

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Listeria innocua* EM QUEIJO ARTESANAL

Carolina Silva Siciliano¹; Raquel Oliveira²; Cynthia Jurkiewicz Kunigk³

¹ Aluno de Iniciação Científica da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

² Aluno de Doutorado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP (FCF-USP);

³ Professor da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT).

Resumo. *Queijos produzidos com leite cru podem apresentar grande risco à saúde do consumidor devido à possível presença de microrganismos patogênicos. Dentre as bactérias patogênicas relacionadas a surtos veiculados por queijos produzidos com leite cru, destaca-se o gênero *Listeria spp.* Esses microrganismos estão amplamente distribuídos no ambiente e se multiplicam em temperatura de refrigeração. De forma a contribuir com a garantia da segurança de queijos artesanais, esse trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de *L. innocua* durante a maturação do produto, uma vez que, essa espécie, apesar de não patogênica, apresenta comportamento similar à *L. monocytogenes*. Os queijos foram produzidos conforme processo utilizado por produtores de queijos artesanais da Serra da Canastra. *L. innocua* foi utilizada para a contaminação do leite utilizado na produção do queijo, de modo a obter uma contagem inicial de 10^2 e 10^4 UFC/g. Durante 60 dias de maturação, a 20°C e 65 % de umidade, foram retiradas amostras para a quantificação de *L. innocua*. Os resultados mostraram um aumento de 3 Log UFC/g na contagem de *Listeria* durante as 24 h iniciais de produção do queijo. O fermento endógeno contribuiu para a inibição do patógeno apenas quando a contagem inicial era próxima de 10^2 UFC/g.*

Introdução

O Queijo Minas Artesanal é um dos principais produtos da agroindústria mineira, caracterizado pela sua produção com leite cru recém ordenhado (Dores, Ferreira, 2012). A utilização da matéria prima crua demanda cuidados especiais devido à possível presença de microrganismos deteriorantes e patogênicos indesejados que podem sobreviver ao processo de produção do queijo e permanecer no produto, comprometendo a qualidade e segurança do mesmo. Além disso, alguns produtores não obedecem rigorosamente a critérios de higiene para obtenção de um produto seguro para consumo (Ornelas, 2012), podendo resultar em quantidades significativas de *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e enterotoxinas estafilocócicas e *Listeria monocytogenes* (Santos, 2010).

Além das boas práticas de manejo do rebanho e das boas práticas de fabricação, a maturação do queijo também contribui para a segurança do produto. Durante a maturação ocorrem mudanças nas características físico-químicas, microbiológicas e organolépticas da casca do queijo e do interior da massa, além da atividade antimicrobiana de bactérias lácticas sobre microrganismos patogênicos (Dores, Ferreira, 2012).

Segundo o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), o período de maturação de queijos produzidos com leite cru deveria ser de no mínimo 60 dias, entretanto, com a implementação da Instrução Normativa nº 30, de 7 de agosto de 2013, deste órgão, foi estabelecido que os queijos produzidos com leite cru em queijarias situadas em regiões geográficas registradas ou tradicionalmente reconhecidas podem ser submetidos a um período de maturação inferior a 60 dias, desde que estudos técnico-científicos comprovem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto.

Dentre os microrganismos patogênicos que podem ser veiculados por queijos produzidos com leite cru destaca-se o gênero *Listeria*, devido à alta frequência neste tipo de produto. São bactérias amplamente distribuídas no ambiente, resistentes a altas concentrações de sal e podem sobreviver e se multiplicar mesmo em temperaturas de refrigeração. A espécie *Listeria monocytogenes*, muito encontrada em queijos artesanais (Nero, 2005; Santos, 2010; Pinheiro,

2018), apresenta alta patogenicidade, podendo infectar pessoas com o sistema imunológico intacto ou mais frequentemente, com imunodepressão. Em indivíduos saudáveis, a doença se manifesta por distúrbios gastrointestinais em um período de poucas horas a 3 dias. Por outro lado, em indivíduos imunodeprimidos (idosos, crianças, gestantes, pessoas com doenças crônicas ou infecciosas), os sintomas variam de algo semelhante a uma gripe comum até um quadro de septicemia, com acometimento do sistema nervoso, causando meningite. Em gestantes a infecção pode causar aborto ou morte fetal (Abram et al, 2002).

