

Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo minas frescal comercializados em Piracicaba - S.P.

Casarotti Vania T.¹, Gallo Claudio R.² y Camargo Rodolpho³

RESUMO. Amostras de leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo minas frescal foram analisadas para a presença de *Listeria monocytogenes* através de uma metodologia desenvolvida basicamente para produtos lácteos por Lovett (1) e revisada por Lovett & Hitchins (2).

Analisou-se um total de 20 amostras de cada produto de diferentes marcas comerciais, adquiridas em vários pontos de venda na cidade de Piracicaba, SP.

Segundo o padrão de amostragem e método adotados, não foi detectada a presença de *L. monocytogenes* ou outra espécie do gênero nas amostras analisadas dos referidos produtos. Foi possível observar diferenças no grau de seletividade dos meios seletivos utilizados, sendo que o ágar LPM foi superior ao MMA.

Com base na literatura e nos resultados obtidos, torna-se clara a necessidade de uma metodologia mais adequada para a detecção e isolamento de *L. monocytogenes* dos alimentos, tendo em vista que o patógeno pode apresentar-se em baixos números, no sentido de se obter resultados rápidos, seguros e reprodutíveis.

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*, leite cru, leite pasteurizado tipo C, queijo minas frescal.

SUMMARY. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, in raw milk, pasteurized C type milk and minas frescal cheese commercialized in Piracicaba - S.P. Samples of raw milk, pasteurized C type milk and minas frescal cheese were analyzed for the presence of *Listeria monocytogenes* by a method developed for dairy products by Lovett (1) and by Lovett & Hitchins (2).

A total of 20 samples of each product and from different commercial brands were analyzed, obtained from various retail stores in Piracicaba, SP.

According to the pattern of sampling and methodology adopted, none of the samples of the aforesaid products was positive for the presence of *L. monocytogenes* or another species of the genus. It was possible to observe differences in the degree of selectivity of the selective media utilized, notwithstanding the LPM agar showing to be superior to MMA.

Based on the literature and on the result obtained, becomes evident the need of a more suitable method for the detection and isolation of *L. monocytogenes* from foods, even when the pathogen appears in low numbers, with purpose to obtain rapid, reliable and reproducible results.

Key- words: *Listeria monocytogenes*, raw, milk, pasteurized type C milk, minas frescal cheese.

INTRODUÇÃO

Quando descrita pela primeira vez, *Listeria monocytogenes* foi considerada um patógeno de interesse veterinário. Posteriormente, a bactéria foi reconhecida como patogênica para o homem, e somente a partir da década de 80 e especialmente

nos últimos anos, foi considerada passível de ser veiculada por vários alimentos.

Sua ampla distribuição na natureza, a habilidade de multiplicação em temperaturas de refrigeração, a capacidade de sobrevivência durante longos períodos sob condições adversas, são algumas de suas características que revelam a grande importância de *L. monocytogenes* como um problema para as autoridades de saúde pública e para as indústrias de alimentos.

Os produtos lácteos têm se mostrado contaminados por *L. monocytogenes* (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), porém pode ser verificada uma variação importante nos resultados obtidos nos diferentes trabalhos, ressaltando-se que foram adotadas metodologias e planos de amostragens diferentes para a obtenção desses resultados. Segundo a literatura, quando *L.*

1 Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz» (ESALQ/USP).

2 Professor Doutor do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz» (ESALQ/USP).

3 Professor Titular do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz» (ESALQ/USP).

monocytogenes está presente nos alimentos, sua população é geralmente baixa, cerca de menos de 10^2 células/ml ou grama de alimento, sendo que muitas vezes, seu crescimento pode ser sobrepujado pela microflora acompanhante (14, 15, 16, 17), porém quando sob condições adequadas, o patógeno pode atingir altos níveis de população.

