

STÉFANO CAON TALLAMINI

**COMPETIÇÃO E IMUNIDADE CRUZADA ENTRE ESPÉCIES DE *Listeria* spp. E  
TRATAMENTO COM EXTRATO DE *Hibiscus sabdariffa* EM CASOS DE  
LISTERIOSE INDUZIDA EM CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mere Erika Saito

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Márcia Regina Pfuetzenreiter

Lages - SC

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Tallamini, Stéfano Caon

Competição e Imunidade Cruzada entre Espécies de *Listeria* spp. e Tratamento com Extrato de *Hibiscus Sabdariffa* em Casos de Listeriose Induzida em Camundongos / Stéfano Caon Tallamini. -- 2019.

50 p.

Orientadora: Mere Erika Saito

Coorientadora: Márcia Regina Pfuetzenreiter

Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2019.

1. *Listeria monocytogenes*. 2. *Listeria innocua*. 3. Imunidade cruzada. 4. Competição. 5. *Hibiscus sabdariffa*. I. Saito, Mere Erika. II. Pfuetzenreiter, Márcia Regina. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

STÉFANO CAON TALLAMINI

**COMPETIÇÃO E IMUNIDADE CRUZADA ENTRE ESPÉCIES DE *Listeria* spp. E  
TRATAMENTO COM EXTRATO DE *Hibiscus sabdariffa* EM CASOS DE  
LISTERIOSE INDUZIDA EM CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade do  
Estado de Santa Catarina – UDESC, como requisito parcial para a obtenção do título de  
Doutor em Ciência Animal

**Banca Examinadora:**

Orientadora: Mere Erika Saito  
Profª. Drª. Mere Erika Saito  
Universidade do Estado de Santa Catarina-CAV/UDESC

Membro: Sandra Davi Traverso  
Profª. Drª. Sandra Davi Traverso  
Universidade do Estado de Santa Catarina-CAV/UDESC

Membro: Cláudia Pies Biffi  
Profª. Drª. Cláudia Pies Biffi  
Universidade do Estado de Santa Catarina-CAV/UDESC

Membro: Caroline Peters Pigatto De Nardi  
Profª. Drª. Caroline Peters Pigatto De Nardi  
Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de São Paulo - IFSP

Membro: Fernanda Danielle Melo  
Drª. Fernanda Danielle Melo  
Empresa DiagLabor - Serviços Laboratoriais LTDA

Lages, 15 de Julho de 2019.

Dedico este trabalho a minha família.

## Agradecimentos

Agradeço a minha família, minha vó Shirlei Cirimbelli Caon, minha mãe, Sirlane Caon Tallamini, e ao meu pai Paulo Flávio Nery Tallamini, por todo apoio fornecido durante esta etapa da minha vida. Obrigado por todo afeto e conselhos que sempre me deram, amo vocês! Agradeço ainda a minha madrinha Débora Pietsch por me receber sempre em sua casa e me incentivar a nunca desistir.

Agradeço a minha orientadora, professora Mere Erika Saito e minha co-orientadora, professora Márcia Regina Pfuetzenreiter pela oportunidade de tornarem este sonho possível, por todos os conselhos, conforto, paciência e puxões de orelha quando foram necessários. Vocês contribuíram não só com minha evolução como profissional e pesquisador, mas ainda com minha evolução pessoal. Obrigado por tornarem realidade a execução deste projeto!

Aos meus amigos Maysa Garlet Nunes Xavier, Carlos Czapak Kroetz e Alessandra Snak agradeço por todo auxílio durante as madrugadas da execução do projeto, além de toda amizade e companheirismo que vou levar para o resto da vida!

Ainda agradeço à Julieta Volpato, Ana Cristina Dalmina, Carla Dezan de Lorenzi Cancelier e Mariângela Lovatel por toda ajuda e acolhimento que me foi dado ao entrar no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do CAV-UDESC.

Agradeço ao professor José Cristani por permitir que este projeto acontecesse, por meio do uso do laboratório de Patologia Aviária, assim como agradeço à professora Cláudia Pies Biffi por sempre estar prestativa quando necessitei de auxílio em alguma técnica. Também agradeço ao professor Aury Nunes de Moraes por toda disponibilidade e pelo auxílio na condução da anestesia dos animais. Ainda dou meus agradecimentos à professora Amanda Leite Bastos pela disponibilização do biotério no decorrer do experimento. Agradeço ainda ao professor Guiomar Pedro Bergmann pelo auxílio na parte microbiológica deste trabalho. Agradeço ainda a Fernanda Danielle Melo por toda inspiração que me foi dada.