Segundo Petran (1992), Espíndola (2004) e Nero (2005) alimentos com tendência à presença de *L. monocytogenes*, apresentam também quantidades significativas de *L. innocua*, sendo esta não patogênica e com comportamento similar à *L. monocytogenes* (Duh, Schaffner, 1992; Petran, 1992) podendo ser considerado um microrganismo capaz de substituir a espécie patogênica em ensaios laboratoriais (Liu et al, 2007).

Visando contribuir com a avaliação da segurança de queijos artesanais, este projeto teve como objetivo simular em laboratório a produção de queijos com leite cru e fermento endógeno da Serra da Canastra, contaminados artificialmente, e avaliar o crescimento de *L. innocua* durante a produção e os 60 dias de maturação.

Material e Métodos

Leite cru

O leite cru foi fornecido por uma empresa de laticínios de São Paulo, e armazenado em refrigeração (4 a 7 °C) por no máximo 24 h antes da produção. Para a produção dos queijos o leite foi termizado com o objetivo de reduzir a população inicial de coliformes, sem a inativação da enzima fosfatase alcalina. A termização foi realizada em pasteurizador com aquecimento a 63 °C por 5 min, seguido de resfriamento até 40 °C.

Preparo da cultura de *Listeria innocua*

A cepa de *Listeria innocua* FIOCRUZ 047 foi reativada em 50 mL de caldo TSB-YE (tryptic soy broth – yeast extract) e incubada a 37 °C durante 16 a 18 horas. Foram adicionados ao leite termizado 100 µL desse inóculo, obtendo uma concentração inicial entre 10² e 10³ UFC.g⁻¹. A determinação da população inicial de *Listeria innocua* seguiu o método FDA/BAM (Food and Drug Administration/Bacterial Analytical Manual) 10:2016.

Fermento endógeno

O fermento endógeno, denominado pingo, foi obtido de um produtor da Serra da Canastra, em São Roque de Minas, MG. O pingo foi mantido congelado com 20 % glicerol a -80 °C até 24 h antes de sua utilização, quando foi transferido para um refrigerador a 4 °C.

Produção e contaminação do queijo artesanal

A produção do queijo artesanal foi realizada segundo o procedimento utilizado por produtores da região da Serra da Canastra (EMATER, 2009; Nóbrega, 2007). O pingo foi adicionado ao leite termizado na proporção de 0,3 %, juntamente com o coalho industrial líquido na proporção de 0,05 % (Clerici, Itália) e com a cultura ativa de *L. innocua*. O leite permaneceu em repouso por 50 a 60 min para a coagulação da massa, e foi cortado manualmente com auxílio de uma escumadeira. A agitação da massa foi realizada de forma lenta e por poucos minutos para facilitar a dessoragem. Após a retirada do soro a massa foi transferida para formas plásticas circulares, de 10 cm de diâmetro por 7 cm de altura, contendo um tecido sintético, com auxílio de uma peneira plástica. A prensagem foi realizada manualmente, com a ajuda do tecido, visando retirar o excesso de soro da massa para compactação do queijo. O processo de salga foi realizado em ambos os lados do queijo, utilizando aproximadamente 2 % de sal marinho destinado ao consumo humano para cada lado do queijo. Depois de um período de seis horas, o queijo foi virado e o processo de salga

repetido. Após 12 horas da segunda salga, o restante do sal foi retirado e os queijos, mantidos na forma por mais 6 h, quando foram desenformados e lavados em água até completa retirada do sal aderido em sua superfície. Depois de lavados, os queijos foram encaminhados para cura ou maturação, que tem como objetivo o desenvolvimento do sabor, a desidratação e a estabilização do queijo para atingir a consistência desejada. Os queijos permaneceram em um ambiente com temperatura de 20 °C, umidade relativa de 65 %, por um período de 60 dias e foram virados diariamente e lavados a cada dois dias. As prateleiras utilizadas para a maturação dos queijos eram de madeira. Nesta etapa, os queijos atingiram atividade de água de 0,91.

