



***Listeria* spp. em queijos Minas Frescal e avaliação das condições higiênicossanitárias de produção e comercialização em Viçosa, MG, Brasil**

Listeria spp. in Minas Frescal cheeses and assesment of hygienic-sanitary conditions of production and commercialization in Viçosa, MG, Brazil

RIALA6/1774

Mariana Barboza VINHA^{1*}, Cláudia Lúcia de Oliveira PINTO², Maria Cristina Dantas VANETTI³, José Benício Paes CHAVES⁴

*Endereço para correspondência: ¹Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, Rua Afonso Sarlo, 160, Bento Ferreira, Vitória, ES, CEP: 29052-010. E-mail: mariana_vinha@hotmail.com

²Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Região Sudeste, Viçosa, MG, Brasil

³Departamento de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

⁴Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

Recebido: 21.06.2017 - Aceito para publicação: 27.05.2019

RESUMO

A produção de queijo Minas Frescal em propriedades rurais é uma atividade econômica importante em Minas Gerais. Entretanto, a presença de micro-organismos patogênicos compromete a segurança desses produtos, coloca a saúde pública em risco e ameaça esta atividade. Neste estudo, objetivou-se avaliar a ocorrência de *Listeria* spp. em queijos Minas Frescal, as condições de produção e comercialização desses produtos e relacioná-las à presença desses micro-organismos. Foram coletadas 161 amostras, 81 em agroindústrias e 80 em seus pontos de venda. Foram utilizados métodos analíticos oficiais estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para detecção e diferenciação das espécies de *Listeria*. A adoção das boas práticas durante a fabricação e a comercialização foi mensurada mediante avaliação *in loco* direcionada por listas de verificação pré-elaboradas. Constatou-se *Listeria* spp. em 14 amostras (8,7%) provenientes de oito das doze agroindústrias estudadas, quatro inspecionadas e quatro não inspecionadas. *L. monocytogenes* foi isolada em duas amostras. O percentual de atendimento às boas práticas de fabricação variou entre 28,3% e 51,1% e diversas irregularidades foram observadas durante a comercialização dos queijos. Os resultados indicam risco potencial do consumo deste tipo de produto e a necessidade de adoção das boas práticas de fabricação e comercialização para prevenir contaminações.

Palavras-chave. inspeção de alimentos, queijo, agroindústria, pasteurização, *Listeria*.

ABSTRACT

The production of Minas Frescal cheese on rural properties is an important economic activity in Minas Gerais, Brazil. However, the presence of pathogenic microorganisms compromises the safety of these products, puts public health at risk and threatens this activity. The purpose of this paper was to evaluate the conditions of production and commercialization of the Minas Frescal cheese produced in family agroindustries of Viçosa, MG and to connect them to presence of *Listeria* spp. A total of 161 samples of Minas Frescal cheese were collected, 81 which were in agroindustries and 80 in their respective market. Were adopted official analytical methods established by the Agriculture Ministry for the detection and differentiation of *Listeria* spp. The conditions of manufacture and commercialization were evaluated through observations directed by pre-elaborated checklists. *Listeria* spp. was detected in 14 samples (8.7%) from eight different establishment, four inspected and four non-inspected. *L. monocytogenes* was isolated in two samples. The compliance with good manufacturing practices ranged from 28.3% to 51.1% and several irregularities were observed during the marketing of the cheeses. These results indicate the potential risk of consumption of this product and the need to prevent contamination of this product in manufacturing and marketing stages.

Keywords. food inspection, cheese, agroindustry, pasteurization, *Listeria*.

INTRODUÇÃO

A fabricação do queijo Minas Frescal em pequenas queijarias localizadas em propriedades rurais é muito comum no Brasil, em especial no Estado de Minas Gerais. Esta atividade caracteriza-se pela produção em pequena escala, uso de técnicas simples e baixa capacidade tecnológica, e tem como objetivo agregar valor à produção agropecuária desenvolvida na propriedade rural. As pequenas queijarias contribuem para a construção de um modelo de desenvolvimento regional mais equilibrado, geram renda e ocupam a mão de obra. No entanto, para garantir a rentabilidade e sustentabilidade desta atividade é necessário atender as exigências legais e garantir que esses produtos não ofereçam riscos à saúde do consumidor.