Meu muito obrigado para minha amiga Marcella Nunes Pereira, que mesmo distante, sempre esteve presente com seu carinho e seus inestimáveis conselhos! Agradeço também a minha amiga Francine Bragagnolo Stefen, pela sua amizade e apoio dado durante este projeto.

Agradeço a Universidade do Estado de Santa Catarina por toda estrutura fornecida para a realização deste projeto. E para finalizar, agradeço a todos os camundongos que participaram deste estudo, contribuindo inestimavelmente com a evolução da ciência!

Muito obrigado!

## RESUMO

TALLAMINI, S. C. **Competição e Imunidade Cruzada entre Espécies de *Listeria* spp. e Tratamento com Extrato de *Hibiscus sabdariffa* em Casos de Listeriose Induzida em Camundongos**, 2019. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2019.

A listeriose é uma doença preocupante, não só pelo quadro clínico, mas também pelo custo médico anual estimado, cerca de mais de 2,8 bilhões de dólares (USDA, 2013), atingindo aproximadamente 1.600 pessoas por ano, vindas 260 a óbito (CDC, 2018). Em posse destes dados, o presente estudo teve como objetivo avaliar a competição e imunidade cruzada das espécies de *Listeria* spp. e a atuação de extrato de hibisco como forma de tratamento de listeriose em casos de septicemia induzida em camundongos. A imunidade cruzada foi verificada com o uso de 20 camundongos heterogêneos, fêmeas, da linhagem Swiss com 30 dias de idade, frente à *Listeria* spp., já a competição entre *Listeria monocytogenes* e *Listeria innocua*, contaram com o uso de cinco camundongos. Ainda foram utilizados mais 30 camundongos para avaliação da atuação de extrato cetônico de *Hibiscus sabdariffa* como tratamento em casos de listeriose. Foi possível verificar por meio dos testes *in vitro* e *in vivo* que existe competição entre *Listeria monocytogenes* e *Listeria innocua*, com a sobrevivência de 80% (4/5) e melhora clínica dos animais. Houve imunidade cruzada *in vitro* entre as espécies testadas do gênero *Listeria* spp. O teste *in vivo* mostrou imunidade protetora entre os sorotipos diferentes testados de *Listeria monocytogenes*, alguns com uma imunidade mais efetiva (1/2a e 1/2b) que outros sorotipos testados (1/2c e 4b), uma vez que os últimos apresentaram alguma sintomatologia clínica e os primeiros não. O extrato cetônico de hibisco teve atividade apenas *in vitro*, pois *in vivo* se mostrou ineficaz no controle da listeriose e redução da carga microbiana.

Palavras chave: *Listeria monocytogenes*, imunidade cruzada, competição, *Hibiscus sabdariffa*, *Listeria innocua*.

## ABSTRACT

TALLAMINI, S. C. **Competition and Cross-Immunity between Species of *Listeria* spp. and Treatment with *Hibiscus sabdariffa* Extract in Cases of Listeriosis Induced in Mice.** 2019. Thesis (Ph.D. in Animal Science) – University of Santa Catarina. Postgraduate Program in Animal Science, Lages, 2019.

Listeriosis is a troubling disease, not only due to the clinical signs, but also to the estimated annual medical cost of approximately US\$ 2.8 billion (USDA, 2013), reaching approximately 1.600 people per year, with a death toll of 260 (CDC, 2018). The objective of this study was to evaluate the competition and cross-immunity of *Listeria* spp. and the performance of hibiscus extract as a form of treatment of listeriosis in cases of induced septicemia in mice.

Cross-immunity was verified with the use of 20 Swiss line heterogeneous female mice of the 30 days old against *Listeria* spp.. The competition between *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* counted on the use of five mice. A further 30 mice were also used to evaluate the performance of ketone extract of *Hibiscus sabdariffa* as treatment in cases of listeriosis.