Foram produzidos queijos com pingo contaminados com *Listeria innocua* (a), e também dois queijos controles: sem pingo contaminado com *Listeria innocua* (b); com pingo sem contaminação por *Listeria innocua* (c).

Análises microbiológicas

Nas amostras de leite cru e do queijo, foi realizada a pesquisa de *Listeria monocytogenes*. Para o queijo contaminado foi determinada a população de *Listeria innocua*, em cada amostra coletada conforme apresentado na Tabela 1.

A enumeração e a pesquisa de *Listeria* seguiu o método FDA/BAM (Food and Drug Administration/Bacterial Analytical Manual) 10:2016. Os meios de cultura utilizados foram o ágar PALCAM (Oxoid Basingstoke, Reino Unido) e o ágar cromogênico ALOA (Merck, Darmstadt, Alemanha).

O ágar PALCAM contém a esculina, substância hidrolisada pela *Listeria* spp, sendo essa reação a responsável pelo escurecimento do meio indicando o crescimento do microrganismo. Esse meio tem em sua composição manitol e indicador de pH. *Listeria* não fermenta manitol, portanto tem como colônia característica as de coloração vermelha, já as colônias de outros microrganismos se tornam amarelas.

O ágar ALOA possui um composto cromogênico que detecta a presença de β -glucosidase, uma vez que essa enzima é comum em todas as *Listeria* spp. Quando o microrganismo está presente no meio, as colônias hidrolisam o composto cromogênico e apresentam coloração verde-azulada.

Os resultados foram expressos em UFC.mL⁻¹ ou g⁻¹ de leite ou queijo.

Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas somente no queijo não contaminado com *Listeria innocua*. As determinações do pH foram feitas no pHmetro da marca TECNAL, Modelo TEC-2, com preparo da amostra de acordo com o método oficial da AOAC 920.124. A atividade de água foi determinada no equipamento AquaLab 3TE (DECAGON DEVICES, INC). O teor de cloreto de sódio foi medido de acordo com o método da AOAC 935.43.

Plano de coleta de amostras

O plano de coleta de amostras está apresentado na Tabela 1. As amostras do queijo foram cortadas do centro para a extremidade.

Planejamento experimental

Foram realizados dois experimentos, para cada um, os três queijos foram produzidos a partir de um mesmo lote de leite termizado. No primeiro, a contaminação inicial de *Listeria innocua* no leite foi de aproximadamente 10² UFC.mL⁻¹ e no segundo, 10⁴ UFC.mL⁻¹.

Determinação da velocidade específica de crescimento de *L. innocua*

A velocidade específica de crescimento de um microrganismo é definida pela equação 1.

$$\text{Log } X = \text{Log } X_0 + \mu_{\text{máx}} \cdot t \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

X – Contagem de *L. innocua* durante a produção do queijo (UFC·g⁻¹)

X₀ – Contagem inicial de *L. innocua* no leite (UFC·g⁻¹)

μ_{máx} – Velocidade específica máxima de crescimento de *L. innocua* (h⁻¹)

O valor de μ_{máx} foi obtido a partir do coeficiente angular do ajuste linear de Log UFC/g em função do tempo de produção do queijo, multiplicado pelo fator 2,303.

Tabela 1 – Relação de coleta de amostras e análises realizadas

Tempo (h)	Amostragem	presença/enumeração de <i>Listeria</i> spp.	Análises físico-químicas (pH, acidez, atividade de água, teor de NaCl)
-	leite	x	pH e acidez
-	pingo	0	pH e acidez
0,8	massa após a coagulação	x	pH e acidez
1,5	início da 1ª salga	x	pH e acidez
6,0	3h após a 1ª salga	x	pH e acidez
12,0	6h após 1ª salga/ início da 2ª salga	x	pH e acidez
24,0	12h após início da 2ª salga/ 1º dia de maturação	x	x
168	7º dia de maturação	x	pH, Aw e teor de NaCl
312	13º dia de maturação	x	pH, Aw e teor de NaCl
504	21º dia de maturação	x	pH, Aw e teor de NaCl
984	41º dia de maturação	x	pH, Aw e teor de NaCl
1440	60º dia de maturação	x	pH, Aw e teor de NaCl

x - análise realizada e 0 – análise não realizada

Resultados e Discussão

Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas durante a produção dos queijos no primeiro e no segundo experimento estão apresentados na Tabelas 2.