O gênero *Listeria* inclui 18 espécies, das quais apenas duas, *L. monocytogenes* e *L. ivanovii*, são patogênicas¹. Caracterizam-se por bastonetes Gram-positivos, anaeróbios facultativos não formadores de esporos, apresentam motilidade típica a temperatura menor ou igual a 30°C, toleram elevadas concentrações de sal (10%) e podem multiplicar-se em ampla faixa de temperatura (0 °C a 45 °C) e pH (6 e 9)². *Listeria monocytogenes* foi a primeira espécie do gênero a ser descoberta e desde então é a principal espécie patogênica ao homem³.

A listeriose, infecção provocada por esse patógeno, pode ocorrer de forma assintomática ou provocar diarreia e febre, quando acomete pessoas imunocompetentes, manifestando-se na forma não invasiva². No entanto, indivíduos imunossuprimidos podem apresentar quadro clínico de listeriose invasiva como septicemia, infecção do sistema nervoso central e listeriose materno-fetal, com alto percentual de casos fatais (20-30%)^{2,3}. Em gestantes as principais consequências são aborto, parto pré-maturo, má formação do feto e infecção generalizada no recém-nascido⁴.

O consumo de alimentos contaminados é a principal causa da listeriose humana, visto que o patógeno pode contaminar uma grande variedade de produtos e é capaz de sobreviver em condições adversas como alta acidez, congelamento e alta concentração de sal². Queijos frescos contaminados foram responsáveis por surtos de listeriose, ocorridos entre 1983 e 2016, em diferentes países

da Europa e América do Norte^{4,5}. Em 2012, na Espanha, dois surtos de listeriose, que envolveram uma gestante e um recém-nascido, também foram relacionados ao consumo deste tipo de produto⁴. Em Portugal, entre 2009 e 2012, trinta indivíduos apresentaram sintomas de listeriose e 11 foram a óbito pela doença após consumirem queijos frescos⁵. Nos Estados Unidos, entre 1998 e 2011, queijos contaminados provocaram doze surtos de infecção por *L. monocytogenes*, com cinco óbitos, sendo a maior parte deles (66%) associada ao consumo de queijos fabricados com leite pasteurizado⁶.

No Brasil, a listeriose é, ainda, subdiagnosticada e subnotificada³. Embora haja evidências da ocorrência e caracterização de estirpes de *L. monocytogenes* isoladas de pacientes no país^{3,7}, não foram encontradas informações capazes de estabelecer uma relação entre a doença, suas vias de transmissão e os possíveis alimentos envolvidos. A avaliação de trinta e cinco casos de meningite provocados por *Listeria* spp. ocorrido em São Paulo, entre 1999 e 2015, mostrou que 34,3% dos isolados de pacientes caracterizava-se por *L. monocytogenes* e 65,7% por *Listeria* spp⁷. Embora não haja relação estabelecida entre esses casos de listeriose e o consumo de alimentos, o alto número de isolados de *Listeria* spp. em pacientes com meningite é um alerta para o risco de consumir alimentos contaminados com bactérias desse gênero. É necessário intensificar e aprofundar as pesquisas sobre o patógeno em amostras clínicas e alimentos para mensurar a relevância deste micro-organismo no Brasil e propor medidas de prevenção das contaminações para evitar a ocorrência de casos e surtos³.

A presença de *Listeria* spp. em queijos frescos foi relatada no Brasil⁸⁻¹⁰. *L. monocytogenes* foi isolada em amostras de queijo Minas Frescal produzidos em Minas Gerais^{10,11} e São Paulo⁹, e está relacionada a contaminações ocorridas durante a fabricação e a capacidade de sobrevivência e multiplicação dessas bactérias no produto, mesmo quando mantidos sob refrigeração. Diferentes espécies de *Listeria* foram isoladas em queijos e no ambiente de produção de três laticínios de pequeno porte no norte do estado de São Paulo, sendo *L. innocua* a principal delas⁸. O isolamento de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em diferentes queijarias torna o ambiente de fabricação uma importante fonte de contaminação^{8,12}, visto

que algumas linhagens podem permanecer viáveis por longos períodos de tempo em drenos de piso¹².