It was possible to verify by *in vitro* and *in vivo* tests that there is competition between *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* with survival of 80% (4/5) and clinical improvement of the animals. There was *in vitro* cross-immunity among the tested species of the genus *Listeria*. *In vivo* test showed protective immunity between the different tested serotypes of *Listeria monocytogenes*, some with more effective immunity (1/2a and 1/2b) than other serotypes tested (1/2c and 4b), since the latter demonstrated some clinical symptoms and the first do not. The ketone extract of hibiscus had activity only *in vitro*, once *in vivo* was ineffective in the control of listeriosis and not reduction of the microbial load.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, cross-immunity, competition; *Hibiscus sabdariffa*; *Listeria innocua*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Teste de algutinação rápida positiva (formação de grumos) em lâmina da espécie de *Listeria grayi* à *Listeria innocua* e aos sorotipos 1/2a, 1/2b, 1/2c e 4b de *Listeria monocytogenes*..... 31
- Figura 2** - Animal inoculado com sorotipo 1/2c (à esquerda) de *Listeria monocytogenes* apresentando pelos discretamente arrepiados. Animal inoculado com sorotipo 4b (à direita) de *Listeria monocytogenes* apresentando conjuntivite..... 32
- Figura 3** - Halos de inibição do crescimento de *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 com o tamanho das gotas sobrepostas no ágar Mueller Hinton de extratos de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) em diferentes solventes..... 33
- Figura 4** - Contagem de *Listeria monocytogenes* em ágar ALOA de amostra de sangue de um camundongo inoculado com *Listeria monocytogenes* e tratado com extrato cetônico de hibisco (LMH)..... 35



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Teste de aglutinação rápida em lâmina das espécies de <i>Listeria</i> spp. frente aos sorotipos 1/2a, 1/2b, 1/2c e 4b de <i>Listeria monocytogenes</i> ( <i>L.m.</i> ) e <i>Listeria innocua</i> ( <i>L.i.</i> ).....	31
<b>Tabela 2 -</b>	Diferença do tamanho dos halos de inibição do crescimento de <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111 com o tamanho das gotas sobrepostas no ágar Mueller Hinton de extratos de hibisco ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ) em diferentes solventes.....	33
<b>Tabela 3 -</b>	Média do peso (grama) de cinco camundongos inoculados e tratados com solução fisiológica (SFSF) e de cinco camundongos inoculados com solução fisiológica e tratados com extrato cetônico de hibisco (SFH).....	34
<b>Tabela 4 -</b>	Valores de eritrócitos e leucócitos de camundongos inoculados e tratados com solução fisiológica (SFSF), inoculados com solução fisiológica e tratados com hibisco (SFH), inoculados com solução fisiológica e tratados com ampicilina (SFAMP) e inoculados com <i>Listeria monocytogenes</i> e tratados com ampicilina (LMAMP), após sete dias de tratamento.....	34
<b>Tabela 5 -</b>	Valores de contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> em sangue e baço de camundongos inoculados e tratados com solução fisiológica (SFSF), inoculados com solução fisiológica e tratados com hibisco (SFH), inoculados com solução fisiológica e tratados com ampicilina (SFAMP) e inoculados com <i>Listeria monocytogenes</i> e tratados com ampicilina (LMAMP), inoculados com <i>Listeria monocytogenes</i> e tratados com extrato de hibisco (LMH) e inoculados com <i>Listeria monocytogenes</i> e tratados com solução fisiológica (LMSF), após sete dias de tratamento.....	35
<b>Tabela 6 -</b>	Achados de necrópsia de camundongos inoculados e tratados com solução fisiológica (SFSF), inoculados com solução fisiológica e tratados com hibisco (SFH), inoculados com solução fisiológica e tratados com ampicilina (SFAMP) e inoculados com <i>Listeria monocytogenes</i> e tratados com ampicilina (LMAMP), inoculados com <i>Listeria monocytogenes</i> e tratados com extrato de hibisco (LMH) e inoculados com <i>Listeria monocytogenes</i> e tratados com solução fisiológica (LMSF), após sete dias de tratamento.....	37

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> -	Multiplicação de <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Listeria innocua in vitro</i> a 24°C...	29
<b>Gráfico 2</b> -	Multiplicação de <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Listeria innocua in vitro</i> a 37°C...	30
<b>Gráfico 3</b> -	Multiplicação de <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Listeria innocua in vitro</i> a 4°C.....	30
<b>Gráfico 4</b> -	Perda de peso dos animais tratados com solução fisiológica (SFSF) e dos tratados com extrato cetônico de hibisco (SFH) durante sete dias pós-inoculação.....	34

