

Qualidade microbiológica de ricotas comerciais e os riscos associados à presença de *Listeria monocytogenes*

Microbiological quality of marketed ricotta cheese and disease risks associated with *Listeria monocytogenes* contamination

RIALA6/1412

Luciana Maria Ramires ESPER^{1*}, Dirce Yorika KABUKI², Arnaldo Yoshiteru KUAYE²

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos, Departamento de Bromatologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense (UFF). Rua Dr Mario Viana, 523. Niterói/RJ, fone: (21) 26299589. E-mail: lesper@id.uff.br

²Laboratório de Higiene e Legislação, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Recebido: 13.09.2010 - Aceito para publicação: 25.10.2011

RESUMO

No presente estudo foi avaliada a qualidade microbiológica de ricotas comercializadas na região de Campinas-SP e caracterizado o potencial patogênico das cepas isoladas de *Listeria monocytogenes*. Um total de 45 amostras de ricota foi submetido às análises de contagens de coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva, bolores, leveduras e detecção de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. Os resultados apontaram que 46,7% (21/45) das ricotas estavam em desacordo com os padrões microbiológicos para alimentos estabelecidos pela Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Resolução RDC 12/2001. O número de amostras que apresentaram contagens acima das permitidas pela legislação em relação aos coliformes termotolerantes foi de 46,7% e em relação a estafilococos coagulase positiva foi de 2,2%, além de 6,7% das amostras apresentaram *Listeria monocytogenes*. Não foi isolada *Salmonella* das amostras analisadas. Destaca-se a presença de *L. monocytogenes* em 6,7% (3/45) das amostras com perfil genético *actA* tipo 4 e *hly* tipo 1 e pertencente à linhagem I, potencialmente patogênico ao homem. Este estudo indica que o produto analisado merece maior atenção por parte da comunidade científica, bem como pelo setor produtivo e órgãos de vigilância sanitária com o intuito de empreender a melhoria da qualidade e consequente, segurança ao consumidor.

Palavras-chave. ricota, qualidade microbiológica, *Listeria monocytogenes*, genes de virulência e PCR.

ABSTRACT

The present study aimed at evaluating the quality of ricotta cheeses marketed in the region of Campinas, SP, and to characterize the pathogenic potential of the isolated *Listeria monocytogenes* strains. Of 45 analyzed samples, 46.7% (21/45) did not comply with the Brazilian microbiological standard established. Most of the evaluated samples showed the microorganisms counts above those established by the regulation, that is, 46.7% for thermotolerant coliforms, 2.2% for coagulase-positive staphylococci, and 6.7% for *Listeria monocytogenes*. No *Salmonella* was isolated from these samples. It was evidenced the occurrence of *Listeria monocytogenes* strains, with virulence genes *actA* type 4 and *hly* type 1, and classified as lineage I, which indicate the pathogenic potential for human. This study evidenced that this class of product deserves more attention from the scientific community, and also from manufacturing sector and sanitary surveillance bureau, improving the products quality, and consequently the consumer safety.

Keywords. ricotta cheese, Microbiological quality, *Listeria monocytogenes*, Virulence genes, PCR.

INTRODUÇÃO

O nome ricota é derivado da palavra latina “recocta”, que significa recozido, ou cozido duas vezes. É um produto de origem italiana, suave, com textura delicada e agradável sabor¹. A ricota possui alto conteúdo protéico (10 a 14%), baixo teor de gordura (4 a 5%), apresenta alto grau de digestibilidade, consequência de sua boa solubilidade no suco gástrico e pH entre 4,9 a 6,1. Em geral, é comercializada sem sal ou com porcentagem reduzida (0,1%). O teor de umidade (acima de 70%) caracteriza a ricota como um alimento de muito alta umidade, o que a torna muito susceptível à multiplicação microbiana. Mesmo sendo armazenada sob refrigeração, apresenta uma vida de prateleira muito limitada, de até cinco semanas, se não houver contaminação por coliformes e, principalmente, bolores e leveduras^{1,2}.

Os padrões microbiológicos estabelecidos para este alimento pela Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Resolução RDC 12/2001³ são: coliformes a 45 °C (máximo de 5×10^2 UFC/g), estafilococos coagulase positiva (máximo de 5×10^2 UFC/g), *Salmonella* spp. (ausência em 25 g) e *Listeria monocytogenes* (ausência em 25 g).