A listeriose é a enfermidade causada por *L. monocytogenes*, sendo que sua epidemiologia, dose infectante, mecanismo da doença, forma ou formas de transmissão da doença, são aspectos ainda pouco esclarecidos. Atualmente, assumiu-se que a doença seja transmitida ao homem principalmente por alimentos (18). Os sintomas primários da listeriose humana são meningite, aborto e septicemia. Os indivíduos pertencentes ao grupo de risco são mulheres grávidas, recém-nascidos, adultos com mais de 60 anos e indivíduos imunocomprometidos ou com câncer, cirrose, diabetes, doenças cardiovasculares ou renais (18, 19, 20).

No Brasil, ainda existem poucos trabalhos sobre a ocorrência do gênero e de suas espécies em alimentos, bem como dados referentes a casos de listeriose de origem alimentar.

Devido a surtos de listeriose humana de origem alimentar registrados na literatura (21, 22, 23, 24) e aos diferentes resultados obtidos nos estudos sobre ocorrência do patógeno, os procedimentos de detecção e enumeração de *L. monocytogenes* a partir dos alimentos, bem como o desenvolvimento de novos meios de cultura, vêm sendo bastante estudados. Tais procedimentos envolvem a exploração da natureza psicrotrófica do patógeno (25), bem como a incorporação de agentes seletivos aos meios de plaqueamento e aos meios de enriquecimento utilizados em um ou dois estágios. (1, 2, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34).

MATERIAIS E MÉTODOS

Durante um período de 4 meses (9 de março a 25 de junho de 1992) foram realizadas 6 coletas de amostras, totalizando 20 amostras de leite cru, 20 de leite pasteurizado tipo C e 20 de queijo minas frescal, comercializados em Piracicaba. Inicialmente foram coletadas uma amostra de cada produto, como ensaio preliminar.

As amostras de leite cru provenientes de produtores diferentes foram adquiridas junto à Cooperativa local em sacos plásticos de 1.000 ml. embalados pelo próprio produtor.

As amostras de queijo minas frescal de 5 marcas industriais diferentes e as amostras do mesmo produto, sem marca comercial e registro no S.I.F., bem como as amostras de leite pasteurizado tipo C de 6 marcas industriais diferentes, foram coletadas em suas embalagens originais.

Procurou-se adotar um padrão exequível tanto para o número e marcas industriais das amostras analisadas, com o para o número e categorias de estabelecimentos e produtores amostrados. Dessa forma, as amostras dos produtos em questão foram coletadas e analisadas com 3 a 4 repetições ao longo do período de análises, sendo as amostras de leite pasteurizado tipo

C e as de queijo minas frescal adquiridas à partir de estabelecimentos comerciais de pequeno, médio e grande portes.

Todas as amostras, após a aquisição, foram acondicionadas em recipientes isotérmicos com gelo picado e transportadas ao laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, sendo analisadas dentro de um período de 2 horas.

Para a detecção, isolamento e identificação de *Listeria monocytogenes* foi utilizada a metodologia sugerida pelo «Bureau of Food and Drug Administration» (FDA), desenvolvida basicamente para produtos lácteos, descrita na 6a. edição (supl. 9/87) do Bacteriological Analytical Manual por Lovett e posteriormente revisada por Lovett & Hitchins (2).

Alíquotas de 25g ou 25ml das amostras de leite bovino cru e pasteurizado tipo C e de queijo minas frescal, foram adicionadas a 225 ml do caldo de enriquecimento (EB), com incubação a 30°C. Às 24 horas e às 48 horas de incubação do EB, foram feitas estrias nos meios seletivos ágar McBride modificado (MMA) e ágar cloreto de lítio feniletanol moxalactam (LPM), sendo as placas dos respectivos meios incubadas a 30°C por um período de 48 horas. Após o período de incubação, as placas de MMA e LPM foram observadas para a presença de colônias típicas de *Listeria spp.*, sob luz transmitida num ângulo de 45° conforme adaptação do esquema descrito por McClain & Lee (29). As colônias de *Listeria spp.* sobre MMA devem apresentar-se verde azuladas e sobre LPM verde azuladas ou brancas.

