliares no intestino delgado.<sup>16</sup>

Vários fatores influenciam o sucesso da colonização por *L. monocytogenes* no hospedeiro: presença de células *natural killers* e linfócitos T do sistema imune intestinal, integridade do epitélio intestinal, carga microbiana presente no alimento contaminado e grau de virulência das cepas.<sup>57, 84</sup>

A partir do TGI, *L. monocytogenes* pode ser responsável por duas formas clínicas de listeriose: infecção não invasiva limitada ao intestino e infecção invasiva localizada ou sistêmica. Sobre a primeira ainda são poucos os estudos, mas sabe-se que esta enfermidade caracteriza-se por uma gastroenterite febril acompanhada de vômitos e diarreia.<sup>94</sup>

Surto de listeriose já foram relatados em diversas localidades incluindo países da América do Norte e da Eu-

\* Trabalho realizado com apoio financeiro da FAPESP (Processos no 03/12197-1 e 03/12198-8).

\*\* Pós-graduação em Ciência dos Alimentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP – 05508-000 – São Paulo – SP – Brasil.

\*\*\* Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP – 05508-000 – São Paulo – SP – Brasil.

\*\*\*\* Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP – 05508-000 – São Paulo – SP – Brasil.

ropa. No período de 1983 a 1995 cerca de 1000 indivíduos foram acometidos por listeriose devido a ingestão de derivados de carne ou leite contaminados.<sup>97</sup>

*L. monocytogenes* é responsável por cerca de 2.500 casos de enfermidades transmitidas por alimentos por ano nos Estados Unidos, sendo 500 destes fatais.<sup>76</sup> Somente no ano de 2006 foram registrados 138 casos de listeriose, com uma taxa de incidência superior (0,31) a meta estabelecida pelo país (0,25). Estima-se que nos EUA o custo anual de casos agudos de listeriose seja de cerca de 2,3 bilhões de dólares.<sup>115</sup>

Apesar da baixa morbidade da doença (cuja incidência anual é de 2 a 10 casos por milhão de pessoas) nos EUA, a mortalidade associada é elevada estando entre 20% a 30%.<sup>76</sup>

*L. monocytogenes* é considerado um patógeno oportunista, uma vez que a ocorrência da infecção depende principalmente das condições imunológicas dos indivíduos afetados. Pode-se supor que nas próximas décadas ocorra elevação destes números, apesar dos esforços das indústrias de alimentos e das autoridades, uma vez que o número de indivíduos susceptíveis e grupos vulneráveis na população tendem a crescer. Outro fator que pode contribuir para esta elevação é a demanda, por parte dos consumidores, de alimentos processados cada vez mais semelhantes ao produto *in natura* e com vida-de-prateleira mais longa.

A ocorrência de listeriose de origem alimentar é relatada principalmente em países industrializados, com poucos, ou nenhum relato em países em desenvolvimento. Entretanto, não se sabe se isto reflete diferentes taxas de exposição, hábitos alimentares e susceptibilidade do hospedeiro ou se falta de sistemas de pesquisa e informação de

dados. No Brasil, as informações sobre Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são bastante escassas. Um estudo realizado no Estado do Paraná revelou que no ano de 2000 foram gastos pelo governo cerca de 2 milhões de reais, somente em internações devido às DTA.<sup>2</sup>

São 13 as sorovariiedades de *L. monocytogenes* e dentre elas cabe destacar os sorotipos 1/2a, 1/2b e 4b, responsáveis por 90% dos casos de listeriose humana, sendo que o sorotipo 4b é identificado em 50% destes.<sup>75</sup> Em contraposição, os sorotipos 1/2a, 1/2b e 1/2c predominam em amostras de alimentos.<sup>39,83,96</sup>

Em países com sistemas de vigilância atuantes todas as cepas de *L. monocytogenes* são consideradas igualmente patogênicas, já que faltam marcadores fenotípicos e/ou genotípicos para determinação da virulência. No entanto, diversos estudos realizados com imunodeterminantes superficiais<sup>56, 110</sup> e modelos de infecção em animais experimentais<sup>67, 85, 95</sup> sugerem que a virulência de *L. monocytogenes* seja heterogênea.

Sabe-se também que alterações fisiológicas podem ser induzidas em cepas de *L. monocytogenes*, como resposta a mudanças ambientais, e que estas podem resultar numa pré-adaptação do microrganismo ao hospedeiro, tornando-o mais capaz de expressar sua virulência e causar infecção.<sup>21, 81, 107</sup>

## CICLO INTRACELULAR DE INFECÇÃO

*L. monocytogenes* é um parasita intracelular facultativo e que pode se proliferar dentro de macrófagos e em outras células não fagocíticas profissionais, como células

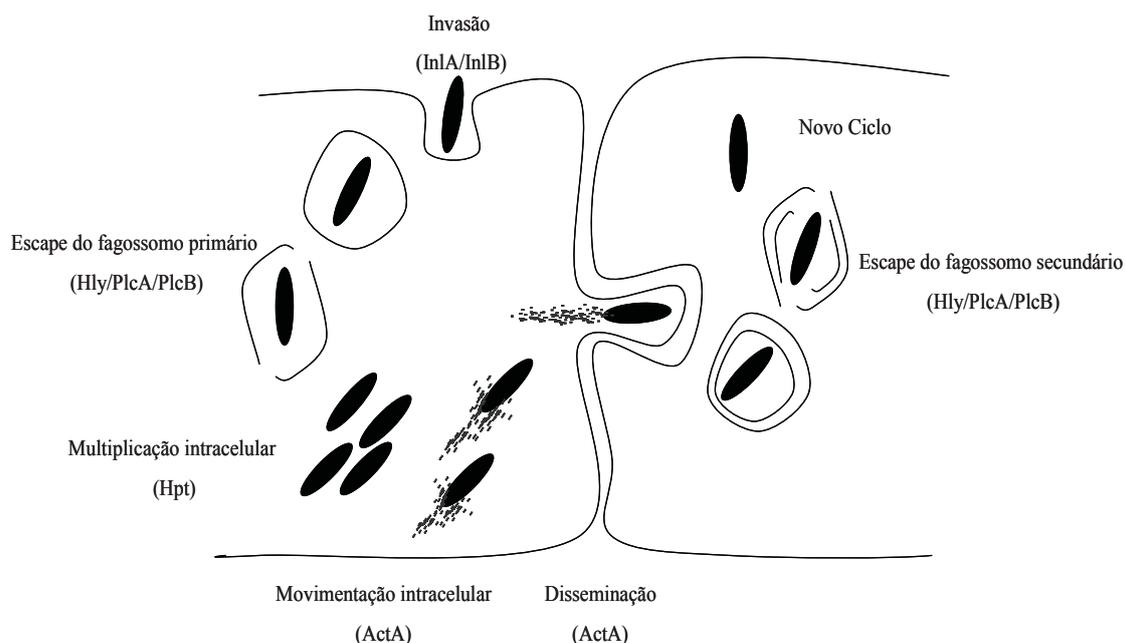


FIGURA 1 – Ciclo de vida intracelular de *L. monocytogenes*, baseado em Tilney & Portnoy.<sup>114</sup> As proteínas responsáveis por cada etapa aparecem entre parênteses.

epiteliais e hepatócitos. Este microrganismo tem a capacidade de evitar a resposta do sistema imune humoral, por se multiplicar dentro da célula hospedeira, e escapar da resposta imune celular, por disseminar-se através da passagem célula-célula.<sup>118</sup>

Em todas as células eucarióticas *L. monocytogenes* desenvolve um ciclo celular semelhante que pode ser dividido em três etapas: escape do fagossomo após a fagocitose, multiplicação na célula hospedeira e invasão da célula vizinha. A invasão é decorrente da polimerização de filamentos de actina que impulsionam a bactéria em direção à célula adjacente, provocando a formação de invaginações e fagocitose, começando assim, um novo ciclo (Figura 1).<sup>103</sup>