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>14</b>
2.1 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	14
2.1.1 Sorotipos.....	14
2.1.2 Dose Infectante.....	15
2.1.3 Patogenia.....	15
2.1.4 Imunologia.....	17
2.1.5 Manifestações clínicas.....	17
2.1.6 Alimentos Relacionados.....	17
2.1.7 Saúde Pública.....	18
2.1.8 Sensibilidade antimicrobiana.....	18
2.2 <i>Hibiscus sabdarifa</i> .....	18
2.2.1 Características da Planta.....	18
2.2.2 Informação Nutricional.....	19
2.2.3 Constituintes Bioativos.....	19
2.2.4 Propriedades Antimicrobianas.....	20
2.2.5 Toxicidade.....	21
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>22</b>
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2 Objetivos Específicos.....	22
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
4.1 COMPETIÇÃO ENTRE ESPÉCIES DE <i>Listeria</i> spp.....	23
4.2 IMUNOLOGIA DE CAMUNDONGOS INOCULADOS COM <i>Listeria</i> spp.....	24
4.2.1 Divisão dos Animais em Grupos.....	24
4.2.2 Pesquisa de Anticorpos contra <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Listeria innocua</i> .....	25
4.3 INDUÇÃO E TRATAMENTO DE LISTERIOSE EM CAMUNDONGOS.....	25
4.3.1 Preparo do Extrato de Hibisco.....	25
4.3.2 Verificação do Potencial Inibitório do Extrato de Hibisco.....	26
4.3.3 Divisão dos Animais em Grupos.....	26
4.3.4 Indução de Septicemia em Camundongos e Tratamento.....	27

4.3.5	Condução de Eutanásia nos Camundongos.....	27
4.3.6	Contagem de Eritrócitos e Leucócitos.....	27
4.3.7	Contagem de <i>Listeria</i> spp.....	28
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>29</b>
5.1	COMPETIÇÃO ENTRE ESPÉCIES DE <i>Listeria</i> spp.....	29
5.2	IMUNOLOGIA DE CAMUNDONGOS INOCULADOS COM <i>Listeria</i> spp.....	30
5.3	INDUÇÃO E TRATAMENTO DE LISTERIOSE EM CAMUNDONGOS.....	32
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
6.1	COMPETIÇÃO ENTRE ESPÉCIES DE <i>Listeria</i> spp.....	38
6.2	IMUNOLOGIA DE CAMUNDONGOS INOCULADOS COM <i>Listeria</i> spp.....	39
6.3	INDUÇÃO E TRATAMENTO DE LISTERIOSE EM CAMUNDONGOS.....	39
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>42</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>43</b>