Colônias suspeitas de serem do gênero *Listeria* foram selecionadas em número de 5, entre as placas de MMA e LPM, e purificadas em ágar tripticaseína de soja com 0.6% de extrato de levedura (TSA-YE), com posterior incubação a 30 °C por 24 a 48 horas.

Após a incubação das placas de TSA-YE, as mesmas foram observadas sob luz transmitida num ângulo de 45°, para a presença de colônias verde azuladas, características do gênero *Listeria* sobre o meio TSA-YE.

As colônias suspeitas de pertencerem ao gênero *Listeria* foram submetidas a testes de identificação a nível de gênero, no sentido de verificar resultados positivos quanto à: motilidade em tombamento em gota pendente; crescimento em forma de «guardachuva» em meio semi-sólido sulfito-indol-motilidade (SIM); morfologia e coloração de Gram; produção de catalase; produção de urease; produção de indol; produção de H₂S; produção de ácidos a partir de glicose, lactose e sacarose em ágar tríplice açúcar ferro (TSI); reação ao teste do vermelho de metila e Voges-Proskauer. Os testes bioquímicos a nível de espécie envolveram: redução de nitrato; produção de hemolisina em ágar sangue de cavalo; fermentação de xilose, ramnose e manitol em meio básico de púrpura de bromocresol; e teste da hemólise sinérgica do fator CAMP em ágar sangue de carneiro, sendo que os resultados a serem observados para cada espécie são apresentados na Tabela 1.

Os isolados obtidos à partir dos testes de identificação foram enviados à Fundação Instituto Oswaldo Cruz para caracterização sorológica.

TABELA 1
 CARACTERÍSTICAS DIFERENCIAIS DAS ESPÉCIES ACEITAS DO GÊNERO *LISTERIA*, *L. GRAYI*, *L. MURRAYI*.

Espécie	beta hemólise	NO ₃ /NO ₂	Ferm. MAN	Ferm RAM	Ferm. XIL	VM/VP	Pat. Camun. dongo	Camp. S. aureus	teste R. equi
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	-	+	-	=/+	+	+	-
<i>L. innocua</i>	-	-	-	v	-	+/+	-	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	-	-	+	+/+	+	-	+
<i>L. welshimeri</i>	-	-	-	v	+	+/+	-	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	-	-	+	+/+	-	+	-
<i>L. grayi</i>	-	-	+	-	-	+/+	-	-	-
<i>L. murrayi</i>	-	+	+	v	-	+/+	-	-	-

Fonte: Adaptado de Seeliger & Jones (35).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as análises das amostras de leite cru e pasteurizado e de queijo minas frescal, so longo do período de análises, segundo o método adotado, não foi detectada a presença de *L. monocytogenes* em nenhuma das 3 categorias de produtos lácteos, de diferentes procedências e marcas comerciais. Da mesma forma, não foi detectada a presença de nenhuma outra espécie de *Listeria* nas amostras analisadas como o método em questão.

Em relação às placas do ágar McBride modificado (MMA), foi possível observar, para as amostras de leite cru e queijo minas frescal, um crescimento intenso de colônias de colorações variadas (verde azuladas, levemente azuladas com brilho furtacor, cremes, brancas); sendo que para as amostras de leite pasteurizado, o crescimento observado variou de intenso a incipiente, porém sempre sensivelmente menor do que o crescimento observado para as placas referentes às análises das amostras de leite cru e queijo minas frescal.

Por outro lado, as placas do ágar cloreto de lítio feniletanol moxalactam (LPM) referentes às amostras de leite cru e queijo frescal, apresentaram-se em sua maioria, com crescimento variável, de intenso a nulo, de colônias brancas ou verde azuladas tendendo a brancas, e em menor escala, obteve-se algumas placas com crescimento variável de colônias amareladas. Para as amostras de leite pasteurizado, houve predomínio de placas de LPM sem crescimento algum e uma minoria de placas com crescimento fraco, sendo que tal crescimento foi sempre de colônias de uma única tonalidade, como predomínio de colônias brancas.