Tabela 2 – Análises físico-químicas do experimento 1 durante as primeiras 24 horas.

Tempo (h)	pH	Acidez (% ác. láctico)	Aw	Teor de Cloreto (g NaCl. 100 g ⁻¹)
0,0	6,68 ± 0,00	0,17 ± 0,01	-	-
1,0	6,73 ± 0,01	0,12 ± 0,01	-	-
1,5	6,93 ± 0,01	0,11 ± 0,00	-	-
6,0	6,58 ± 0,00	0,12 ± 0,00	-	-
12,0	6,55 ± 0,03	0,16 ± 0,00	-	-
24	5,67 ± 0,01	0,75 ± 0,00	0,98 ± 0,00	1,63 ± 0,02

Tabela 3 – Análises físico-químicas do experimento 1 durante a maturação.

Tempo (dia)	pH	Aw	Teor de Cloreto (g NaCl. 100 g ⁻¹)
7	5,28 ± 0,01	0,96 ± 0,00	1,65 ± 0,04
13	5,26 ± 0,01	0,95 ± 0,00	1,89 ± 0,04
21	5,18 ± 0,00	0,95 ± 0,00	1,92 ± 0,05
41	5,13 ± 0,01	0,92 ± 0,00	2,03 ± 0,02
60	5,15 ± 0,01	0,91 ± 0,00	2,03 ± 0,03

Os resultados obtidos na Tabela 2 indicam uma tendência na diminuição do pH durante a maturação do queijo, sendo essa redução explicada pela ação das bactérias lácticas que ao fermentarem a lactose, liberam ácido láctico no meio. Conseqüentemente, os valores de acidez do produto aumentam. A atividade de água durante os 60 dias teve queda significativa, enquanto o teor de cloreto de sódio apresentou resultados crescentes, o que pode ser explicado pela perda de água para o ambiente que apresentava 65 % de umidade relativa e pelo equilíbrio osmótico, uma vez que o sal é transportado para o centro do queijo através do fenômeno da difusão.

Primeiro experimento

No primeiro experimento a contagem inicial de *L. innocua* no leite foi de $3,2 \cdot 10^2$ UFC.mL⁻¹. Os resultados das contagens de *L. innocua* durante a produção dos queijos e as equações das retas obtidas através de um ajuste linear estão apresentados na figura 1.

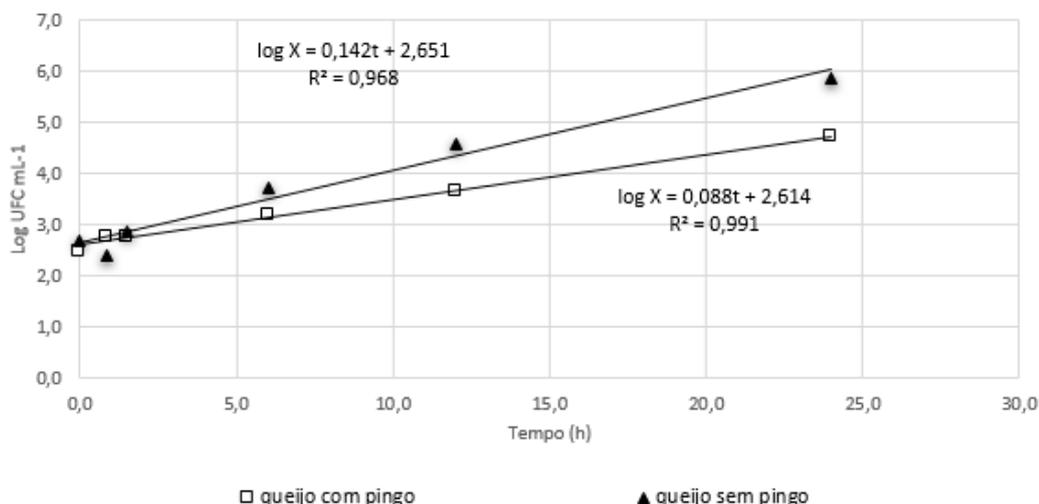


Figura 1 - Curva de crescimento da *L. innocua* durante o primeiro experimento

Observa-se na figura 1 que durante as primeiras 24 horas de produção do queijo houve um grande crescimento de *L. innocua*. Na produção sem pingo, a contagem atingiu 10^6 UFC.g⁻¹, enquanto no processo com pingo o número de *L. innocua* foi cerca de 1 Log UFC.g⁻¹ menor.