## INVASÃO

*L. monocytogenes* internaliza-se através da superfície basolateral de células epiteliais intestinais, como demonstrado em estudos *in vitro* com células eucarióticas Caco-2,<sup>58</sup> mas também pode colonizar as placas de Peyer, através de invasão pelas células M, como demonstrado em experimentos *in vivo* com camundongos.<sup>73</sup>

Quando *L. monocytogenes* consegue resistir aos mecanismos de defesa do TGI, inicia-se a translocação do patógeno, levando à invasão do epitélio intestinal e à colonização de tecidos mais profundos, com posterior disseminação via corrente sanguínea ou linfonodos em direção a órgãos alvos, como baço e fígado.<sup>103</sup>

O ciclo de infecção por *L. monocytogenes* inicia-se com a adesão da bactéria à superfície da célula eucariótica e posterior entrada na mesma através de fagocitose ou, no caso de células não-fagocíticas, pela interação entre moléculas ligante presentes na superfície da bactéria e receptores da superfície da célula eucariótica. A invasão ocorre por um mecanismo conhecido como “zíper” no qual a

bactéria progressivamente vai penetrando na célula até que seja totalmente internalizada.<sup>34, 54</sup> Durante este processo, a membrana da célula eucariótica vai envolvendo a bactéria, provocando alterações leves no citoesqueleto do hospedeiro. Este processo difere daquele de outros patógenos intestinais, tais como *Shigella flexneri* e *Salmonella Typhimurium*, que promovem sua entrada através da inserção de sistema de secreção.<sup>33, 55, 109</sup>

Estudos indicam que *L. monocytogenes* pode reconhecer receptores diferentes nas células eucarióticas, incluindo glicoproteínas transmembrânicas como a E-caderina, receptor de molécula complemento (gC1qR), receptor de fator de crescimento de hepatócitos (Met), além de componentes da matriz extracelular, como as proteoglicanas.<sup>5, 19, 28, 87, 103</sup> Os ligantes de *L. monocytogenes* são principalmente as internalinas A e B (InlA e InlB), que são proteínas de superfície caracterizadas por possuir repetições ricas em leucina (LRR), responsáveis por intermediar a ligação com a célula do hospedeiro (Figura 2). Estas proteínas são codificadas pelos genes *inlA* e *inlB*. Outras proteínas de superfície, como autolisinas (Ami, p60 e Auto) podem estar envolvidas no processo de invasão, porém atuando como adesinas.<sup>13, 50</sup>

A proteína InlA apresenta interação específica com a proteína E-caderina presente na superfície de células epiteliais humanas como, por exemplo, Caco-2.<sup>77</sup> E-caderina apresentam dois domínios: um domínio extracelular que interage com a porção LRR de InlA, e um domínio intracelular composto pelas cateninas  $\alpha$  e  $\beta$ , responsáveis por interagir com o citoesqueleto de actina da célula hospedeira.<sup>20</sup> A interação do domínio extracelular da E-caderina com InlA induz uma cascata de sinalização que culmina com o rearranjo do citoesqueleto da célula do hospedeiro, resultando na fagocitose da bactéria. Neste processo diversas proteí-

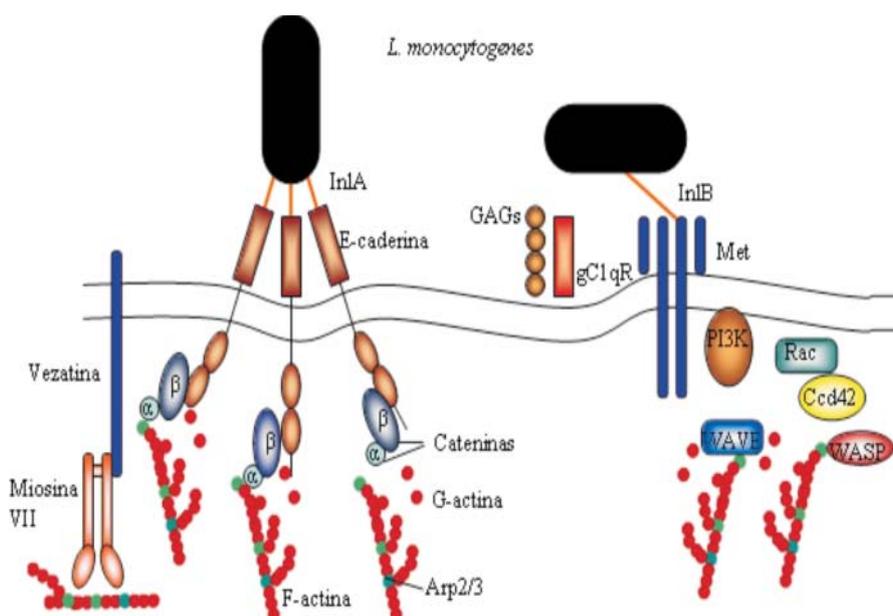


FIGURA 2 – Representação gráfica das estratégias de invasão celular de *L. monocytogenes* (modificado de Pizarro-Cerda & Cossart).<sup>87</sup>

nas parecem estar envolvidas incluindo complexo Arp 2/3, miosina VII e vezatina.<sup>18, 64</sup>

InlB está envolvida na entrada de *L. monocytogenes* em hepatócitos e outras células não-epiteliais. As principais proteínas receptoras do hospedeiro que interagem com InlB são gC1qR (receptor da fração C1q do sistema complemento), Met e glicosaminoglicanas (Figura 2).<sup>6,104</sup> Ao contrário de InlA, InlB apresenta-se fracamente ligada à superfície bacteriana através de uma associação não-covalente composta por seqüência de aminoácidos glicina e triptofano (GW).<sup>58, 86</sup> A interação de InlB com o receptor da célula eucariótica culmina na fosforilação de fosfoinosítideo 3-Kinase (PI3K) levando à ativação do complexo Arp2/3.<sup>72</sup> Este processo junto com proteínas Rac e Cdc42, WASP e WAVE (proteínas da síndrome Wiskott-Aldrich) promove a formação e rearranjo de filamentos de actina e conseqüente internalização da bactéria.<sup>48</sup>

Alguns estudos indicam, ainda, que a proteína polimerizadora de actina (ActA) possa participar no processo de invasão, provavelmente via algum componente da matriz extracelular, como proteoglicanas. Esta propriedade foi demonstrada por meio da construção de mutantes  $\Delta inlAB$  de cepas de *L. monocytogenes* que ainda assim apresentaram capacidade invasiva em experimentos *in vitro* e *in vivo*.<sup>1, 45, 46, 108</sup>

## ESCAPE DO FAGOSSOMO PRIMÁRIO

Após a invasão, a bactéria encontra-se em um fagossomo que se acidifica rapidamente.<sup>3</sup> Há evidências que *L. monocytogenes* impeça a fusão do fagossomo com lisossomo para poder estabelecer seu ciclo de infecção, evitando desta maneira a ação de enzimas que poderiam levar à destruição do microrganismo.<sup>98</sup> Após 30 minutos de invasão, a bactéria inicia o processo de ruptura da membrana fagossômica, sendo que em 2 horas 50% da população bacteriana encontra-se livre no citoplasma.<sup>40</sup> Esta etapa, essencial para a sobrevivência e proliferação do microrganismo, é mediada por uma hemolisina (Hly) juntamente com fosfolipases.<sup>118</sup>

Sabe-se que para determinados tipos de células eucarióticas a presença da hemolisina é fundamental para o ciclo de infecção de *L. monocytogenes*, como em macrófagos murino J774; já em células HenLe e HeLa as fosfolipases conseguem, por si só, romper as membranas dos fagossomos permitindo a multiplicação do microrganismo.<sup>89, 105</sup>