A partir dos meios seletivos MMA e LPM, foram selecionadas colônias suspeitas de pertencerem ao gênero *Listeria*, sendo as mesmas submetidas aos testes bioquímicos de identificação, não havendo confirmação a nível de gênero e espécie.

Quanto à seletividade dos meios MMA e LPM, utilizados neste estudo, foi possível verificar que o MMA é um meio pobre em seletividade, já que permitiu o desenvolvimento de uma variedade de colônias, dificultando a percepção e visualização das colônias suspeitas de *Listeria* spp., bem como pode ter contribuído para uma repressão de seu crescimento a níveis detectáveis. Ao mesmo tempo, observou-se uma superioridade do LPM sobre MMA, com relação à seletividade, pois embora tenha ocorrido crescimento de colônias de mais de um tipo de coloração sobre o LPM, isto se deu a partir de produtos de marcas comerciais diferentes, bem como de fases de análises e placas distintas.

A literatura registra alguns resultados variados a respeito das seletividades dos meios LPM e MMA, sendo que a maioria dos autores observaram baixo poder de recuperação de *L. monocytogenes* e baixa seletividade do MMA (26, 28, 34, 36, 37, 38). Quanto ao LPM, há autores que relatam não haver diferença aparente na performance de LPM e MMA (34), ou mesmo autores que relatam baixa seletividade (13, 28) e aqueles que descrevem alta seletividade e boa recuperação de *L. monocytogenes* (26, 34, 37, 40). Por outro lado, também foi observada certa inibição de *L. monocytogenes* sobre LPM (36, 38) ou mesmo de outras espécies do gênero (37, 40).

A fase de enriquecimento seletivo pode ser considerada de importância fundamental para o isolamento de *L. monocytogenes*, tendo em vista que o plaqueamento direto sobre meios considerados bastante seletivos como o ágar OXFORD, não permitiu a detecção do patógeno (12, 41) ou ainda, que o número de amostras positivas pode ser aumentado através da utilização de certos caldos de enriquecimento em 1 ou 2 estágios, com incubação dos mesmos por 48 horas e não somente por 24 horas, combinados com determinados meios seletivos (34, 42). De acordo com a literatura, a fase de enriquecimento deve dar condições para uma elevação da

população de listerías a níveis detectáveis, bem como reprimir o desenvolvimento da microflora presente no alimento, melhorando assim, a eficiência do plaqueamento seletivo. Os resultados obtidos neste estudo podem sustentar tais considerações, já que não foi detectada a presença do patógeno nos meios seletivos utilizados, ao mesmo tempo que recuperou-se uma variedade de outros tipos de colônias, principalmente sobre MMA.

De acordo com Lund et al. (34), a frequência de ocorrência de todas as espécies de *Listeria* pode ser dependente de fatores como, a metodologia utilizada para o isolamento, o número de células do patógeno presentes no alimento, a localização geográfica, o padrão de amostragem, a qualidade do leite. Ainda neste sentido, Slade (43) considera que o crescimento de *Listeria* spp. parece ser dependente de sua habilidade de superar com sucesso os microrganismos competidores durante o processo de seleção, que normalmente ocorre quando da utilização dos procedimentos de isolamento do patógeno.

O estabelecimento de uma relação comparativa entre os diversos trabalhos realizados sobre a ocorrência de *L. monocytogenes* em alimentos torna-se difícil, devido a variedade de métodos e padrões de amostragem utilizados para a obtenção dos resultados. O que se pode notar entre os vários resultados da literatura é a baixa incidência do patógeno numa amostragem elevada e vice-versa ou ainda, a incidência deste não corresponder a tais padrões. No nosso meio, tal dificuldade faz se notar ainda, pelo reduzido número de trabalhos sobre o assunto, aliado ao fato de que alguns dos alimentos analisados são produtos tipicamente brasileiros, como o queijo minas frescal.