Os valores das constantes das equações lineares, obtidas a partir dos ajustes dos dados dos processos com e sem pingo estão apresentados na Tabela 3. Observa-se que a contagem inicial (X_0) do microrganismo, estimada pela equação, é muito próxima para os dois processos. Por outro lado, a velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) da *Listeria innocua*, é menor no processo com pingo, indicando que o fermento endógeno contribuiu para a inibição do crescimento do patógeno durante a produção do queijo. O valor do tempo de geração (θg) mostra que no processo com pingo a população da bactéria dobrou em 3,4 h, enquanto no processo sem pingo foram necessárias apenas 2,1 h.

Tabela 4 – Parâmetros obtidos a partir do ajuste linear do Log UFC.g⁻¹ em função do tempo.

	Queijo com pingo	Queijo sem pingo
log X₀ (UFC.mL⁻¹)	2,61	2,65
X₀ (UFC.mL⁻¹)	$4,11 \times 10^2$	$4,48 \times 10^2$
$\mu_{\text{máx}}$ (h⁻¹)	0,20	0,33
θg (h)	3,42	2,12

A Figura 2 mostra os resultados das contagens de *L. innocua* durante a maturação dos queijos, assim como o ajuste linear para a fase de morte celular.

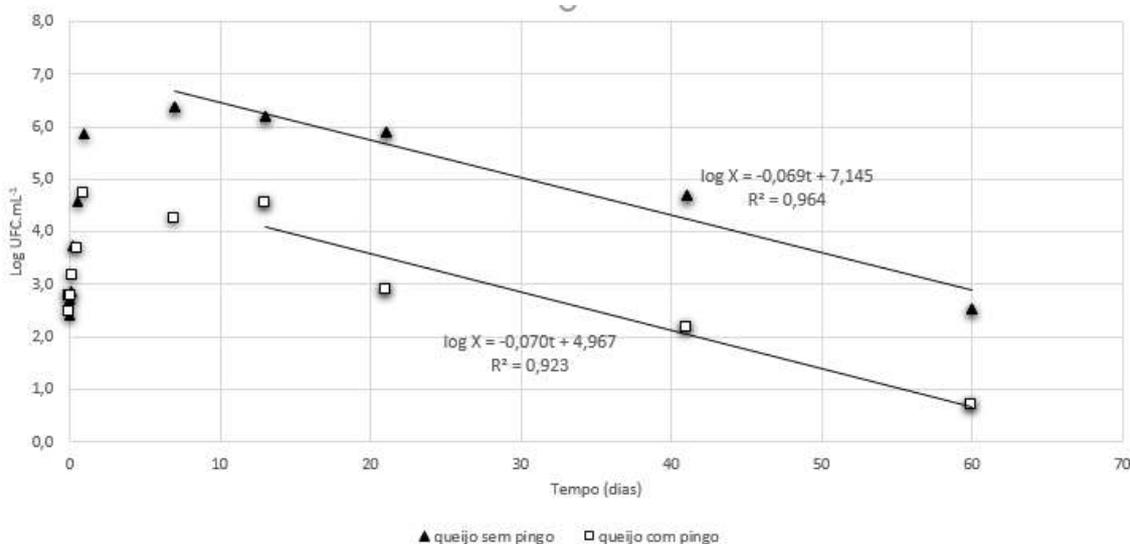


Figura 2 – Contagem de *L. innocua* durante a maturação dos queijos com e sem pingo.