## REFERÊNCIAS

- ADIGUN, M. O.; OGUNDIPE, O. D.; ANETOR, J. I.; ODETUNDE, A. O. Dose-dependent changes in some haematological parameters during short-term administration of *Hibiscus sabdariffa* calyx aqueous extract (Zobo) in Wistar albino rats. **African Journal of Medicine and Medical Sciences**, v. 35, n.1, p.73-77, 2006.
- ALARCON-AGUILAR, F. J.; ZAMILPA, A.; PEREZ-GARCIA, M. D.; ALMANZA-PEREZ, J. C.; ROMERO-NUNEZ, E.; CAMPOS-SEPULVEDA, E. A. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.114, n. 1, p. 66-71, 2007.
- ANDRADE, R. R. de; SILVA, P. H. C. da; SOUZA, N. R.; MURATA, L. S.; GONÇALVES, V. S. P.; SANTANA, A. P. Ocorrência e diferenciação de espécies de *Listeria* spp. em salsichas tipo *hot dog* a granel e em amostras de carne moída bovina comercializadas no Distrito Federal. **Revista Ciência Rural**, v. 44, n. 1, 2014.
- AOSHI, T.; CARRERO, J.A.; KONJUFCA, V.; KOIDE, Y.; UNANUE, E. R.; MILLER, M. J. The cellular niche of *Listeria monocytogenes* infection changes rapidly in the spleen. **European Journal of Immunology**, v. 39, p. 417-425, 2009.
- BARBOSA, W. B., CABEDO, L., WEDERQUIST, H. J., SOFOS, J. N., SCHMIDT, G. R. Growth variations among species and strains of *Listeria monocytogenes*. **Journal of food protection**, v. 57, p. 765-769, 1994.
- BENECH, R.O.; KHEADR, E.E.; LRIDI, R.; LACROIX, C.; FLISS, I. Inhibition of *Listeria innocua* in cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or by in situ production in mixed culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3683-3690, 2002.
- BERTSH, D.; RAU, J.; EUGSTER, M. R.; HAUG, M. C.; LAWSON P. A., LACROIX, C.; MEILE, L. *Listeria fleischmannii* sp. nov., isolated from cheese. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63. p.526-532, 2013.
- BESSE, N.G.; BARRE, L.; BUHARIWALLA, C.; VIGNAUD, M. L.; KHAMISSI, E.; DECOURSEULLES, E.; NIRSIMLOO, M.; CHELLY, M.; KALMOKOFF, M. The overgrowth of *Listeria monocytogenes* by other *Listeria* spp. in food samples undergoing enrichment cultivation has a nutritional basis. **International Journal of Food Microbiology**. v.136, p. 345-351, 2010.
- BRAGA, V.; VÁZQUEZ, S.; VICO, V.; PASTORINO, V.; MOTAB, M. I.; LEGNANI, M.; SCHELOTTO, F.; LANCIBIDAD, G.; VARELA, G. Prevalence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from foods in Montevideo-Uruguay. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 4, p.689-694, 2017.
- BRANCO, M. A. de A. C.; FIGUEIREDO, E. A. T. de; BORGES, M. de F.; SILVA, M. C. D. da; DESTRO, M. T. Incidência de *Listeria monocytogenes* em queijo de coalho refrigerado produzido industrialmente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 2, 2003.

BUSCH, D. H.; VIJH, S.; PAMER, E. G. **Current protocols in immunology**, cap. 19: animal models for infectious diseases, 2000.

CARPENTIER, B.; CERF, O. Review – persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, p. 1-8, 2011.

CARVAJAL-ZARRABAL, O.; HAYWARD-JONES, P. M.; ORTA-FLORES, Z.; NOLASCO-HIPOLITO, C.; BARRADAS-DERMITZ, D. M.; AGUILAR-USCANGA, M. G. Effect of *Hibiscus sabdariffa* L. dried calyx ethanol extract on fat absorption–excretion, and body weight implication in rats. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, p. 1-5, 2009.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. 2018. Disponível em: [<https://www.cdc.gov/listeria/index.html>] Acesso em 22 fev. 2018.

CHAKRABORTY, T.; EBEL, F.; WEHLAND, J.; DUFRENNE, J.; NOTERMANS, S. Naturally occurring virulence-attenuated isolates of *Listeria monocytogenes* capable of inducing long term protection against infection by virulent strains of homologous and heterologous serotypes. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 10, n.1, 1994.

CHAO, C. Y.; YIN, M. C. Antibacterial Effects of roselle calyx extracts and protocatechuic acid in ground beef and apple juice. **Foodborne Pathogens and Diseases**, v. 6, n. 2, p. 201-206, 2009.

CHERRY, J. P. Improving the safety of fresh produce with antimicrobials. **Food technology**, v. 53, p. 54-59, 1999.

CHEWONARIN, T.; KINOUCI, T.; KATAOKA, K. Effects of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn), a Thai medicinal plant, on the mutagenicity of various known mutagens in *Salmonella* Thyphimurium and formation of aberrant crypt foci induced by the colon carcinogens azoxymethane and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol[4,5-b] in F344 rats. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 37, p. 591-601, 1999.

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G. Are tannins a double-edged sword in biology and health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, p. 168-175, 1998.

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA. 2018. Disponível em: [[http://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/resolucoes\\_normativas/Resolucao-Normativa-n-37-Diretriz-da-Pratica-de-Eutanasia\\_site-concea.pdf](http://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/resolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-n-37-Diretriz-da-Pratica-de-Eutanasia_site-concea.pdf)] Acesso em 26 fev. 2018.

CONLAN, J. W. Early pathogenesis of *Listeria monocytogenes* infection in the mouse spleen. **Journal of Medical Microbiology**, v.44, p.295-302, 1996.