Porém, a despeito das diferenças existentes entre os diversos trabalhos, os resultados obtidos neste estudo para a presença de *L. monocytogenes* nas amostras de leite cru, concordam com alguns daqueles encontrados na literatura para ausência de positividade (1, 4, 9, 11, 34, 44), ou mesmo, de certa forma, com aqueles que revelam uma baixa incidência, no sentido de refletirem a possibilidade de obtenção de ausência de positividade (7, 16, 45, 46).

A ausência de positividade para *L. monocytogenes* obtida para as amostras de leite pasteurizado concorda com a maioria dos trabalhos verificados na literatura (8, 11, 13, 47, 48). No caso das amostras de queijo minas frescal, a ausência de positividade para *L. monocytogenes* é conflitante com os resultados de Destro (11), que obteve 2 amostras positivas em 20 amostras do produto, analisadas através de uma modificação da metodologia proposta por McClain & Lee (29).

Em face dos resultados obtidos neste estudo, bem como da diversidade de relatos sobre os meios de enriquecimento e plaqueamento e dos resultados obtidos nos vários trabalhos realizados sobre a ocorrência de *L. monocytogenes* nos produtos lácteos, é evidente a necessidade de uma metodologia mais adequada para o isolamento do patógeno, mesmo em baixos números, no sentido de se obter resultados rápidos, seguros e reprodutíveis.

CONCLUSÕES

Não foi detectada a presença de *Listeria monocytogenes* ou nenhuma outra espécie do gênero, utilizando-se o método em questão para a análise das amostras de leite bovino cru, leite bovino pasteurizado tipo C e queijo minas frescal.

Os resultados corroboram com a literatura no sentido de que *L. monocytogenes* pode estar normalmente presente nos alimentos em baixas concentrações, ou que seu crescimento pode ser sobrepujado pela microflora acompanhante, tendo em vista a diversidade de colônias que cresceram nos meios seletivos utilizados, principalmente no MMA.

Nas análises das amostras de leite cru e queijo minas frescal, as placas de MMA e de LPM apresentaram-se com crescimento intenso e variável (de intenso a nulo) de colônias de colorações diversas, respectivamente.

Nas análises das amostras de leite pasteurizado tipo C, as placas de MMA e de LPM apresentaram-se com crescimento variável (de intenso a incipiente) e predominantemente sem crescimento algum de colônias de colorações diversas, respectivamente.

O meio LPM foi superior ao MMA, no que se refere à seletividade.

A comparação entre os resultados obtidos neste estudo e aqueles referidos na literatura torna-se difícil, tendo em vista a variedade de métodos, padrões de amostragens e principalmente resultados relatados nos diversos trabalhos.

REFERENCIAS

1. Lovett J. *Listeria* isolation. In: United States. Department of Health, Education and Welfare, Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 6. ed. Washington. Supl.9. 1984/87.
2. Lovett J. & Hitchins A.D. *Listeria* isolation, revised method of analysis. Federal Register, Washington, 53(211): 44148-53. Nov. 1988.
3. Dominguez-Rodriguez L.; Fernandez-Garayzaba, J.F.; Vasquez-Boland J.A.; Rodriguez-Ferri E.; Suarez-Fernandez G. Isolation de micro-organismes du genre *Listeria* à partir de la lait cru destiné à la consommation humaine. Canadian Journal of Microbiology, Ottawa, 31(10):938-41, Oct. 1985.
4. Stone D.L. A survey of reaw whole milk for *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica*. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology, Hamilton 22: 257-64, 1987.
5. Farber J.M.; Johnston M.A.; Purvis U.; Loitt A. Surveillance of soft and semi-soft cheeses for the presence of *Listeria* spp. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam 5(2):157-63, 1987.
6. Lovett J.; Francis D.W.; Hunt J.M. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity. Journal of Food Protection, Ames, 50(3):188-92, Marc. 1987.
7. Breer C & Schopfer K. *Listeria* and food. Lancet, Boston, 2:1022, 1988.
8. Faber J.M.; Sanders G.W.; Johnston M.A. A survey of various