Observa-se na figura 2 que a partir de sete dias de maturação, a contagem de *L. innocua* nos queijos passa a decair, atingindo em 60 dias valores abaixo de 1 Log UFC.g⁻¹ no queijo com pingo e 2,5 Log UFC.g⁻¹ no queijo sem pingo. O período de maturação do queijo pode ser considerado suficiente para manter a segurança do produto uma vez que os casos de listeriose relatados apresentaram doses infectantes variando de 10^3 a 10^9 UFC.g⁻¹ (Borges et al., 2009).

O ajuste linear dos dados a partir do 13º dia de maturação mostrou-se satisfatório, com coeficientes de determinação R^2 acima de 0,90. O valor de D (tempo de redução decimal), obtido pelo inverso do coeficiente angular das retas, não diferiu entre os queijos com e sem pingo (Tabela 4). Ambos os processos apresentaram o mesmo tempo (14 dias) para a redução de 1 log na população de *L. innocua*, indicando que a presença da cultura endógena não foi significativa para a inativação do patógeno. A redução do número de *Listeria* durante a

maturação pode ser associada à diminuição da atividade de água dos queijos durante a maturação, conforme se observa na Tabela 2.

Tabela 5 –Valor D para *L. innocua* durante a maturação dos queijo do primeiro experimento.

	Queijo com pingo	Queijo sem pingo
D (dias)	14	14
R²	0,92	0,96

Segundo experimento

No segundo experimento a contagem inicial de *L. innocua* no leite foi de $7,9 \cdot 10^3$ UFC.mL⁻¹. Os resultados das contagens de *Listeria innocua* durante a produção dos queijos e as equações das retas obtidas através de um ajuste linear estão apresentados na figura 3.

As equações das retas foram obtidas através de um ajuste linear e a velocidade específica determinada a partir do coeficiente angular.

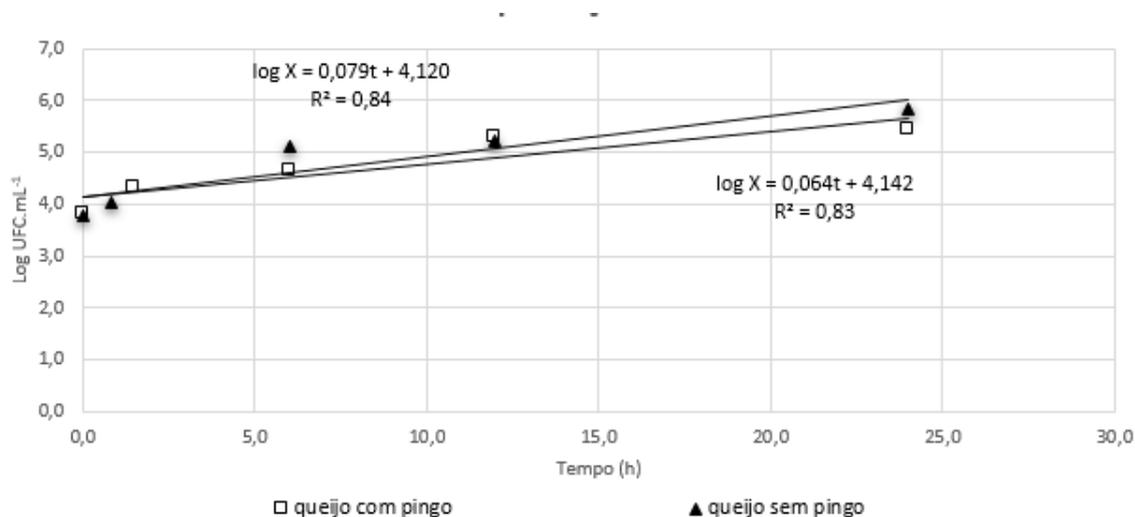


Figura 3 – Velocidade específica de crescimento da *L. innocua* durante o segundo experimento.

Observa-se na figura 3 que durante as primeiras 24 horas de produção do queijo houve um grande crescimento de *L. innocua*. Em ambos os ensaios a contagem atingiu valores próximos a 10^6 UFC.g⁻¹.