Nas escassas pesquisas sobre a qualidade microbiológica de ricotas, podemos verificar a necessidade de maior atenção e estudos em relação a este produto.

A análise de diferentes marcas de ricota comercializadas no município de Alfenas/MG mostrou que 66,7% das amostras estavam fora dos padrões estabelecidos pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12/2001⁴.

A análise de 4 pratos contendo ricota, servidos em uma empresa aérea brasileira, mostrou que 3 (75%) apresentaram *Escherichia coli*, sendo dois com valores iguais a $6,5 \times 10^2$ UFC/g e um com valor maior que $3,0 \times 10^4$ UFC/g⁵.

Na Itália, Cosseddu et al.⁶ analisaram 32 amostras de ricota e verificaram presença de enterococos, micro-organismos aeróbios mesófilos e *Bacillus cereus*, não sendo encontrado *Staphylococcus aureus*, *Listeria*, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*.

Nos Estados Unidos, segundo a *Food and Drug Administration*⁷, em 2003 o Departamento de Agricultura da Geórgia (EUA) promoveu o recolhimento de 3 t de queijo tipo ricota de uma marca específica devido à presença de *Listeria monocytogenes*. Um caso de listeriose causado pelo consumo de ricota foi registrado em New Jersey em 1999⁸.

Listeria monocytogenes é um dos micro-organismos patogênicos de maior risco à saúde humana. Ela tem sido associada a vários surtos de origem alimentar e tem como veículo, o ambiente e os alimentos, destacando-se o leite e seus derivados, como o queijo⁹.

Surtos e casos de listeriose humana já foram relatados, atingindo principalmente mulheres grávidas, ocasionando aborto, parto prematuro com mortes fetais e neonatais e nascimento de crianças com meningite ou outras lesões neurológicas¹⁰⁻¹².

Todos estes fatos demonstram a importância da pesquisa e do controle de qualidade de ricotas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de ricotas comercializadas na região de Campinas-SP, bem como os genes de virulência de *L. monocytogenes*.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram coletadas 45 amostras de ricota, sendo 15 marcas comerciais diferentes, identificadas como marca A, B, C, D e assim, consecutivamente até a marca O, com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF) ou no Serviço de Inspeção do Estado de São Paulo (SISP). As coletas foram realizadas no varejo do município de Campinas-SP, em três períodos diferentes do ano, apresentando de 10 a 15 dias de fabricação, sendo adquiridas no comércio dentro das condições normais de exposição de produtos refrigerados.

As amostras foram retiradas de sua embalagem, após prévia desinfecção com álcool 70%, sob condições assépticas, em capela de fluxo laminar (Veco, modelo VLFS-12). Cada unidade amostral foi homogeneizada e então subdividida para a realização dos ensaios microbiológicos.

Análises microbiológicas

Vinte e cinco gramas de amostra foram pesados em balança semianalítica (Micronal, modelo B400) para posterior homogeneização em equipamento tipo “stomacher” (*Seaward Medical*, modelo *Lab Blender* 400) com os diluentes específicos para cada micro-organismo investigado.

A contagem de coliformes termotolerantes (45 °C) foi realizada utilizando-se a técnica do Número Mais Provável (NMP) de três tubos, segundo recomendação da *American Public Health Association-APHA*¹³. A contagem de estafilococos coagulase positiva foi realizada utilizando-se o método recomendado pela

APHA¹⁴ e o teste da Furazolidona¹⁵ foi realizado para diferenciação de estafilococos e micrococos. A contagem de bolores e leveduras e a determinação de *Salmonella* também foram realizadas conforme metodologia recomendada pela APHA^{16,17}.

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* foi realizada segundo o método recomendado pelo *Canadian Health Product and Food Branch*¹⁸. O kit API Listeria (Biomerieux®) também foi utilizado para a identificação de alguns isolados, sendo este utilizado conforme instruções do fabricante.