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.4, p. 564-582, 1999.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Review antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, p. 343-356, 2005.

DA-COSTA-ROCHA, I.; BONNLAENDER, B.; SIEVERS, H.; PISCHEL, I.; HEINRICH, M. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. **Food Chemistry**, v. 156, p. 424-443, 2014.

DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 1-8, 2011.

DEN BAKKER, H. C.; WARCHOCKI, S.; WRIGHT, E. M.; ALLRED, A. F.; AHLSTROM, C.; MANUEL, C. S.; STASIEWICZ, M. J.; BURREL, A.; ROOF, S.; STRAWN, L. K.; FORTES, E.; NIGHTINGALE, K. K.; KEPHART, D.; WIEDMANN, M. *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. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, p. 1882-1889, 2014.

DICKEL, M. L.; RATES, S. M.; RITTER, M. R. (2007). Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, **South Brazil**. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 60-71, 2007.

DUKE, J. A. *Hibiscus sabdariffa* L: handbook of energy crops. 1983. Disponível em: [[http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke\\_energy/Hibiscus\\_sabdariffa.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Hibiscus_sabdariffa.html)] Acesso em 08 nov. 2017.

DYKES, G. A. Influence of the adaptation of *Listeria monocytogenes* populations to structured or homogeneous habitats on subsequent growth on chilled processed meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 85, p. 301-306, 2003.

FALADE, O. S.; OTEMUYIWA, I. O.; OLADIPO, A.; OYEDAPO, O. O.; AKINPELU, B. A.; ADEWUSI, S. R. The chemical composition and membrane stability activity of some herbs used in local therapy for anemia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102(1), p. 15-22, 2005.

FARBER, J. M., PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. **Microbiology Reviews**, v. 55, p. 476-511, 1991.

**FARMACOPEIA PORTUGUESA VII**. Lisboa: INFARMED, 2002.

FAROMBI, E. O.; FAKOYA, A. Free radical scavenging and antigenotoxic activities of natural phenolic compounds in dried flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 49, p. 1120-1128, 2005.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FOWLER, T. M.; MACGOWAN, A. P.; POSTETHWAITE, R. Virulence of *Listeria* spp.: Course of infection in resistant and susceptible mice. **Journal of Medical Microbiology**, v. 27, p.131-140, 1988.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRIEDMAN, M.; ZHU, L.; FEINSTEIN, Y.; RAVISHANKAR, S. Carvacrol facilitates heat-induced inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and inhibits formation of heterocyclic amines in grilled ground beef patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1848-1853, 2009.

GASANOV, U.; HUGHES, D.; HANSBRO, P. M. Methods for isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, p. 851 - 875, 2005.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. 2008. **Hygiene and sanitary surveillance of food**. 3 ed. São Paulo: Manole, 2008.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v. 51, p. 72-75, 1997.

GUPTA, S.; RAVISHANKAR, S. A comparison of the antimicrobial activity of garlic, ginger, carrot and turmeric aqueous extracts against *Escherichia coli* O157:H7 in laboratory buffer and ground beef. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 2, p. 330-340, 2005.

HALTER, E. L.; NEUHAUS, K.; SCHERER, S. *Listeria weihenstephanensis* sp. nov., isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, p. 641-647, 2013.

HANSAWASDI, C.; KAWABATA, J.; KASAI, T. Alpha-amylase inhibitors from roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) tea. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 65, n. 5, p. 1041-1043, 2000.

HANSAWASDI, C.; KAWABATA, J.; KASAI, T. Hibiscus acid as an inhibitor of starch digestion in the Caco-2 cell model system. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 65, n. 9, p. 2087-2089, 2001

HEIR, E.; MØRETRØ, T.; SIMENSEN, A., LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes* strains show large variations in competitive growth in mixed culture biofilms and suspensions with bacteria from food processing environments. **International Journal of Food Microbiology**, v. 275, p. 46-55, 2018.

HERNÁNDEZ, D.; CARDELLE, E.; ZÁRATE, V. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF 711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF 711. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, n. 6, p. 77-84, 2005.

HOELZER, K.; POUILLOT, R.; DENNIS, S.. Animal models of listeriosis: a comparative review of the current state of the art and lessons learned. **Veterinary Research**, v.43, p. 1-27, 2012.