O risco associado ao consumo de queijos frescos contaminados por *L. monocytogenes*, principalmente por indivíduos de grupos de risco, e a relevância deste patógeno para a saúde pública justificam a necessidade de estudos sobre sua ocorrência no produto. Embora *L. monocytogenes* seja a principal espécie patogênica, a presença e o desenvolvimento de outras espécies do gênero em queijos Minas Frescal sugere a possibilidade de contaminação pelo patógeno e representa um risco potencial para os consumidores⁹. Diante disto, este estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de *Listeria* spp. em queijos Minas Frescal produzidos em agroindústrias familiares, identificar as espécies deste gênero e relacionar os resultados às condições de produção e comercialização dos queijos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas seis agroindústrias inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Municipal (SIM) e seis agroindústrias não inspecionadas. Dentre as agroindústrias informais, três utilizavam leite pasteurizado e as outras três utilizavam leite cru como matéria-prima para a produção dos queijos. As condições de fabricação foram avaliadas e amostras de queijo Minas Frescal foram coletadas para avaliação microbiológica. Amostras do produto também foram coletadas nos respectivos pontos de venda que foram selecionados com base nos critérios de aleatoriedade e disponibilidade do produto. Durante a coleta das amostras avaliou-se as condições higiênicas de comercialização. Entre janeiro e dezembro de 2008 foram realizadas duas coletas em cada uma das estações do ano nas agroindústrias e nos pontos de venda. As amostras foram indicativas de lote, representadas por uma peça em embalagem original fechada pesando aproximadamente 500g. As amostras coletadas na fonte de produção e no comércio foram independentes.

Foram coletadas 161 amostras de queijos Minas Frescal, 81 provenientes da fonte de produção e 80 de seus respectivos pontos de venda. De 81 amostras coletadas na fonte de produção, 42 eram de estabelecimentos inspecionados e 39 de não inspecionados. De 80 amostras coletadas no comércio, 42 foram fabricadas em agroindústrias inspecionadas e 38 em estabelecimentos informais.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Viçosa, MG, segundo a metodologia preconizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento¹³. Alíquotas de 25 g da amostra foram submetidas ao enriquecimento seletivo primário em 225 mL de caldo Half-Fraser adicionado de ácido nalidíxico e acriflavina, homogeneizadas e incubadas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$, por 24 horas. Em seguida, uma alíquota foi submetida ao enriquecimento secundário em caldo Fraser suplementado com citrato de amônio e ferro III e incubada a $30 \pm 1^\circ\text{C}$, por 24 a 48 horas. A partir do segundo enriquecimento, realizou-se o plaqueamento seletivo diferencial em Palcam *Listeria* Selective Agar e Ágar *Listeria*, de acordo com Ottaviani e Agosti (ALOA). As colônias típicas foram submetidas às provas de catalase, motilidade típica, redução de nitrato e VM-VP para identificação do gênero. As culturas caracterizadas como *Listeria* spp. foram diferenciadas quanto a espécie por meio de provas bioquímicas que incluem produção de beta-hemólise, CAMP teste e fermentação de carboidratos: xilose, manitol e ramnose.

A frequência de isolamento de cada espécie foi dada pela razão entre o número de vezes que uma espécie foi detectada e número total de detecções. A ocorrência de acordo com *Listeria* spp. foi relacionada ao tipo de agroindústria (inspecionada ou não inspecionada), ao percentual de adequação às Boas Práticas de Fabricação (BPF), à matéria-prima utilizada (leite cru ou pasteurizado) e à origem da amostra (produção ou comércio).

As condições de fabricação e comercialização foram avaliadas durante a coleta das amostras por meio de observações *in loco* direcionadas por listas de verificação elaboradas pelos autores que abordavam requisitos de boas práticas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se *Listeria* spp. em 14 amostras (8,7%) provenientes de oito agroindústrias diferentes, quatro inspecionadas e quatro não inspecionadas. Dentre as seis espécies de *Listeria* identificáveis pela metodologia adotada, quatro foram detectadas

nas amostras de queijo, o que caracteriza alta diversidade de espécies deste gênero neste tipo de produto. *L. innocua* foi a mais frequente (72%), seguida de *L. monocytogenes* (14%), *L. ivanovii* (7%) e *L. seeligeri* (7%). Não foram identificadas espécies diferentes em uma mesma amostra de queijo. As quatro espécies do gênero foram isoladas de amostras provenientes de uma agroindústria não inspecionada (K), que utilizava leite pasteurizado como matéria-prima, sendo duas delas coletadas na fonte de produção e duas no comércio. A contaminação recorrente dos queijos fabricados neste estabelecimento por *Listeria* spp. sugere que haja persistência deste grupo de bactérias no ambiente de produção, o que aumenta o risco de contaminação pelo patógeno.