O gene da hemolisina (*hly*) foi o primeiro fator de virulência de *L. monocytogenes* a ser identificado e seqüenciado. A hemolisina produzida pertence à família das toxinas colesterol-dependente formadoras de poro (CDTX), sendo ativa somente em pH baixo (5,5). Por esta característica, a hemolisina não é atuante no compartimento citoplasmático, preservando a célula hospedeira intacta para o ciclo intracelular de *L. monocytogenes*.<sup>61, 116</sup> Esta proteína também possui em sua estrutura uma seqüência de aminoácidos chamada PEST (prolina, glutamina, serina, treonina) que, quando reconhecida pela célula eucariótica, inicia o

processo de formação de poros na parede celular do hospedeiro.<sup>23, 70</sup> Os poros ou lesões na membrana do fagossomo, causados por Hly, provavelmente facilitam o acesso das fosfolipases aos seus substratos, levando à total ruptura da barreira física que delimita o compartimento fagossomal. Cepas mutantes  $\Delta hly$  mostraram-se avirulentas em modelos murinos.<sup>47, 70, 77</sup>

As fosfolipases, de ação conhecida, produzidas por *L. monocytogenes* são a fosfolipase A (PlcA), que é específica para o fosfatidilinositol,<sup>41</sup> e a fosfolipase B (PlcB), que atua em amplo espectro de substratos (fosfatidilserina, fosfatidilcolina, fosfatidiletionamina e esfingomiélin).<sup>42</sup>

A PlcA, secretada por *L. monocytogenes*, parece atuar como um fator de virulência acessório, colaborando na lise do fagossomo junto com Hly e PlcB. Já a PlcB é secretada pela bactéria em forma de proenzima inativa, que requer sua maturação citoplasmática pela clivagem proteolítica.<sup>35, 82, 90</sup> Esta clivagem é mediada por uma metaloprotease, codificada pelo gene *mpl*.<sup>117</sup> Apesar desta característica, experimentos realizados com cepas mutantes de *L. monocytogenes*  $\Delta mpl$  mostram que a enzima pré-PlcB também pode ser ativada por outra via *mpl*-independente, mas o mecanismo pelo qual ocorre esta ativação ainda não está estabelecido.<sup>74</sup>

A produção de PlcB é facilmente evidenciada pela formação de halo de opacidade ao redor das colônias bacterianas em placas de ágar contendo gema de ovo. Esta característica, juntamente com a atividade hemolítica em ágar sangue, tem sido utilizada para caracterização fenotípica de cepas de *L. monocytogenes*.<sup>10, 92</sup>

## MULTIPLICAÇÃO CITOPLASMÁTICA

Uma vez dentro do citoplasma, as bactérias se multiplicam com um tempo de geração de aproximadamente 1 hora.<sup>35, 89</sup> Pouco se sabe a respeito dos fatores de virulência implicados nesta fase de replicação citoplasmática. Entretanto, sabe-se que a multiplicação intracelular não depende da indução de genes de proteínas de estresse, como ocorre com outros patógenos intracelulares, o que indica que o compartimento celular é permissivo à proliferação bacteriana.<sup>49</sup>

O primeiro fator de virulência implicado especificamente na etapa de proliferação intracelular, a proteína Hpt, foi identificado e caracterizado por Chico-Calero et al.<sup>15</sup> Esta proteína é codificada pelo gene *hpt* e é responsável pelo transporte de hexoses fosfatadas. Mutantes de *L. monocytogenes*  $\Delta hpt$  apresentaram deficiência em sua capacidade de replicação intracelular e conseqüente redução em sua virulência.

## MOVIMENTAÇÃO INTRA E INTERCELULAR

As bactérias intracitoplasmáticas, após escaparem do fagossomo, são imediatamente envolvidas por uma ca-

mada de monômeros de actina, que posteriormente são reorganizados em um dos pólos do microrganismo, formando caudas que atingem até 40µm de comprimento. Esta reorganização é codificada por um único gene, *actA*, responsável pelo movimento inter e intracelular da bactéria. Este rearranjo propicia a movimentação de *L. monocytogenes* pelo citoplasma na velocidade de 0,3 µm/s.<sup>27, 60</sup>

O movimento de *L. monocytogenes* é aleatório e, em algum momento, a bactéria chega a alcançar o limite da periferia celular. Em contato com a membrana celular, é empurrada para o exterior dando lugar a uma protrusão similar a um pseudópode, que alguns autores denominaram de listeriópode. Esta estrutura penetra na célula vizinha resultando na formação de um vacúolo de dupla membrana - fagossomo de dupla membrana.<sup>14, 17, 68, 106</sup>

Além da polimerização dos filamentos de actina há indicações de que possa ocorrer a formação de um complexo de microtúbulos que atuaria junto aos filamentos de actina para facilitar a disseminação e a movimentação de *L. monocytogenes* dentro de células hospedeiras.<sup>103</sup> Pouco se sabe sobre a atuação destes microtúbulos; entretanto, para a disseminação dentro de macrófagos estes parecem ser fundamentais.<sup>11</sup>

### ESCAPE DO VACÚOLO SECUNDÁRIO

Após 5 minutos da formação do vacúolo de dupla membrana, a bactéria escapa para o espaço citoplasmático, onde inicia um novo ciclo de proliferação intracelular e de passagem célula-célula.<sup>23, 79, 93, 112, 113, 114</sup> O escape do fagossomo de dupla membrana é dependente da atuação da Hly em conjunto com PlcB e PlcA, produzidas por *L. monocytogenes*.<sup>37</sup>

### DETERMINANTES MOLECULARES DE VIRULÊNCIA E MECANISMO DE REGULAÇÃO

Dentre os fatores de virulência necessários para o parasitismo intracelular de *L. monocytogenes*, seis proteínas são codificadas por genes localizados em um locus de 9kb, denominado de região central de virulência, também denominado como LIPI-1 (Ilha de Patogenicidade de *Listeria* 1)<sup>117</sup> (Figura 3). Os genes que fazem parte desta região são *prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl*, *actA* e *plcB*. Este cluster está organizado por uma região monocistrônica *hly*, que codifica uma única proteína (hemolisina) e por dois operons: lecitinase, contendo os genes *mpl*, *actA* e *plcB*, e, no outro extremo, o operon *plcA-prfA*, que é transcrito na orientação oposta.<sup>62, 63, 118</sup>

Já se identificou que a maioria dos fatores de virulência é regulada pelo Fator Regulador Positivo (PrfA).<sup>71, 78, 101</sup> PrfA é o regulador central de virulência de *L. monocytogenes* e ativa a expressão dos genes de LIPI-1 e de alguns outros genes de virulência, incluindo membros da família das internalinas (*inlA* e *inlB*) e *hpf* (Figura 3). Os promotores dos genes regulados por PrfA apresentam seqüências palindrômicas de 14pb, denominadas *box* PrfA, localizadas 41pb acima do início da transcrição. PrfA está estruturalmente e funcionalmente relacionado com Crp (Proteína Receptora de cAMP) das enterobactérias,<sup>65</sup> sendo o único gene regulador de virulência descrito até o momento em *Listeria*.