ISMAIL, A.; IKRAM, E. H. K.; NAZRI, H. S. M. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds nutritional composition protein quality and health benefits. **Food**, v.2, n.1, p. 1-16, 2008.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 417 p., 1993.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JEMMI, T., STEPHAN, R. *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. **Revue Scientifique et Technique**, v.25, n. 2, p. 571-580, 2006.

KATHARIOU, S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 11, p. 1811-1829, 2002.

KIM, J. K.; SO, H.; YOUN, M. J.; KIM, H. J.; KIM, Y.; PARK, C. *Hibiscus sabdariffa* L. water extract inhibits the adipocyte differentiation through the PI3-K and MAPK pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114(2), p. 260-267, 2007.

KOENIG, C. H. W. V.; HEYMER, B.; HOF, H.; FINGER, H. Course of Infection and Development of Immunity in Experimental Infection of Mice with *Listeria* Serotypest. **Infection and Immunity**, p. 1170-1177, 1983.

LIU, K. S., TSAO, S. M., YIN, M. C. In vitro antibacterial activity of roselle calyx and protocatechuic acid. **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 942-945, 2005.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000.

MCKAY, D. Can hibiscus tea lower blood pressure? **AfroFood Industry Hi-Tech**, v. 20, n.6, p. 40-42, 2009.

MERRICK, J. C.; EDELSON, B.T.; BHARDWAJ, V.; SWANSON, P. E.; UNANUE, E. R. Lymphocyte apoptosis during early phase of *Listeria* infection in mice. **The American Journal of Pathology**, v.151, p. 785-792, 1997.

MILA, I.; SCALBERT, A.; EXPERT, D. Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. **Phytochemistry**, v. 42, n.6, p. 1551-1555, 1996.

MORELO, D. F. C. **Imunossupresão induzida por sepse é dependente da idade**. 2015. 160 p. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015. Disponível em:  
[[http://iba.fmrp.usp.br/sites/default/files/defesas/dissertacoes/dissertacao\\_david-f\\_colon.pdf](http://iba.fmrp.usp.br/sites/default/files/defesas/dissertacoes/dissertacao_david-f_colon.pdf)] Acesso em 08 fev. 2018.

MÜLLER, B.; KRAUS, J.; FRANZ, G. Polysaccharides from *Hibiscus sabdariffa* structural investigation and biological activity. **Planta Medica**, v. 7, 1989.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 7 ed. Washington: ASM Press, 1999.

- OLALEYE, M. T. Citotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 1, n. 1, p. 9-13, 2007.
- ONYENEKWE, P. C.; AJANI, E. O.; AMEH, D. A.; GAMANIE, K. S. Antihypertensive effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx infusion in spontaneously hypertensive rats and comparison of its toxicology with that in Wistar rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 17, p. 199-206, 1999.
- PETTI, S.; SCULLY, C. Polyphenols, oral health and disease: a review. **Journal of Dentistry**, v. 37, p. 413-423, 2003.
- PREUSS, H. G.; ECHARD, B.; BAGCHI, D.; STOHS, S. Inhibition by natural dietary substances of gastrointestinal absorption of starch and sucrose in rats and pigs: acute studies. **International Journal of Medical Sciences**, v. 4, n. 4, p. 196-202, 2007.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**, Porto Alegre: Artemed, 2005.
- RAUHA, J.; REMESA, S.; HEINONENB, M.; HOPIAB, A.; KAUKOUNENB, M.; PIHLAJAC, T. K.; VUORELA, H.; VUORELA, P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v.56, p.3-12, 2000.
- RAVISHANKAR, S.; ZHU, L.; LAE, B.; JOENS, L.; FRIEDMAN, M. Plant-derived compounds inactivate antibiotic-resistant *Campylobacter jejuni* strains. **Journal of Food Protection**, v. 71, p. 1145-1149, 2008.
- RAVISHANKAR, S.; ZHU, L.; OLSEN, C. W.; MCHUGH, T. H.; FRIEDMAN, M. Edible apple film wraps containing plant antimicrobial inactive food borne pathogens on meat and poultry products. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 8, p. 440-445, 2009.
- RAVISHANKAR, S.; ZHU, L.; REYNA-GANADOS, J.; LAW, B.; JOENS, L.; FRIEDMAN, M. Carvacrol and cinnamaldehyde inactivate antibiotic-resistant *Salmonella enterica* in buffer on celery and oysters. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 2, p. 234-240, 2010.
- RHOADES, J. R., DUFFY, G., KOUTSOUMANIS, K. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. **Food Microbiology**, v. 26, p. 357-376, 2009.
- RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 80-84, 2005.
- ROCOURT, J., BENEMBAREK, P., TOYOFUKU, H., SCHLUNDT, J. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: the FAO/WHO approach. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 35, p. 263-267, 2003.
- SAKATE, R. I.; ARAGON, L. C.; RAGHIANTE, F.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in pré-sliced vacuum-