Avaliação do potencial patogênico das cepas de *Listeria monocytogenes* isoladas

Os isolados identificados como *L. monocytogenes* pelo kit API Listeria foram subtipados utilizando-se a análise alélica dos genes de virulência *actA* e *hly*. O polimorfismo alélico da *actA* foi verificado por PCR e *hly-A* por PCR-RFLP (Polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição) utilizando as enzimas de restrição *HhaI* e *HpaII* de acordo com Wiedmann et al.¹⁹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 45 amostras avaliadas, 46,7% (21/45) apresentaram-se em desacordo com os padrões microbiológicos (RDC 12/2001 da ANVISA). Em 46,7% (21/45) os limites máximos permitidos para coliformes termotolerantes foram superados. Apenas 2,2% (1/45) das amostras apresentaram contagens de estafilococos coagulase positiva acima do limite e em 6,7% (3/45) foi observada a presença de *Listeria monocytogenes* (Figura 1).

Embora a utilização de leite pasteurizado e a temperatura mais elevada na coagulação da massa (~90 °C) durante o processamento de ricota criassem a expectativa de produtos com menor grau de contaminação, neste trabalho observou-se elevada incidência de coliformes termotolerantes nas amostras. Os resultados obtidos atestaram a qualidade insatisfatória das ricotas comercializadas, fato este, já evidenciado anteriormente por Raimundo⁴, que detectou 83,3% de ricotas fora do padrão para coliformes termotolerantes, e também por Tebaldi et al.²⁰, que verificou que todas as três marcas de ricota avaliadas estavam fora do padrão legal. Este fato evidencia a deficiência nas condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos nacionais envolvidos na produção de ricotas e a necessidade

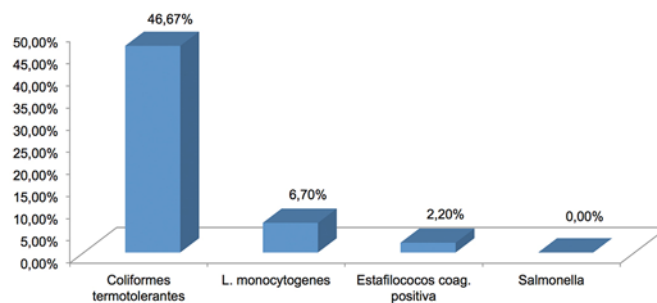


Figura 1. Porcentagem de amostras de ricota do varejo do município de Campinas-SP em desacordo com os limites estabelecidos pela Resolução RDC 12/2001

de maior atenção com as operações e condições pós-processamento térmico.

Apesar dos elevados índices de coliformes termotolerantes encontrados, verificou-se ausência de *Salmonella* spp. em 100% (45/45) das amostras (Figura 1). Estes resultados corroboram com os obtidos por outros pesquisadores^{4,6} que não verificaram a presença de *Salmonella* spp. nas ricotas analisadas. No entanto, outros autores como Tebaldi et al.²⁰ detectaram *Salmonella* spp. em uma das três marcas de ricota analisadas, sendo que esta também estava fora do padrão microbiológico para coliformes termotolerantes. Brindani et al.²¹ isolaram *Salmonella* Bredeney em uma amostra de ricota. Este sorotipo já foi causador de surtos de origem alimentar^{22,23}.

A presença de estafilococos coagulase positiva nas amostras de ricotas foi relativamente baixa (4,4%; 2/45) e apenas uma delas (1/45) fora do padrão legal, com contagem de $4,7 \times 10^3$ UFC/g. Normano et al.²⁴ analisaram 194 amostras de ricotas e destas 24,2% (47/194) estavam contaminadas com estafilococos coagulase positiva, sendo 6 identificadas como *S. aureus* e 5 destas (83,3%; 5/6) foram produtoras das enterotoxinas SEA e SED. Segundo os autores, a contaminação por estafilococos coagulase positiva se devia às condições higiênico-sanitárias inadequadas pós-processamento.

O gênero *Listeria* foi isolado de 20% (9/45) das amostras analisadas, compreendendo 6 estabelecimentos produtores diferentes.

Foram isoladas 118 culturas típicas de *Listeria* spp. referentes a 9 amostras e dentre as espécies identificadas, *L. monocytogenes* foi encontrada em 6,7% das amostras (3/45), *L. grayi* em 2,2% (1/45), *L. innocua* em 13,3% (6/45), *L. seeligeri* em 2,2% (1/45) e *L. welshimeri* em 6,7% (3/45) das amostras, conforme apresentado na Tabela 1.