Estudos têm demonstrado que, na natureza, o sistema PrfA está inativo, mas uma vez dentro do citoplasma, ocorre a ativação deste, levando à transcrição dos genes PrfA-dependentes. Vários fatores parecem contribuir para essa alteração, sendo este o foco de diversos estudos em andamento.<sup>91</sup>

*L. monocytogenes* tem a capacidade de somente colocar o seu “maquinário” em ação quando chega o momento de estabelecer o ciclo de infecção em um determinado

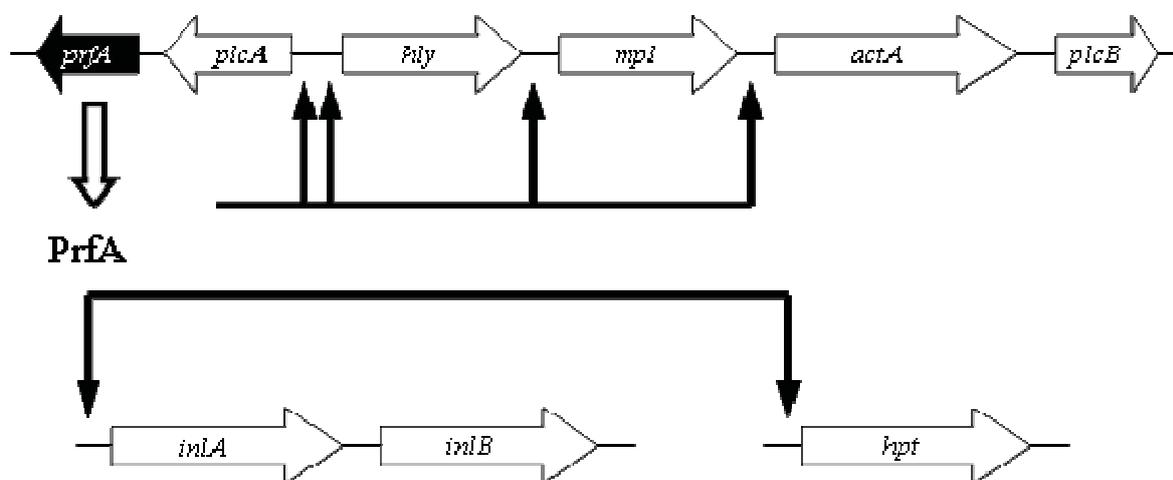


FIGURA 3 – Representação esquemática da organização e controle de regulação de alguns genes de virulência de *L. monocytogenes* que estão agrupados em um operon no cromossomo da bactéria (adaptado de Milohanic et al).<sup>78</sup>

hospedeiro, transformando-se de um microrganismo saprofítico em um patógeno intracelular.<sup>44</sup>

A regulação da expressão do próprio *prfA* é muito complexa e envolve múltiplos transcritos de RNAm, mecanismos de retroalimentação (*feedback*) estimulatórios ou inibitórios, regulação pós-transcricional e uma interação inespecífica com cofatores de baixo peso molecular.<sup>25, 63</sup>

Os níveis basais de expressão de *prfA* e, portanto, de todos os fatores *prfA*-dependentes diferem entre as espécies do gênero *Listeria*. Em *L. monocytogenes* uma variedade de sinais dependentes da fase de crescimento e do meio ambiente modulam a expressão deste regulador de virulência por intermédio da PrfA. Estes sinais ativadores incluem temperatura, condições de estresse, seqüestro de componentes químicos do meio extracelular, contato com células eucarióticas, além do ambiente citoplasmático da célula hospedeira.

O modelo atualmente aceito do mecanismo de regulação de PrfA sugere um intercâmbio alostérico mediado por um cofator de baixo peso molecular, dependente de condições ambientais, mas que ainda não foi identificado. Uma revisão sobre este assunto pode ser encontrada em Scortti et al.<sup>102</sup> A ativação de *prfA* resulta na síntese de mais proteína PrfA que, por meio de um sistema de retroalimentação positiva mediada por um promotor *prfA*-dependente, direciona a síntese de RNAm.<sup>8,9,29,92,118</sup>

Chico-Calero et al.<sup>15</sup> verificaram que quando o ambiente está favorável ao desenvolvimento da bactéria, esta utiliza as fontes de carbono convencionais, como glicose, frutose e manose, o que automaticamente leva à inibição da produção do fator PrfA e, portanto, à diminuição da expressão dos fatores de virulência. Este comportamento foi observado em experimentos *in vitro* em meio de cultura. Já quando o ambiente está inóspito, como no interior da célula de mamíferos, o microrganismo tem a capacidade de utilizar, como fonte de energia, hexoses fosfatadas. A rota metabólica alternativa não causa repressão do *prfA* e contribui para a proliferação de *L. monocytogenes*.

## DIVERSIDADE NA VIRULÊNCIA DE CEPAS DE *L. monocytogenes*

Apesar da abundância de *L. monocytogenes* no ambiente, poucos indivíduos ficam seriamente doentes. Sabe-se que algumas cepas de *L. monocytogenes* isoladas de amostras de alimentos e de ambiente são avirulentas ou fracamente virulentas, além de somente alguns sorotipos serem responsáveis pelas infecções que ocorrem. De acordo com diferentes estudos, a porcentagem de cepas de *L. monocytogenes* não virulentas varia de 1,6% a 90%.<sup>12, 24, 31, 32</sup>

A virulência de microrganismos patogênicos, incluindo *L. monocytogenes*, pode ser avaliada pela citotoxicidade da bactéria, uma vez dentro do hospedeiro. Sabe-se que as bactérias mais citotóxicas são eliminadas rapidamente do tecido do hospedeiro (por provocar uma resposta imune mais rápida), enquanto aquelas que causam danos

limitados às células do hospedeiro podem persistir por mais tempo no organismo, tendo maiores chances de atingir órgãos secundários e causar doença. Isto é verificado também para *L. monocytogenes*.<sup>40</sup>

Wiedmann et al.<sup>120</sup> propuseram o agrupamento de cepas de *L. monocytogenes* em três linhagens distintas, sendo que a linhagem I inclui os sorotipos 1/2b, 3b, 4b, 4d e 4e, a linhagem II, 1/2a, 1/2c, 3a e 3c e a linhagem III, 4a e 4c. Esta divisão foi baseada em características obtidas pela ribotipagem e por Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) dos genes de virulência *hly*, *inlA* e *actA*, combinadas com a origem dos isolados (humano ou animal) e seus sorotipos. A linhagem I agrupou as cepas envolvidas em surtos de listeriose. Esses autores sugerem ainda que somente cepas pertencentes à linhagem I sejam consideradas como de importância para saúde pública.

Ainda não se conseguiu estabelecer as diferenças significativas entre a virulência de cepas associadas aos grandes surtos e aquelas que não estão associadas com doenças de origem alimentar. Os mecanismos básicos responsáveis por esta diferença que permitem que as cepas pertencentes ao sorotipo 4b sejam mais freqüentemente isoladas nos casos de listeriose ainda precisam ser identificados. Acredita-se que estas diferenças estejam mais relacionadas a um processo transcricional ou pós-transcricional, do que à presença ou ausência de determinados genes.

Para ensaios realizados *in vivo* existe uma relação direta entre capacidade de invasão e sucesso do ciclo de infecção de *L. monocytogenes*, podendo se correlacionar esse fator à maior ou menor virulência. Esta relação sugere que populações bacterianas elevadas aumentariam as chances de algum microrganismo escapar do sistema imunológico, invadindo os tecidos vizinhos e estabelecendo o quadro infeccioso. Pode-se supor o mesmo para ensaios *in vitro*, definindo, desta forma, cepas de maior invasividade como possíveis causadoras da infecção.<sup>110, 111</sup>

A determinação e quantificação de algumas enzimas liberadas pelas células eucarióticas devido ao efeito citotóxico externo, como infecção por cepas de *L. monocytogenes*, também têm sido incluídas nos estudos da diversidade de virulência. Muitas das pesquisas utilizam a liberação de lactato desidrogenase e/ou fosfatase alcalina como indicador de citotoxicidade.<sup>4, 43, 95</sup>

Assim, apesar de todo o avanço ocorrido e do nível de detalhamento existente até o momento, os dados gerados ainda não fornecem subsídios para o perfeito entendimento sobre o potencial de virulência de “isolados de campo” e a possibilidade de uma determinada cepa causar doença.<sup>59</sup>

## LISTERIOSE NO BRASIL

O presente estudo baseou-se na análise de publicações encontradas na literatura científica sobre *L. monocytogenes* e listeriose ressaltando resultados obtidos no Brasil. Procedeu-se a busca de artigos nas bases eletrônicas de NCBI (*National Center for Biotechnology Information*)

e LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde). Adicionalmente, outros estudos foram realizados a partir das listas de referências dos trabalhos localizados nas bases eletrônicas de dados. Foram excluídos trabalhos sobre isolamento de *L. monocytogenes* em alimentos e metodologia.