Queijos Minas Frescal comercializados em Campinas, SP, apresentaram maior percentual de amostras contaminadas por *Listeria* spp. (11,8%), no entanto, constatou-se menor diversidade de espécies do gênero, com prevalência de *L. innocua* (72,7%) seguida de *L. monocytogenes* (27,3%)⁹. Maior contaminação por bactérias do gênero *Listeria* (16,2%) também foi constatada em queijos coloniais comercializados no Rio Grande do Sul, representada por *L. innocua* (42,9%), *L. seeligeri* (35,7%) e *L. monocytogenes* (21,4%)¹⁴. Em unidades de processamento de São Paulo, *Listeria* spp. foi detectada em superfícies, salmoura e queijos, com destaque para presença de *L. innocua* (56,5%) frente a *L. monocytogenes* (32,9%), *L. seeligeri* (9,4%) e *L. welshimeri* (1,2%)⁸. No sul da Itália, fábricas de laticínios que utilizavam leite de cabra e ovelha apresentaram alta diversidade de espécies de *Listeria* isoladas na matéria prima (leite refrigerado), produtos (queijos frescos) e subprodutos (coalhada e soro), enquanto que nas unidades que beneficiavam apenas leite bovino, a diversidade foi menor, representada por *L. innocua* e *L. monocytogenes*¹².

Listeria spp. foi detectada em amostras de queijo Minas Frescal provenientes de agroindústrias inspecionadas e não inspecionadas, no entanto, a maior parte dos isolados (64,3%) foram obtidos de queijos não inspecionados (**Tabela**). Amostras oriundas de agroindústrias inspecionadas apresentaram contaminações por *L. innocua* (4/5) e *L. monocytogenes* (1/5), enquanto que as amostras fabricadas em estabelecimentos não inspecionados apresentaram maior diversidade de espécies: *L. innocua* (6/9), *L. monocytogenes*

(1/9), *L. ivanovii* (1/9) e *L. seeligeri* (1/9). Estes resultados sugerem que a regularização sanitária contribui para redução do número de amostras contaminadas e reforça a hipótese de que produtos fabricados à margem da fiscalização oferecem maior risco à saúde. A fabricação dos queijos nos estabelecimentos não inspecionados ocorria em áreas comuns às residências, como varandas e cozinha, o que dificulta a implantação de medidas para evitar a contaminação dos produtos e favorece a ocorrência de contaminações cruzadas durante a fabricação.

A presença de *Listeria* spp. em amostras coletadas nas unidades de produção (6/14) indica possível contaminação durante a fabricação dos queijos. Outra possibilidade é a utilização de matéria-prima contaminada, uma vez que esse grupo de bactérias pode estar presente no leite cru. O baixo percentual de atendimento às BPF, constatado em todas as agroindústrias (**Tabela**), demonstra deficiência na adoção de medidas para evitar a contaminação dos produtos nestas unidades. A agroindústria que apresentou menor percentual de adequação entre as inspecionadas apresentou contaminação por *L. innocua* em duas amostras coletadas na produção. Entre as amostras coletadas nas agroindústrias não inspecionadas, *L. innocua* foi detectada em três (G, K e L) e *L. monocytogenes* foi identificada em uma amostra (K).

A maior parte das amostras contaminadas foi coletada no comércio (8/14) (**Tabela**). Diversas irregularidades foram constatadas nos pontos de venda durante a coleta, tais como, limpeza insuficiente dos balcões de refrigeração (58,2%), temperatura de armazenamento superior a 10°C (49,4%), hábitos de higiene e práticas inadequadas de manipulação (48,1%), comprometimento da capacidade de refrigeração dos balcões (43,0%), armazenamento concomitante com carne crua ou seus derivados (38,0%), focos visíveis de contaminação (31,6%) e acúmulo de gelo nos balcões (22,8%). Falhas ocorridas durante a comercialização podem ser a causa das contaminações observadas, no entanto, não é possível afirmar a origem da contaminação dessas amostras, pois diversos fatores podem ter contribuído para este resultado.