A presença de *L. monocytogenes* em 6,7% das amostras é um fato preocupante, já que este produto é consumido muitas vezes sem qualquer tipo de tratamento térmico, em sanduíches naturais e patês.

Tabela 1. Espécies de *Listeria* isoladas de ricotas do varejo do município de Campinas-SP e sua distribuição entre as amostras analisadas

Espécie isolada	Amostras positivas	% de isolados*
<i>L. innocua</i>	F2, H1, H2, H3, K2 e N1 13,3%	78,0% (92/118)
<i>L. monocytogenes</i>	H3, O1 e O3 6,7%	11,0% (13/118)
<i>L. welshimeri</i>	F2, H2 e O1 6,7%	5,1% (6/118)
<i>L. grayi</i>	O1 2,2%	1,7% (2/118)
<i>L. seeligeri</i>	B2 2,2%	4,2% (5/118)

*nº de isolados / nº total de isolados de *Listeria*

A presença de outras espécies de *Listeria*, como *L. grayi*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* e *L. innocua*, também merece atenção, pois revela que há condições potenciais de instalação e desenvolvimento de *L. monocytogenes* nestes produtos. Segundo Tompikin²⁵, existe a necessidade de uma resposta à presença de qualquer espécie de *Listeria* spp. com o mesmo rigor dispensado à *L. monocytogenes*, por meio de procedimentos efetivos de higienização durante o processamento, para garantir o controle eficaz desses micro-organismos. A contaminação por *Listeria* spp. está relacionada à contaminação ambiental na indústria pela não aplicação de um programa efetivo de boas práticas de manufatura.

Kabuki et al.²⁶ rastreamos *Listeria* spp. em plantas de produção de queijos frescos, detectando elevada contaminação por *L. monocytogenes* em pisos e drenos, com 30% e 20,6 %, respectivamente, de amostras positivas. Rocha²⁷ analisou 120 amostras de superfícies de ambientes e equipamentos de laticínios produtores de queijo Minas frescal e verificou que 17,5% delas apresentaram resultados positivos para *Listeria* spp. As seguintes espécies foram encontradas: *L. grayi* (drenos); *L. welshimeri* (piso e bomba de transporte de soro); *L. innocua* (piso e mesa da sala de coagulação e piso da câmara fria) e *L. seeligeri* (dreno, piso, tanque de coagulação e piso da câmara fria). Brito et al.²⁸ após detectar *Listeria monocytogenes* em queijos Minas frescal, avaliaram a indústria processadora do queijo e isolaram *L. monocytogenes* sorotipo 1/2a, com o mesmo perfil genético encontrado no queijo, de

equipamentos e utensílios da indústria, relacionando as unidades de refrigeração (estocagem) como fonte de contaminação dos queijos.

Avaliação do potencial patogênico das cepas de *Listeria monocytogenes* isoladas

Treze isolados foram positivos para *L. monocytogenes* pelo kit API *Listeria*®. Estes, foram subtipados utilizando a análise alélica dos genes de virulência *actA* e *hly* por PCR-RFLP (Polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição).

O gene *actA* tipo 4 foi encontrado em todos os isolados, não sendo encontrado o tipo 3. A subtipagem dos isolados pela PCR-RFLP utilizada permite diferenciar 8 alelos do gene *hly* e também, separar *L. monocytogenes* em três linhagens (I, II e III) com perfis patogênicos diferentes. Segundo Wiedmann et al.¹⁹, a linhagem I compreende cepas dos sorotipos 1/2b, 3b, 3c e 4b, associadas à ocorrência de surtos e casos de listeriose em humanos, sugerindo maior potencial patogênico ao homem quando comparado às outras linhagens. Todos os isolados neste estudo apresentaram-se como pertencentes ao alelo tipo 1 do gene *hly* e à linhagem I e este perfil genético também foi o mais frequentemente encontrado no alimento¹⁹.

Kabuki et al.²⁶ ao analisarem 36 isolados de *L. monocytogenes* de amostras de plantas de processamento de queijo fresco tipo latino, revelaram que 24 pertenciam à linhagem I (*actA* tipo 4 e *hly* tipo 1). Este perfil também foi encontrado em *L. monocytogenes* isoladas de alimentos²⁹.