No Brasil, os surtos e/ou casos de listeriose são subdiagnosticados e/ou subnotificados. Entretanto, alguns pesquisadores realizaram estudos em relação à prevalência e característica de cepas de *L. monocytogenes* isoladas de pacientes no país, mas sem estabelecer algum tipo relação com a via de transmissão do patógeno.

De abril a dezembro de 1985, foram observados cinco casos de listeriose em transplantados renais num mesmo hospital de São Paulo. Os pacientes eram adultos que apresentavam febre como sintoma principal. Em todas as amostras foi isolado *L. monocytogenes* pertencente aos sorotipos 1/2a e 4b.<sup>52</sup>

Já no período de fevereiro a junho de 1989, foram diagnosticados no Instituto de Saúde do Distrito Federal (ISDF) três casos de meningite bacteriana associada a *L. monocytogenes*. Os pacientes foram um recém-nascido, uma criança e um adulto, sendo que este último resultou em óbito.<sup>51</sup>

Landgraf et al.<sup>66</sup> isolaram *L. monocytogenes* (sorotipo 4b) do líquido cefalorraquidiano (LCR) de cinco crianças recém-nascidas em um hospital da Grande São Paulo, sendo que três crianças não sobreviveram.

No Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), durante o ano de 2000, foram realizadas coletas de dez placentas provenientes de abortos ou partos prematuros. A partir de análise microscópica e avaliação imunohistoquímica foi observado que 50% das amostras analisadas foram positivas para *L. monocytogenes*. Estes resultados demonstram que *L. monocytogenes* é uma importante causa de doença naquela região, e que é possível se realizar um diagnóstico rápido para listeriose e contribuir para o tratamento dos recém-nascidos.<sup>101</sup>

Hofer et al.<sup>53</sup> realizaram a análise fenotípica de cepas de *L. monocytogenes* isoladas durante os anos de 1969 a 2000 (255 amostras) em várias regiões do país. Foi observado que o sorotipo 4b foi o mais incidente (60,3%) seguido pelo 1/2a (29%). Além disso, ficou evidente a predominância do patógeno nas amostras de líquido cefalorraquidiano em relação a amostras de sangue. Os autores destacam ainda que as regiões Sul e Sudeste do país apresentaram o maior número de isolados para *L. monocytogenes* (87,8%), sugerindo que este fato deva estar associado a diferentes hábitos alimentares. Este relato, no entanto, deve ser analisado com cautela, pois pode ser decorrente de um maior número de pesquisas do patógeno nestas regiões.

Em um estudo realizado na região sudoeste do Estado de São Paulo por Leme-Marques et al.<sup>69</sup> avaliou-se 13 cepas de *L. monocytogenes* isoladas de 12 casos clínicos de listeriose ocorridos no período de janeiro de 1995 a maio de 2005. Observou-se que a maioria das cepas pertenceu ao sorotipo 4b, não apresentando resistência aos antimicrobia-

nos testados e com perfis moleculares (determinados por PFGE) semelhantes, indicando uma possível relação clonal entre os isolados.

## CONCLUSÕES

Embora *L. monocytogenes* seja um microrganismo bastante estudado em países desenvolvidos, ainda há necessidade de mais estudos a fim de elucidar os diversos fatores que podem influenciar na sua patogenicidade, de acordo com o hospedeiro e o ambiente em que se encontra.

Em nosso país, assim como em outros em desenvolvimento, há carência de informações sobre esse importante patógeno. Assim, verifica-se a necessidade de intensificar e aprofundar a pesquisa de *L. monocytogenes* em amostras clínicas no Brasil, para que se possa dimensionar a real importância deste patógeno em nosso meio. Além disso, há necessidade de se tentar estabelecer a relação entre ocorrência de *L. monocytogenes* em amostras clínicas e o tipo de alimento consumido pelo paciente brasileiro, para buscar prevenir e controlar casos e surtos que possam vir a ocorrer.

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

■ABSTRACT: *Listeria monocytogenes* is the infectious agent responsible for listeriosis, a foodborne disease. Even with a low incidence, listeriosis is a cause of concern for public health due its severe outcome and high mortality rate (20% to 30%) to the risk population such as the immunosuppressed, the elderly and pregnant women. In Brazil, as well as in other developing countries, health authorities show low concern in relation to the dissemination of *L. monocytogenes*. Moreover, there are no official reports of listeriosis cases, because its notification is not mandatory. Due to the increasing incidence of *L. monocytogenes* all over the world, and the lack of updated information in Portuguese about the behavior of the microorganism, virulence mechanisms and other factors important for the public health, this review was prepared.

■KEYWORDS: *Listeria monocytogenes*; listeriosis; pathogenicity; review.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVAREZ-DOMINGUEZ, C. et al. Host cell heparan sulfate proteoglycans mediate attachment and entry of *Listeria monocytogenes*, and the *Listerial* surface protein ActA is involved in heparan sulfate receptor recognition. **Infect. Immun.**, v.65, n.1, p.78-88, Jan. 1997.