- foods for the presence of *Listeria* species. Journal of Food Protection, Ames 52(7): 456-8, July 1989.
9. Massa S.; Cesaroni D.; Poda G.; Trovatielli L.D. The incidence of *Listeria* spp. in soft cheeses, butter and raw milk in the province of Bologna. Journal of Applied Bacteriology, Reading 68(2): 153-6, Feb. 1990.
 10. Genigeorgis C.; Toledo J.H.; Garayzabal F.J. Selected microbiological and chemical characteristics of illegally produced and marketed soft hispanic style cheeses in California. Journal of Food Protection, Ames, 54(8):598-601, Aug. 1991.
 11. Destro M.T. Isolamento de *Listeria* spp e estudo de sua ocorrência em carne, leite e derivados. Campinas, 73p. (Mestrado-Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP). 1990.
 12. Harvey J. & Gilmour A. Occurrence of *Listeria* species in raw milk and dairy products produces in Northern Ireland. Journal of Applied Bacteriology, Reading 72(2): 119-25, Feb. 1992.
 13. Moura S.M. Incidência de *Listeria* spp em amostras de leite cru e pasteurizado, tipos C e B, obtidas em uma usina de beneficiamento da cidade de São Paulo. São Paulo. 104p. (Mestrado-Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP). 1992.
 14. Lovett J. Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Food Technology, Champaign, 42(4):172-5, Apr. 1988a.
 15. Golden D.A.; Beuchat L.R.; Brackett R.E. Evaluation of selective direct plating media for their suitability to recover uninjured, heat-injured, and freeze-injured *Listeria monocytogenes* from food. Applied and Environmental Microbiology, Baltimore 54(6), June, 1988.
 16. Donnelly C.W.; Baigent G.J.; Briggs E.H. Flow cytometric for automated analysis of milk containing *Listeria monocytogenes*. Journal Association of Official Analytical Chemists. Arlington 71(3): 655-8 May/June. 1988.
 17. Bailey J.S.; Fletcher D.L.; Cox N.A. Effect of enrichment of *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, Ames, 53(6): 505-7, June, 1990.
 18. Farber J.M. & Peterkin P.I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. Microbiological Reviews, Baltimore, 53(3):476-511, Sept. 1991.
 19. Wehr H.M. *Listeria monocytogenes*: a current dilemma. Journal of Official Analytical Chemists, Arlington, 70(5):769-72. 1987.
 20. Marth E.H. Disease characteristics of *Listeria monocytogenes*. Food Technology, Champaign, 42(4): 165-8, Apr. 1988.
 21. Schlech W.F.; Levigne P.M.; Bortolussi R.A.; Allen A.C.; Haldane E.V.; Wort A.J.; Hightower A.W.; Johnson S.E.; King S.H.; Nicholls E.S.; Broome C.V. Epidemic listeriosis evidence for transmission by food. The New England Journal of Medicine, Waltham 308:203, 1983.
 22. Ho J.L.; Shands K.N.; Friedland G.; Ecking P.; Farser D.W. An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes*, infection involving patients from eight Boston hospitals. Archives of Internal Medicine, Chicago 146:520. 1986.
 23. McLauchlin J. *Listeria monocytogenes*, recent advances in the taxonomy and epidemiology of listeriosis in humans. Journal of Applied Bacteriology, Reading, 63(1):1-11, July 1987.
 24. Silliker J.H. New bacteria in the news: a special symposium *Listeria monocytogenes*. Food Technology, Champaign, 40(8):24. Aug. 1986.
 25. Gray M.L. & Killinger A.H. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. Bacteriological Reviews, Baltimore, 30(2):309-82, June 1986.
 26. Lee W.H. & McClain D. Improved *Listeria monocytogenes* selective agar. Applied and Environmental Microbiology, Baltimore 52(5):1215-7 Nov. 1986.
 27. Donnelly C.W. & Baigent G.J. Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. Applied and Environmental Microbiology, Baltimore, 52(4):689-95. Oct. 1986.