Além dos parâmetros microbiológicos definidos pela Resolução RDC nº12/2001, no presente estudo pesquisou-se também outros micro-organismos que pudessem servir como parâmetro de avaliação das condições higiênicas no processamento de ricota, como os bolores e as leveduras.

Os resultados da contagem de bolores e leveduras em 40 amostras de ricota analisadas, conforme apresentados na Tabela 2, revelaram elevada ocorrência, sendo 47,5% (19/40) das amostras contaminadas por bolores e 97,5% (39/40) por leveduras. Além disso, elevado nível de contaminação foi observado, pois 97,5% das amostras apresentaram contagens acima de 2,3 x 10³ UFC/g, principalmente de leveduras. Contagens de leveduras entre 10⁶ a 10⁷ UFC/g foram observadas em 55% (22/40) das amostras. No estudo realizado por Carminati et al.³⁰, foram encontrados níveis de até 6,6 x 10⁴ UFC/g de leveduras em amostras de ricota.

Embora a presença de leveduras possa representar uma contribuição positiva no desenvolvimento do sabor durante a maturação de alguns queijos, em outros, pode atuar negativamente ao favorecer a deterioração, causar produção excessiva de gás, aumentar a acidez, promover mudanças na textura e sabor amargo e de ranço. No caso específico da ricota, altas contagens destes micro-organismos são críticas para a estabilidade e a vida de prateleira, e indicam falta de higiene na fabricação.

Tabela 2. Frequência de bolores e leveduras nas ricotas analisadas do varejo do município de Campinas-SP de acordo com as contagens encontradas

Contagem (UFC/g)	Bolores	Leveduras
< 10 ²	52,5 % (21/40)	2,5% (1/40)
10 ² a 10 ³	10,0% (4/40)	0,0% (0/40)
> 10 ³ a 10 ⁵	17,5% (7/40)	22,5% (9/40)
> 10 ⁵ a 10 ⁶	15,0% (6/40)	20,0% (8/40)
> 10 ⁶ a 10 ⁸	5,0% (2/40)	55,0% (22/40)

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados revelam alta frequência de amostras de ricota em condições microbiológicas insatisfatórias e a presença de *Listeria monocytogenes* pertencentes à linhagem I, potencialmente patogênica ao homem. Portanto, este produto deveria receber maior atenção por parte da comunidade científica, do setor produtivo e dos órgãos de vigilância sanitária visando à melhoria da qualidade e consequente segurança do consumidor, tendo em vista o seu consumo crescente e a sua utilização em dietas especiais.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo auxílio à Pesquisa e à CAPES pela bolsa de estudo concedida.