Os valores das constantes das equações lineares, obtidas a partir dos ajustes dos dados dos processos com e sem pingo estão apresentados na Tabela 5. Observa-se que a contagem inicial (X_0) do microrganismo, estimada pela equação, é muito próxima para os dois processos. Com X_0 na ordem de 10^4 UFC.mL⁻¹, a velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) da *Listeria innocua*, apresentou valores próximos nos queijos com e sem pingo, indicando que o fermento endógeno não contribuiu de maneira efetiva para a inibição do crescimento do patógeno durante a produção do queijo. Ainda assim, o valor do tempo de geração (θ_g) mostra que no processo com pingo a população da bactéria dobrou em 4,6 h, enquanto no processo sem pingo foram necessárias 3,9 h.

Tabela 6 - Valores de contaminação inicial, velocidade específica e tempo de geração da *L. innocua* no segundo experimento.

	Queijo com pingo	Queijo sem pingo
$\log x_0$ (UFC.mL ⁻¹)	4,14	4,12
x_0 (UFC.mL ⁻¹)	$1,39 \times 10^4$	$1,32 \times 10^4$
μ (h ⁻¹)	0,15	0,18
θ_g (h)	4,73	3,81

A Figura 4 mostra os resultados das contagens de *L. innocua* durante a maturação dos queijos até o 21º dia de maturação.

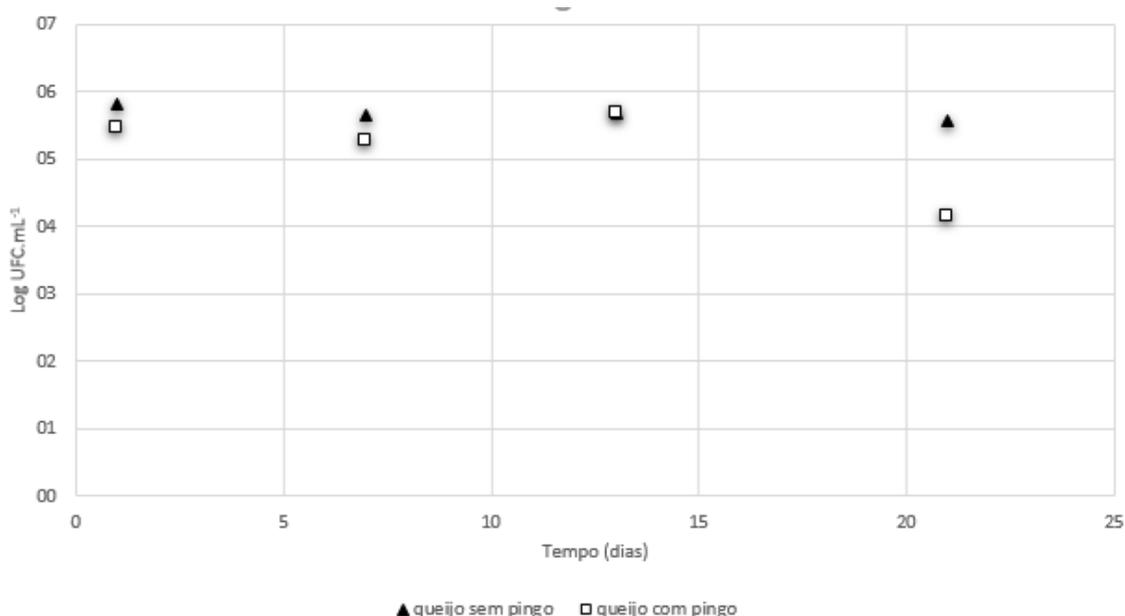


Figura 4 – Curva de declínio da *L. innocua* durante a maturação do queijo do segundo experimento.

Observa-se na figura 4 que a partir de 13 dias de maturação, a contagem de *L. innocua* no queijo com pingo passa a decair, atingindo em 21 dias valor próximo de 4 Log UFC.g⁻¹. O queijo sem o fermento endógeno, durante os 21 dias de maturação não apresentou tendência à diminuição de células de *Listeria*.

Com os dados da Figura 4 não foi possível ajustar um modelo linear para a determinação do valor de D (tempo de redução decimal). Para isso, seria necessário um tempo de maturação maior, visando uma queda na população do microrganismo para a obtenção de um produto seguro. Com 21 dias de maturação os queijos não apresentaram uma redução da contagem de *Listeria innocua* satisfatória, uma vez que ao simular uma contaminação com *L. monocytogenes* o produto só estaria seguro com quantidades menores que 10³ UFC.g⁻¹ (Borges, et al, 2009)

Conclusões

O crescimento de *L. innocua* ocorreu exponencialmente durante as primeiras 24 h do processo de produção de queijo artesanal.