2. AMSON, G.V. et al. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná - Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciênc. Agrotec.**, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.
3. BEAUREGARD, K.E. et al. pH-dependent perforation of macrophage phagosomes by listeriolysin O from *Listeria monocytogenes*. **J. Exp. Med.**, v.186, n.7, p.1159-1163, Oct. 1997.
4. BHUNIA, A.K.; WESTBROOK, D.G. Alkaline phosphatase release assay to determine cytotoxicity for *Listeria* species. **Lett. Appl. Microbiol.**, v.26, n.4, p. 305-310, Apr. 1998.
5. BRAUN, L.; GHEBREHIWET, B.; COSSART, P. gC1q-R/p32, a C1q-binding protein, is a receptor for the InlB invasion protein of *Listeria monocytogenes*. **Embo J.**, v.19, n.7, p.1458-1466, Apr. 2000.
6. BRAUN, L.; OHAYON, H.; COSSART, P. The InlB protein of *Listeria monocytogenes* is sufficient to promote entry into mammalian cells. **Mol. Microbiol.**, v.27, n.5, p.1077-1087, Mar. 1998.
7. BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D.; HITCHENS, A. P. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Baltimore: The William and Wilkins Co. 1948, 60p.
8. BREHM, K. et al. Regulation of virulence gene expression in pathogenic *Listeria*. **Microbiologia**, v.12, n.2, p.219-236, June 1996.
9. BREHM, K. et al. The bvr locus of *Listeria monocytogenes* mediates virulence gene repression by beta-glucosides. **J. Bacteriol.**, v.181, n.16, p.5024-5032, Aug. 1999.
10. BROSCH, R. et al. Virulence heterogeneity of *Listeria monocytogenes* strains from various sources (food, human, animal) in immunocompetent mice and its association with typing characteristics. **J. Food Protect.**, v.56, p.296-301, 1993.
11. BUCHWALOW, I. B. et al. Involvement of tubulin and inhibitory G proteins in the interaction of *Listeria monocytogenes* with mouse hepatocytes. **Infect. Immun.**, v.65, n.3, p.1095-1097, Mar. 1997.
12. BUNCIC, S. et al. Can food-related environmental factors induce different behaviour in two key serovars, 4b and 1/2a, of *Listeria monocytogenes*? **Int. J. Food Microbiol.**, v.65, n.3, p.201-212, May 2001.
13. CABANES, D. et al. Auto, a surface associated autolysin of *Listeria monocytogenes* required for entry into eukaryotic cells and virulence. **Mol. Microbiol.**, v.51, n.6, p.1601-1614, Mar. 2004.
14. CHAKRABORTY, T. The molecular mechanisms of actin-based intracellular motility by *Listeria monocytogenes*. **Microbiologia**, v.12, n.2, p.237-244, June 1996.
15. CHICO-CALERO, I. 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**, v.99, n.1, p.431-436, Jan. 2002.
16. COBB, C. A. et al. Increased prevalence of *Listeria monocytogenes* in the faeces of patients receiving long-term H2-antagonists. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v.8, n.11, p.1071-1074, Nov. 1996.
17. COSSART, P. Actin-based bacterial motility. **Curr. Opin. Cell Biol.**, v.7, n.1, p.94-101, Feb. 1995.
18. COSSART, P. Actin-based motility of pathogens: the Arp2/3 complex is a central player. **Cell. Microbiol.**, v.2, n.3, p.195-205, June 2000.
19. COSSART, P. Met, the HGF-SF receptor: another receptor for *Listeria monocytogenes*. **Trends Microbiol.**, v.9, n.3, p.105-107, Mar. 2001.
20. COSSART, P.; PIZARRO-CERDA, J.; LECUIT, M. Invasion of mammalian cells by *Listeria monocytogenes*: functional mimicry to subvert cellular functions. **Trends Cell. Biol.**, v.13, n.1, p.23-31, Jan. 2003.
21. CZUPRYNSKI, C. J.; BROWN, J. F.; ROLL, J. T. Growth at reduced temperatures increases the virulence of *Listeria monocytogenes* for intravenously but not intragastrically inoculated mice. **Microb. Pathog.**, v.7, n.3, p.213-223, Sep. 1989.
22. DALTON, C. B. et al. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. **N. Engl. J. Med.**, v.336, n.2, p.100-105, Jan. 1997.
23. DECATUR, A. L.; PORTNOY, D. A. A PEST-like sequence in listeriolysin O essential for *Listeria monocytogenes* pathogenicity. **Science**, v.290, n.5493, p.992-995, Nov. 2000.
24. DEL CORRAL, F. et al. Quantitative comparison of selected virulence associated characteristics in food and clinical isolates of *Listeria*. **J. Food Protect.**, v.53, p.1003-1009, 1990.
25. DICKNEITE, C. et al. Differential interaction of the transcription factor PrfA and the PrfA-activating factor (Paf) of *Listeria monocytogenes* with target sequences. **Mol. Microbiol.**, v.27, n.5, p.915-928, Mar. 1998.
26. DOMANN, E. et al. A novel bacterial virulence gene in *Listeria monocytogenes* required for host cell microfilament interaction with homology to the proline-rich region of vinculin. **Embo J.**, v.11, n.5, p.1981-1990, May 1992.
27. DRAMSI, S.; COSSART, P. Intracellular pathogens and the actin cytoskeleton. **Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.**, v.14, p.137-166, 1998.
28. DREVETS, D. A. et al. *Listeria monocytogenes* infects human endothelial cells by two distinct mechanisms. **Infect. Immun.**, v.63, n.11, p.4268-4276, Nov. 1995.
29. ENGELBRECHT, F. et al. A novel PrfA-regulated chromosomal locus, which is specific for *Listeria ivanovii*, encodes two small, secreted internalins and contributes to virulence in mice. **Mol. Microbiol.**, v.30, n.2, p.405-417, Oct. 1998.

30. FARBER, J. M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. **Microbiol. Rev.**, v.55, n.3, p.476-511, Sep. 1991.
31. FARBER, J. M.; ROSS, W. H.; HARWIG, J. Health risk assessment of *Listeria monocytogenes* in Canada. **Int. J. Food. Microbiol.**, v.30, n.1-2, p.145-156, June 1996.
32. FARBER, J. M. et al. Characteristics of nonpathogenic strains of *Listeria monocytogenes*. **Can. J. Microbiol.**, v.37, n.8, p.647-650, Aug. 1991.
33. FINLAY, B. B.; RUSCHKOWSKI, S.; DEDHAR, S. Cytoskeletal rearrangements accompanying *Salmonella* entry into epithelial cells. **J. Cell. Sci.**, v.99 ( Pt 2), p.283-296, June 1991.
34. GAILLARD, J. L. et al. Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from gram-positive cocci. **Cell**, v.65, n.7, p.1127-1141, June 1991.
35. GAILLARD, J. L. et al. In vitro model of penetration and intracellular growth of *Listeria monocytogenes* in the human enterocyte-like cell line Caco-2. **Infect. Immun.**, v.55, n.11, p.2822-2829, Nov. 1987.
36. GAILLARD, J. L.; JAUBERT, F.; BERCHE, P. The inlAB locus mediates the entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes in vivo. **J. Exp. Med.**, v.183, n.2, p.359-369, Feb. 1996.
37. GEDDE, M. M. et al. A. Role of listeriolysin O in cell-to-cell spread of *Listeria monocytogenes*. **Infect. Immun.**, v.68, n.2, p.999-1003, Feb. 2000.
38. GEOFFROY, C. et al. Purification and characterization of an extracellular 29-kilodalton phospholipase C from *Listeria monocytogenes*. **Infect. Immun.**, v.59, n.7, p.2382-2388, July 1991.
39. GILOT, P.; GENICOT, A.; ANDRE, P. Serotyping and esterase typing for analysis of *Listeria monocytogenes* populations recovered from foodstuffs and from human patients with listeriosis in Belgium. **J. Clin. Microbiol.**, v.34, n.4, p.1007-1010, Apr. 1996.
40. GOEBEL, W.; KREFT, J. Cytolysins and the intracellular life of bacteria. **Trends Microbiol.**, v.5, n.3, p.86-88, Mar. 1997.
41. GOLDFINE, H.; JOHNSTON, N. C.; KNOB, C. Nonspecific phospholipase C of *Listeria monocytogenes*: activity on phospholipids in Triton X-100-mixed micelles and in biological membranes. **J. Bacteriol.**, v.175, n.14, p.4298-4306, July 1993.
42. GOLDFINE, H.; KNOB, C. Purification and characterization of *Listeria monocytogenes* phosphatidylinositol-specific phospholipase C. **Infect. Immun.**, v.60, n.10, p.4059-4067, Oct. 1992.
43. GRAY, K. M.; BHUNIA, A. K. Specific detection of cytopathogenic *Listeria monocytogenes* using a two-step method of immunoseparation and cytotoxicity analysis. **J. Microbiol. Methods**, v.60, n.2, p.259-268, Feb. 2005.
44. GRAY, M. J.; FREITAG, N. E.; BOOR, K. J. How the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* mediates the switch from environmental Dr. Jekyll to pathogenic Mr. Hyde. **Infect. Immun.**, v.74, n.5, p.2505-2512, May 2006.
45. GREGORY, S. H.; SAGNIMENI, A. J.; WING, E. J. Expression of the inlAB operon by *Listeria monocytogenes* is not required for entry into hepatic cells in vivo. **Infect. Immun.**, v.64, n.10, p.3983-3986, Oct. 1996.
46. GREIFFENBERG, L. et al. Interaction of *Listeria monocytogenes* with human brain microvascular endothelial cells: InlB-dependent invasion, long-term intracellular growth, and spread from macrophages to endothelial cells. **Infect. Immun.**, v.66, n.11, p.5260-5267, Nov. 1998.
47. HAAS, A.; DUMBESKY, M.; KREFT, J. Listeriolysin genes: complete sequence of ilo from *Listeria ivanovii* and of Iso from *Listeria seeligeri*. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1130, n.1, p.81-84, Feb. 1992.
48. HAMON, M.; BIERNE, H.; COSSART, P. *Listeria monocytogenes*: a multifaceted model. **Nat. Rev. Microbiol.**, v.4, n.6, p.423-434, June 2006.
49. HANAWA, T.; YAMAMOTO, T.; KAMIYA, S. *Listeria monocytogenes* can grow in macrophages without the aid of proteins induced by environmental stresses. **Infect. Immun.**, v.63, n.12, p.4595-4599, Dec. 1995.
50. HESS, J. et al. *Listeria monocytogenes* p60 supports host cell invasion by and in vivo survival of attenuated *Salmonella typhimurium*. **Infect. Immun.**, v.63, n.5, p.2047-2053, May 1995.
51. HOFER, E.; DONASCIMENTO, R. S.; DE OLIVEIRA, M. A. *Listeria monocytogenes* meningitis. Case reports in patients from the Federal District. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.31, n.2, p.173-177, Mar.-Apr. 1998.
52. HOFER, C. B.; MELLES, C. E. A.; HOFER, E. *Listeria monocytogenes* in renal transplant recipients. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.41, n.6, p.375-377, 1999.
53. HOFER, E.; REIS, C. M.; HOFER, C. B. Serovars of *Listeria monocytogenes* and related species isolated from human clinical specimens. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.39, n.1, p.32-37, Jan.-Feb. 2006.
54. IRETON, K.; COSSART, P. Interaction of invasive bacteria with host signaling pathways. **Curr. Opin. Cell Biol.**, v.10, n.2, p.276-283, Apr. 1998.
55. ISBERG, R. R.; TRAN VAN NHIEU, G. Binding and internalization of microorganisms by integrin receptors. **Trends Microbiol.**, v.2, n.1, p.10-14, Jan. 1994.
56. JACQUET, C. et al. A molecular marker for evaluating the pathogenic potential of foodborne *Listeria monocytogenes*. **J. Infect. Dis.**, v.189, n.11, p.2094-2100, June 2004.