REFERÊNCIAS

- Kosikowski FV, Mistry VV. Soft Italian Cheese-Mozzarella and Ricotta. Cheese and Fermented Milk Foods: Volume I: Origins and Principles. 3ª ed. Virginia; 1999.
- Hough G, Pugliese ML, Sanchez R, Silva MO. Sensory and Microbiological Shelf-Life of a Commercial Ricotta Cheese. J Dairy Sci. 1999;82(3):454-9.
- Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº7-E. p.45-53.
- Raimundo IC. Avaliação microbiológica de amostras de ricotas comercializadas no município de Alfenas [dissertação de mestrado]. Lavras (MG): Universidade Federal de Lavras; 2004.
- Beltrán JFN, Neto AC, Pires EMF, Stamford TLM. Avaliação microbiológica de refeições servidas por empresas aéreas nacionais. Hig Aliment. 1999;59(13):49-56.
- Cosseddu AM, Santi EPL, Mazzette R, Fresi A, Lai G. Ricotta bovina fresca confezionata: caratteristiche microbiologiche di interesse igienico-sanitario. Latte. 1997;7: 76-81.
- Food and Drug Association - FDA. Enforcement report. [acesso 2009 Set 09]. Disponível em: [www.fda.gov/bbs/topics/enforce/2003/ENF00797.html].
- Ryser ET, Marth EH. Listeria, listeriosis and food safety. 2ªed. New York: Marcel Dekker; 1999.
- Jay, JM. Microbiologia de alimentos. 6ªed. Porto Alegre: Artmed; 2008.
- Hofer E, Nascimento RS, Oliveira MA. Meningite por *Listeria monocytogenes*. Relato de casos em pacientes do Distrito Federal. Rev Soc Bras Med Trop. 1998;31:173-7.
- Centers for Diseases Control and Prevention. Outbreak of listeriosis associated with homemade Mexican-style cheese – North Caroline, October 2000 - January 2001. MMWR - Morb Mortal Wkly Rep. 2001;50(26):560-2.
- Schwab JP, Edelweiss MIA. Identificação imuno-histoquímica de *Listeria monocytogenes* em placentas fixadas em formol e embebidas em parafina. Rev Bras Ginecol Obstet. 2003;25(7):501-5.
- Kornacki JL, Johnson JL. Enterobacteriaceae, Coliforms, and Escherichia coli as Quality and Safety Indicators. In: American Public Health Association-APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods; 2001; Washington, US; p.69-82.
- Lancette GA, Bennett RW. Staphylococcus aureus and Staphylococcal Enterotoxins. In: American Public Health Association-APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods; 2001; Washington, US; p. 387-403.
- Rheinbaben KE, Hadlok RM. Rapid distinction between micrococci and staphylococci with furazolidone agars. Antonie van Leeuwenhoek. 1991;47:41-51.
- Andrews HW, Flowers RS, Silikers J, Bailey SJ. Salmonella. In: American Public Health Association-APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods; 2001; Washington, US; p.357-80.
- Beuchat LR, Cousin MA. Molds and Yeast. In: American Public Health Association-APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods; 2001; Washington, US;p.209-13.
- Pagotto F, Daley E, Farber J, Warburton D. Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food environmental samples. In: CANADA. Health Products Food Branch. Compendium of analytical methods: laboratory procedures of microbiological analytical of foods [MFHPB 30]. [acesso 2009 Fev 02]. Disponível em: [www.hc-sc.gc.ca/food-aliment].
- Wiedmann M, Bruce JL, Keating C, Johnson AE, Mc Donough PL, Batt CA. Ribotypes and virulence gene polymorphisms suggests three distinct *Listeria monocytogenes* lineages with difference in pathogenic potential. Infect Immun.1997;65 (7): 2707-16.

20. Tebaldi VMR, Ramalho GCA, Oliveira TLC, Schwan RF, Piccoli RH. Alteração microbiológica de ricota durante a vida de prateleira. Congresso Brasileiro de Microbiologia [CD-ROM]. Santos: Anais Sociedade Brasileira de Microbiologia. [Resumo 23]; 2005.
21. Brindani F, Pizzin G, Bonardi S, Bacci C. Traditional cows' milk ricotta produced in the Parmigiano-Reggiano cheese area: assessment of the microbiological profile. *Annali Fac Med Vet*. 2002;21:283-92.
22. Landgraf M, Gonçalves JÁ, Falcão DP. Surto de toxinfecção alimentar por *Salmonella* Bredeney. *Rev Saúde Públ*. 1985;19:92-3.
23. Baker DF, Kraa E, Corbett SJ. A multi-state outbreak of *Salmonella* bredeney food poisoning: a case control study. *Aust N Z J Public Health*. 1998;22(5):552-5.
24. Normano G, Firinu A, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Descastelli L, et al. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int J Food Microbiol*. 2005;98:73-9.
25. Tompikin RB. Control of *Listeria monocytogenes* in the food - processing environment. *J Food Prot*. 2002;65(4):709-25.
26. Kabuki DY, Kuaye AY, Wiedmann M, Boor KJ. Molecular subtyping and tracking of *Listeria monocytogenes* in latin-style fresh-cheese processing plants. *J Dairy Sci*. 2004;87:2803-12.
27. Rocha JAK. Estudo da presença de *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus* em indústria processadora de queijo Minas frescal [dissertação de mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2004.
28. Brito JRF, Santos EMP, Arcuri EF, Lange CC, Brito MAVP, 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 and Environ Microbiol*. 2008;74(15):4954-61.
29. Kabuki DY, Souza RM, Kuaye AY. Caracterização genética de *Listeria monocytogenes* isoladas de alimentos. In: XX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos; 2006; Curitiba.
30. Carminati D, Bellini E, Perrone A, Neviani E, Mucchetti G. Traditional ricotta cheese: survey of the microbiological quality and its shelf life. *Industrie Aliment*. 2002;41:549-55.