Tabela. Adequação aos requisitos de Boas Práticas de Fabricação, tipo de matéria-prima utilizada e presença de *Listeria* spp. em queijos Minas Frescal produzidos em agroindústrias familiares – 2008

Unidades de produção	Adequação às BPF (%)	Uso de leite pasteurizado	Número de amostras coletadas		Número de amostras contaminadas por <i>Listeria</i> sp.			
			Produção	Comércio	Produção	Comércio	Total	
Inspeccionada	A	41,1	Sim	8	8	0	1	1
	B	33,7	Sim	8	8	2	0	2
	C	40,8	Sim	8	8	0	0	0
	D	51,1	Sim	8	8	0	1	1
	E*	41,6	Sim	2	2	0	0	0
	F	35,9	Sim	8	8	0	1	1
Não Inspeccionada	G	33,9	Sim	8	8	1	1	2
	H	45,0	Não	8	8	0	1	1
	I	44,4	Sim	8	8	0	0	0
	J**	31,8	Não	4	7	0	0	0
	K	43,3	Sim	8	5	2	2	4
	L**	28,3	Não	3	2	1	1	2

* O estabelecimento encerrou as atividades após a primeira coleta

** Produção eventual

Queijos fabricados com leite pasteurizado apresentaram maior frequência de isolamento de *Listeria* spp. (11/14) e alta diversidade de espécies (*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii* e *L. seeligeri*). A pasteurização do leite é eficaz para reduzir ou eliminar este grupo de bactérias na matéria-prima, no entanto, a presença de *Listeria* spp. no ambiente de produção pode resultar na contaminação de queijos^{2,12}. Contaminações pós-pasteurização do leite geralmente ocorrem em baixas contagens microbianas, no entanto, a capacidade de multiplicação de *Listeria* spp. em alimentos refrigerados contribui para aumento desta população, possibilitando sua detecção em etapas subsequentes àquela em que ocorreu a contaminação². A contaminação de queijos fabricados com leite pasteurizado é ainda mais preocupante, uma vez que, a velocidade de multiplicação de *L. monocytogenes*, e das demais espécies, é maior neste tipo de produto¹⁵. Portanto, o uso de leite pasteurizado deve estar associado à adoção de boas práticas de fabricação e comercialização para obtenção de queijos seguros.

L. monocytogenes foi identificada em 1,2% das amostras analisadas (2/161). Estudo semelhante

identificou maior percentual de isolamento de *L. monocytogenes* (9,6%) em queijos Minas Frescal fabricados com leite pasteurizado em laticínios da Zona da Mata Mineira¹⁰. Em Juiz de Fora, MG, queijos de uma mesma marca, produzidos com leite pasteurizado, coletados em dois pontos de venda, apresentaram contaminação por *L. monocytogenes* (6/10). Avaliações realizadas na unidade de produção constataram a presença do patógeno em diferentes pontos da planta e identificaram que os resfriadores foram as fontes de contaminação¹¹. O patógeno também foi isolado de queijos fabricados com leite pasteurizado (3/93) comercializados em Campinas, SP⁸.

Observou-se maior ocorrência de *Listeria* spp. em amostras coletadas na primavera (64,3%), seguida do outono (35,7%) e não foi constatada ocorrência em amostras coletadas no inverno e no verão. Zaffari et al¹⁴ avaliaram a influência das estações do ano no isolamento de *Listeria* spp. em queijos coloniais comercializados no Rio Grande do Sul e, assim como neste estudo, identificaram maior ocorrência deste grupo de bactérias em amostras coletadas na primavera (7/80), seguida do outono (6/80) e em uma amostra coletada no verão¹⁴.

CONCLUSÃO

A presença de *L. monocytogenes* e *Listeria* spp. em queijos Minas Frescal produzidos em agroindústrias familiares inspecionadas e não inspecionadas está relacionada à ocorrência de falhas nos procedimentos de boas práticas durante a produção e comercialização dos queijos. O queijo Minas Frescal, produzido a partir de leite cru ou pasteurizado, em estabelecimentos que não atendem aos requisitos de BPF, oferece risco potencial à saúde do consumidor. A implantação das boas práticas nas etapas de fabricação e comercialização é uma medida fundamental para garantir a inocuidade dos produtos comercializados por pequenas agroindústrias.