57. JACQUET, C. et al. Expression of ActA, Ami, InlB, and listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of human and food origin. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.68, n.2, p.616-622, Feb. 2002.
58. JONQUIERES, R. et al. Interaction between the protein InlB of *Listeria monocytogenes* and lipoteichoic acid: a novel mechanism of protein association at the surface of gram-positive bacteria. **Mol. Microbiol.**, v.34, n.5, p.902-914, Dec. 1999.
59. KATHARIOU, S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. **J. Food Prot.**, v.65, n.11, p.1811-1829, Nov. 2002.
60. KOCKS, C. et al. *L. monocytogenes*-induced actin assembly requires the actA gene product, a surface protein. **Cell**, v.68, n.3, p.521-531, Feb. 1992.
61. KREFT, J. et al. Purification and characterization of cytolysins from *Listeria monocytogenes* serovar 4b and *Listeria ivanovii*. **Acta Microbiol. Hung.**, v.36, n.2-3, p.189-192, 1989.
62. KREFT, J.; VAZQUEZ-BOLAND, J. A. Regulation of virulence genes in *Listeria*. **Int. J. Med. Microbiol.**, v.291, n.2, p.145-157, May 2001.
63. KUHN, M.; GOEBEL, W. Molecular studies on the virulence of *Listeria monocytogenes*. **Genet. Eng. (N Y)**, v.17, p.31-51, 1995.
64. KUSSEL-ANDERMANN, P. et al. Vezatin, a novel transmembrane protein, bridges myosin VIIA to the cadherin-catenins complex. **Embo J.**, v.19, n.22, p.6020-6029, Nov. 2000.
65. LAMPIDIS, R. et al. The virulence regulator protein of *Listeria ivanovii* is highly homologous to PrfA from *Listeria monocytogenes* and both belong to the Crp-Fnr family of transcription regulators. **Mol. Microbiol.**, v.13, n.1, p.141-151, July 1994.
66. LANDGRAF, I. M. et al. Surto de meningite por *Listeria monocytogenes*. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.58, n.1, p.63-67, 1999.
67. LARSEN, C. N. et al. In vitro and in vivo invasiveness of different pulsed-field gel electrophoresis types of *Listeria monocytogenes*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.68, n.11, p.5698-5703, Nov. 2002.
68. LASA, I.; DEHOUX, P.; COSSART, P. Actin polymerization and bacterial movement. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1402, n.3, p.217-228, Apr. 1998.
69. LEMES-MARQUES, E. G.; CRUZ, C. D.; DESTRO, M. T. Pheno and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* clinical isolates from the southwestern region of the State of São Paulo, Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, v.38, n.2, p.287-292, 2007.
70. LETY, M. A. et al. Identification of a PEST-like motif in listeriolysin O required for phagosomal escape and for virulence in *Listeria monocytogenes*. **Mol. Microbiol.**, v.39, n.5, p.1124-1139, Mar. 2001.
71. LINGNAU, A. et al. Expression of the *Listeria monocytogenes* EGD inlA and inlB genes, whose products mediate bacterial entry into tissue culture cell lines, by PrfA-dependent and -independent mechanisms. **Infect. Immun.**, v.63, n.10, p.3896-3903, Oct. 1995.
72. MACHESKY, L. M.; GOULD, K. L. The Arp2/3 complex: a multifunctional actin organizer. **Curr. Opin. Cell Biol.**, v.11, n.1, p.117-121, Feb. 1999.
73. MARCO, A.J. et al. A microbiological, histopathological and immunohistological study of the intragastric inoculation of *Listeria monocytogenes* in mice. **J. Comp. Pathol.**, v.107, n.1, p.1-9, July 1992.
74. MARQUIS, H.; GOLDFINE, H.; PORTNOY, D. A. Proteolytic pathways of activation and degradation of a bacterial phospholipase C during intracellular infection by *Listeria monocytogenes*. **J. Cell. Biol.**, v.137, n.6, p.1381-1392, June 1997.
75. MCLAUCHLIN, J. Distribution of serovars of *Listeria monocytogenes* isolated from different categories of patients with listeriosis. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v.9, n.3, p.210-213, Mar. 1990.
76. MEAD, P. S. et al. Food-related illness and death in the United States. **Emerg. Infect. Dis.**, v.5, n.5, p.607-625, Sep.-Oct. 1999.
77. MENGAUD, J. et al. E-cadherin is the receptor for internalin, a surface protein required for entry of *L. monocytogenes* into epithelial cells. **Cell**, v.84, n.6, p.923-932, Mar. 1996.
78. MILOHANIC, E. et al. Transcriptome analysis of *Listeria monocytogenes* identifies three groups of genes differently regulated by PrfA. **Mol. Microbiol.**, v.47, n.6, p.1613-1625, 2003.
79. MOUNIER, J. et al. Intracellular and cell-to-cell spread of *Listeria monocytogenes* involves interaction with F-actin in the enterocytelike cell line Caco-2. **Infect. Immun.**, v.58, n.4, p.1048-1058, Apr. 1990.
80. MURRAY, E.G.D.; WEBB, R.A.; SWANN, M.B.R. A disease of rabbits characterised by a large mononuclear leukocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). **J. Pathol. Bacteriol.**, v.29, p.407-439, 1926.
81. MYERS, E. R.; DALLMIER, A. W.; MARTIN, S. E. Sodium chloride, potassium chloride, and virulence in *Listeria monocytogenes*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.59, n.7, p.2082-2086, July 1993.
82. NIEBUHR, K.C.T.; KOLLER, P.; WELHAND, J. Production of monoclonal antibodies to the phosphatidyl-choline-specific phospholipase C of *Listeria monocytogenes*, a virulence factor for this species. **Med. Microbiol. Lett.**, v.2, p.9-16, 1993.