package salami in São Paulo-Brazil. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 53, n. 2, p. 184-187, 2003.

SALLEH, M. N.; RUNNIE, I.; ROACH, P. D.; MOHAMED, S.; ABEYWARDENA, M. Y. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation and up-regulation of low-density lipoprotein receptor in HepG2 cells by tropical plant extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3693-3697, 2002.

SÁYAGO-AYERDI, S. G.; ARRANZ, S.; SERRANO, J. Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L) beverage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7886-7890, 2007.

SELBY, T. L.; BERZINS, A.; GERRAD, D. E.; CORVALAN, C. M.; GRANT, A. L.; LINTON, R. H. Microbial heat resistance of *Listeria monocytogenes* and the impact on ready-to-eat meat quality after post-package pasteurization. **Meat Science**, v. 74, p. 425-434, 2006.

SHU-MIN, Y.; JUN-LI, Z.; LING-LIN, F.; JIAN-RONG, L. Tea polyphenols inhibit *Pseudomonas aeruginosa* through damage to the cell membrane. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, p. 111-117, 2010.

SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimento e água**. São Paulo: Varela, 2010.

SIQUEIRA, C. F. Q.; CABRAL, D. L. V.; SOBRINHO, T. J. S. P.; AMORIM, E. L. C.; MELO, J. G.; ARAÚJO, T. A. S.; ALBUQUERQUE, U. P. levels of tannins and flavonoids in medicinal plants: evaluating bioprospecting strategies. **Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 7, 2006.

TAMBURRO, M.; RIPABELLI, G.; FANELLI, I.; GRASSO, G. M.; SAMMARCO, M. L. Typing of *Listeria monocytogenes* strains isolated in Italy by *inlA* gene characterization and evaluation of a new cost-effective approach to antisera selection for serotyping. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, p. 1602-1611, 2010.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

TOMPKIN, R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 709-725, 2002.

TRANQUILLI, W. J.; THURMAN, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb Jones: anestesiologia e analgesia veterinária**. 4 ed. São Paulo: Roca, 2014

UHART, M.; MARKS, N.; RAVISHANKAR, S. Effect of spices on growth and survival of *Salmonella* Typhimurium DT 104 in ground beef stored at 4°C and 8°C. **Journal of Food Safety**, v. 26, p. 115-125, 2006.

USDA - United States Department of Agriculture. 2013. Disponível em: [https://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses] Acesso em 22 fev. 2018.

VALLIM, D. C., HOFER, C. B., LISBÔA, R. C., BARBOSA, A. V., RUSAK, L. A., REIS, C. M. F., HOFER, E. 2015. 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**, 2015.

WANG, C. J.; WANG, J. M.; LIN, W. L.; CHU, C. Y.; CHOU, F. P.; TSENG, T. H. Protective effect of *Hibiscus* anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n.5, p. 411-416, 2000.

WELLER, D.; ANDRUS, A.; WIEDMANN, M.; DEN BAKKER, H.C. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyor-kensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 65, p. 286-292, 2015.

WILLIAMSON, E. M.; DRIVER, S. B.; BAXTER, K. **Stockley's herbal medicines interactions**: a guide to the interactions of herbal medicines, dietary supplements and nutraceuticals with conventional medicines. London: Pharmaceutical Press, 2013

YOKOYAMA, E.; MARUYAMA, S.; KATSUBE, Y. Production of bacteriocin-like-substance by *Listeria innocua* against *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, v.40, p. 133-137, 1998.

ZAFFARI, C. B.; MELLO, J. F.; COSTA, M. da. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 862 - 867, 2007.