Os órgãos fiscalizadores necessitam aprimorar o monitoramento da ocorrência do patógeno em agroindústrias inspecionadas por meio de análises fiscais e programas específicos para controle de *Listeria* spp. em ambientes industriais. A prevalência deste grupo de bactérias em queijos frescos provenientes de agroindústrias não inspecionadas evidencia o perigo de se consumir este tipo de produto e reforça a necessidade de regularização dos pequenos empreendimentos para evitar problemas de saúde pública e garantir a sustentabilidade da produção artesanal de queijos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

1. Doijab SP, Poharkar KV, Kale SB, Kerkar S, Kalorey DR, Kurkure NV et al. *Listeria goaensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2018;68(10):3285–91. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002980>
2. Wang S, Orsi RH. Foodborne infections: *Listeria*. In: Morris GJ, Potter ME. *Foodborne Infections and Intoxications*. Atlanta: Elsevier; 2013. p. 199-210.
3. Cruz CD, Martinez MB, Destro MT. *Listeria monocytogenes*: um agente infeccioso ainda pouco conhecido no Brasil. *Alim Nutr* 2008;19(2):195-206. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/247/241>
4. Castro V, Escudero JM, Rodrigues JI, Muniozguren N, Uribarri J, Saez D et al. Listeriosis outbreak caused by Latin-style fresh cheese, Bizkaia, Spain, August 2012. *Euro Surveill*. 2012;17(42):pii=20298. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20298>
5. Rios VM, Dalgaard P. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in European cheeses: A systematic review and meta-analysis. *Food Control*. 2018;84:205-14. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.07.020>
6. Gould HL, Mungai E, Behravesh CB. Outbreaks Attributed to Cheese: Differences Between Outbreaks Caused by Unpasteurized and Pasteurized Dairy Products, United States, 1998–2011. *Foodborne Pathog Dis*. 2014;11(7):545-51. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1650>
7. Silva P, Silva JO, Carneiro AMM, Reche SHC, Medeiros MIC. Estudo retrospectivo de meningite por *Listeria* sp ocorridos na região de Ribeirão Preto/SP, Brasil. *Bol Inst Adolfo Lutz*. 2016; 26(U):1-2. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/bial/bial_26/26u_art-3.pdf
8. Barancelli GV, Camargo TM, Gagliardi GN, Porto E, Souza RA, Campioni F et al. Pulsed-Field Gel Electrophoresis characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from cheese manufacturing plants in São Paulo, Brazil. *Int J Food Microbiol*; 2014;173:21-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.018>
9. Carvalho JDG, Viotto WH, Kuaye AY. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. *Food Control*. 2007;18(3):262-7. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.10.005>

10. Apolinário TCC, Santos GS, Lavorato JAA. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal produzido por laticínios do estado de Minas Gerais. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes*. 2014;69(6):433-42. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v69i6.290>
11. Brito JR, Santos EM, Arcuri EF, Lange CC, Brito MA, Souza GN et al. Retail survey of Brazilian milk and Minas frescal cheese and a contaminated dairy plant to establish prevalence, relatedness, and sources of *Listeria monocytogenes* isolates. *Appl Environ Microbiol* 2008;74(15):4954-61. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01828-07>
12. Parisi A, Latorre L, Fracalvieri R, Miccolupo A, Normanno G, Caruso M et al. Occurrence of *Listeria* spp. in dairy plants in Southern Italy and molecular subtyping of isolates using AFLP. *Food Control* 2013;29(1):91-7. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.036>
13. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 18 set 2003. Seção 1:14. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?journal=1&pagina=14&data=18/09/2003>
14. Zaffari CB, Mello JF, Costa M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciênc Rural*. 2007;37(3):862-67. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000300040>
15. Tiwari U, Walsh D, Rivas L, Jordan K, Duffy G. Modelling the interaction of storage temperature, pH, and water activity on the growth behaviour of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurised semi-soft rind washed milk cheese during storage following ripening. *Food Control*. 2014;42:248-56. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.005>