83. OJENIYI, B. et al. *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products: epidemiological investigations in seven Danish abattoirs. **J. Appl. Bacteriol.**, v.80, n.4, p.395-401, Apr. 1996.
84. OKAMOTO, M.; NAKANE, A.; MINAGAWA, T. Host resistance to an intragastric infection with *Listeria monocytogenes* in mice depends on cellular immunity and intestinal bacterial flora. **Infect. Immun.**, v.62, n.8, p.3080-3085, Aug. 1994.
85. OLIER, M. et al. Assessment of the pathogenic potential of two *Listeria monocytogenes* human faecal carriage isolates. **Microbiology**, v.148, n.Pt 6, p.1855-1862, June 2002.
86. PARIDA, S. K. et al. Internalin B is essential for adhesion and mediates the invasion of *Listeria monocytogenes* into human endothelial cells. **Mol. Microbiol.**, v.28, n.1, p.81-93, Apr. 1998.
87. PIZZARRO-CERDA, J.; COSSART, P. Bacterial adhesion and entry into host cells. **Cell**, v.24, n.4, p.715-727, 2006.
88. PORTNOY, D. A. et al. Molecular determinants of *Listeria monocytogenes* pathogenesis. **Infect. Immun.**, v.60, n.4, p.1263-1267, Apr. 1992.
89. PORTNOY, D. A.; JACKS, P. S.; HINRICHS, D. J. Role of hemolysin for the intracellular growth of *Listeria monocytogenes*. **J. Exp. Med.**, v.167, n.4, p.1459-1471, Apr. 1988.
90. RAVENEAU, J. et al. Reduced virulence of a *Listeria monocytogenes* phospholipase-deficient mutant obtained by transposon insertion into the zinc metalloprotease gene. **Infect. Immun.**, v.60, n.3, p.916-921, Mar. 1992.
91. RIPIO, M. T. et al. A Gly145Ser substitution in the transcriptional activator PrfA causes constitutive overexpression of virulence factors in *Listeria monocytogenes*. **J. Bacteriol.**, v.179, n.5, p.1533-1540, Mar. 1997.
92. RIPIO, M. T. et al. Transcriptional activation of virulence genes in wild-type strains of *Listeria monocytogenes* in response to a change in the extracellular medium composition. **Res. Microbiol.**, v.147, n.5, p.371-384, June 1996.
93. ROBBINS, J. R. et al. *Listeria monocytogenes* exploits normal host cell processes to spread from cell to cell. **J. Cell. Biol.**, v.146, n.6, p.1333-1350, Sep. 1999.
94. ROBERTS, A. J.; WIEDMANN, M. Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. **Cell. Mol. Life Sci.**, v.60, n.5, p.904-918, May 2003.
95. ROCHE, S. M. et al. Assessment of the virulence of *Listeria monocytogenes*: agreement between a plaque-forming assay with HT-29 cells and infection of immunocompetent mice. **Int. J. Food Microbiol.**, v.68, n.1-2, p.33-44, Aug. 2001.
96. ROCOURT, J. et al. Cluster of listeriosis isolates with different serovar and phagovar characteristics. **Lancet**, v.2, n.8673, p.1217-1218, Nov. 1989.
97. ROCOURT, J.; COSSART, P. *Listeria monocytogenes*. In: DOYLE, P.M.; DEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. (Ed.) **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers**. 1<sup>st</sup> ed. USA: ASM, 1997. p. 337-352.
98. RYSER, E. T.; MARTH, E. H. Eds. **Listeria, listeriosis and food safety**. 3<sup>rd</sup> edition, Taylor and Francis, Boca Raton, Florida, 2006.
99. SALAMINA, G. et al. A foodborne outbreak of gastroenteritis involving *Listeria monocytogenes*. **Epidemiol. Infect.**, v.117, n.3, p.429-436, Dec. 1996.
100. SCHLECH, W. F. *Listeria* gastroenteritis-old syndrome, new pathogen. **N. Engl. J. Med.**, v.336, n.2, p.130-132, Jan. 1997.
101. SCHWAB, J.P.; EDELWEISS, M.I. A. Identification of *Listeria monocytogenes* in human placentas and abortion species through immunohistochemical technique. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v.39, n.2, p.111-114, 2003.
102. SCORTTI, M. et al. The PrfA virulence regulon. **Microbes Infect.**, v.9, n.10, Aug, p.1196-1207, 2007.
103. SHEEHAN, B. et al. Molecular and genetic determinants of the *Listeria monocytogenes* infectious process. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, v.192, p.187-216, 1994.
104. SHEN, Y. et al. InIB-dependent internalization of *Listeria* is mediated by the Met receptor tyrosine kinase. **Cell**, v.103, n.3, p.501-510, Oct. 2000.
105. SMITH, G. A. et al. The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. **Infect. Immun.**, v.63, n.11, p.4231-4237, Nov. 1995.
106. SMITH, G. A.; PORTNOY, D. A. How the *Listeria monocytogenes* ActA protein converts actin polymerization into a motile force. **Trends Microbiol.**, v.5, n.7, p.272-276, July 1997.
107. STEPHENS, J. C. et al. Effect of growth temperature on virulence of strains of *Listeria monocytogenes* in the mouse: evidence for a dose dependence. **J. Appl. Bacteriol.**, v.70, n.3, p.239-244, Mar. 1991.
108. SUAREZ, M. et al. A role for ActA in epithelial cell invasion by *Listeria monocytogenes*. **Cell. Microbiol.**, v.3, n.12, p.853-864, Dec. 2001.
109. SWANSON, J. A.; BAER, S. C. Phagocytosis by zippers and triggers. **Trends Cell. Biol.**, v.5, n.3, p.89-93, Mar. 1995.
110. TABOURET, M.; DE RYCKE, J.; DUBRAY, G. Analysis of surface proteins of *Listeria* in relation to species, serovar and pathogenicity. **J. Gen. Microbiol.**, v.138, n.4, p.743-753, Apr. 1992.

111. TAKEUCHI, K. et al. Comparison of *Listeria monocytogenes* virulence in a mouse model. **J. Food Prot.**, v.69, n.4, p.842-846, Apr. 2006.
112. THERIOT, J. A. The cell biology of infection by intracellular bacterial pathogens. **Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.**, v.11, p.213-239, 1995.
113. THERIOT, J. A. et al. The rate of actin-based motility of intracellular *Listeria monocytogenes* equals the rate of actin polymerization. **Nature**, v.357, n.6375, p.257-260, May 1992.
114. TILNEY, L. G.; PORTNOY, D. A. Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*. **J. Cell. Biol.**, v.109, n.4 Pt 1, p.1597-1608, Oct. 1989.
115. TILNEY, L. G.; TILNEY, M. S. The wily ways of a parasite: induction of actin assembly by *Listeria*. **Trends Microbiol.**, v.1, n.1, p.25-31, Apr. 1993.
116. VAZQUEZ-BOLAND, J. A. et al. Preliminary evidence that different domains are involved in cytolytic activity and receptor (cholesterol) binding in listeriolysin O, the *Listeria monocytogenes* thiol-activated toxin. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.53, n.1-2, p.95-99, Nov. 1989.
117. VAZQUEZ-BOLAND, J. A. et al. Pathogenicity islands and virulence evolution in *Listeria*. **Microbes Infect.**, v.3, n.7, p.571-584, June 2001.
118. VAZQUEZ-BOLAND, J. A.; et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.14, n.3, p.584-640, July 2001.
119. VEGA, Y. et al. Functional similarities between the *Listeria monocytogenes* virulence regulator PrfA and cyclic AMP receptor protein: the PrfA\* (Gly145Ser) mutation increases binding affinity for target DNA. **J. Bacteriol.**, v.180, n.24, p.6655-6660, Dec. 1998.
120. WIEDMANN, M. et al. A. Ribotypes and virulence gene polymorphisms suggest three distinct *Listeria monocytogenes* lineages with differences in pathogenic potential. **Infect. Immun.**, v.65, n.7, p.2707-2716, July 1997.