O fermento endógeno contribuiu para a redução da velocidade de crescimento de *L. innocua* no queijo artesanal, apenas quando a contaminação inicial era baixa, próxima a 10^2 UFC·mL⁻¹.

O processo de maturação contribuiu para a redução da contagem de *L. innocua* nos queijos, principalmente devido a redução da atividade de água.

Utilizando *L. innocua* como referência para *L. monocytogenes*, foi necessário um período de maturação de aproximadamente 40 dias para atingir uma contagem de *Listeria* abaixo de 10^2 UFC.mL⁻¹, garantindo a segurança do queijo artesanal produzido com a adição de fermento endógeno.

Referências Bibliográficas

- Abram, M., Schluter, D., Vuckovic, D., Wraber, B., Doric, M., Deckert, M. Murine model of pregnancy-associated *Listeria monocytogenes* infection. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 2002
- APHA. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 5ª Ed., p. 432-433, 2015. Washington, DC.
- AOAC. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 18ª Ed., Cap 33, p.84-86, 2005. Gaithersburg, Maryland, USA.
- Borges, M.F., Andrade, A.P.C., Arcuri, E.F., Kabuki, D.Y., Kuaye, A.Y. *Listeria monocytogenes* em Leite e Produtos Lácteos. EMBRAPA, 2009. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/697483/1/Doc119.pdf>
- Dores, M.T., Ferreira, C.L.L.F. Queijo Minas Artesanal, Tradição Centenária: Ameaças e Desafios. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável* v.2, n.2, p.26 – 34, 2012. Minas Gerais.
- Duh, Y., Schaffner, D.W. Modeling de Effect of Temperature on the Growth Rate and Lag Time of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, v.56, n.03, p. 205-210. 1992.
- EMATER. Guia Técnico para a Implantação de Boas Práticas de Fabricação em Unidades de Produção do Queijo Minas Artesanal. 2009.
- Espíndola, J.C. Ocorrência de *Listeria sp.* em amostras de pescado e ambiente de indústria de processamento e comercialização de pescado do litoral de Santa Catarina. Universidade do Vale do Itajaí. 2004. Itajaí, SC.
- Food Safety. NEOGEN Corporation. PALCAM Agar Base. 2011. Disponível em: https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7669_pt_pi.pdf
- Laborclin. *Listeria* ALOA agar. 2018. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/ALOA.pdf>
- Liu, S., Puri, V.M., Demirci, A. Evaluation of *Listeria innocua* as a suitable indicator for replacing *Listeria monocytogenes* during ripening of Camembert cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 44, p.29-35. 2007.
- MAPA. Instrução Normativa N°30, de 7 de agosto de 2013. *Diário Oficial da União*. 2013
- Nero, L.A. *Listeria monocytogenes* e *Salmonella spp.* em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. 2005. São Paulo, SP
- Nóbrega, J.E. Caracterização do fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo Canastra no município de Medeiros, Minas Gerais, com ênfase em leveduras. 2007. Viçosa, MG.

- Ornelas, E.A., Cerqueira, M.O.P.S., Maria Crisolita C., Dias, R.S. Perfil enterotoxigênico de amostras de queijo minas artesanal produzidas na Serra da Canastra – MG. *Periódico Científico do Núcleo de Biociências*, v.02, n.04, 2012. Belo Horizonte, MG.
- Petran, R.I., Swanson, K.M.J. Simultaneous Growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *Journal of Food Protection*, v.56, n.07, p.616-618. 1992.
- Pinheiro, J.S. Maturação do Queijo Minas Artesanal: Comportamento de *Listeria monocytogenes*, Aceitação Sensorial e Predição do Tempo por Espectroscópio no Infravermelho. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 2018. Diamantina, MG.
- Santos, A.S. Queijo Minas Artesanal da Microrregião do Serro-MG: Efeito da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamento microbiológico durante a maturação. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 2010. Diamantina, MG.