 28. Buchanan R.L.; Stahl H.G.; Archer D.L. Improved plating media for simplified, quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in foods. Food Microbiology, London 4(3):269-75, July 1987.
 29. MacClain D & Lee W.H. Development of USDA-FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. Journal Association of Official Analytical Chemists, Arlington 71(3):660-4, 1988.
 30. Van Netten P.; Van de Ven A.; Perales I.; Mossel D.A.A. A selective and diagnostic medium for use in the enumeration of *Listeria* spp in foods. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam 6:187-8. 1988b.
 31. Van Netten P.; Perales I.; Mossel D.A.A. An improved selective and diagnostic medium for isolation and counting of *Listeria* spp. in heavily contaminated foods. Letters in Applied Microbiology, Oxford 7(1):17-21, July 1988a.
 32. McClain D. & Lee W.H. FSIS method for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from processed meat and poultry products. Beltsville, USDA/FSIS/Microbiology Division, 1989. 12p. (Laboratory Communication 57).
 33. Curtis G.D.W.; Mitchell R.G.; King A.F.; Griffin E.J. A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology, Oxford, 8(3): 95-8, Mar. 1989.
 34. Lund A.M.; Zottola E.A.; Puch D.J. Comparison of methods for isolation of *Listeria* from raw milk. Journal of Food Protection, Ames, 54(8):602-6, Aug. 1991.
 35. Seeligeri H.P.R. & Jones D. Genus *Listeria*. In: Sneath P.H.A.; Mair N.S.; Sharpe M.E. ed. Bergey's manual of systematic bacteriology. 9ed. Baltimore, Williams & Wilkins, V. p. 1235-45. 1986.
 36. Swaminathan B.; Hayes P.S.; Przybyszewski V.A.; Plikaytis B.D. Evaluation of enrichment and plating media for isolating *Listeria monocytogenes*. Journal Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 71(3): 684-8. 1988.
 37. Fernández-Garayzabal J. & Genigeorges C. Quantitative evaluation of three selective enrichment broth and agars used in recovering *Listeria* microorganisms. Journal of Food Protection, Ames 53(2): 105-10. Feb. 1990.
 38. Tiwari N.P. & Aldenrath S.G. Isolatin of *Listeria monocytogenes* from food products on four selective plating media. Journal of Food Protection, Ames 53(5): 382-5, May 1990.
 39. Lovett J. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in dairy products. Journal Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 71(3):658-60, 1988b.
 40. Loessner M.J.; Bell R.H.; Jay J.M.; Shelef L.A. Comparison of seven plating media for enumeration of *Listeria* spp. Applied and Environmental Microbiology, Baltimore 54(12): 3003-7. Dec. 1988.
 41. Buazzi M.M.; Johnson M.E.; Marth E.H. Survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Swiss cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, 75(2):380-6, Feb. 1992.

42. Warburton D.W.; Farber J.M.; Powell C.; Tiwari N.P.; Read S.; Plante R.; Babiuk T.; Laffey P.; Kauri T.; Mayers P.; Champagne M.J.; Hunt T.; La Casse P.; Viet K.; Smando R.; Coates F. Comparison of methods for optimum detection of stressed and low levels of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, London 9(2): 127-45. June 1992.
43. Slade P.J. Monitoring *Listeria* in the food production environment. III. Typing methodology. *Food Research International*, Ottawa, 25(3): 215-25. 1992.
44. Ortíz de Urbina E.; Tapia de Daza M.S.; Miranda Pérez L.D. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en productos lácteos de alto consumo en la región de Cojedes. In: Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de los Alimentos, 3, Montevideo 1992. Resúmenes. Montevideo, Subcomite Latinoamericano de Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos p. 90. 1992.
45. Farber J.M.; Sanders G.W.; Malcom, S.A. The presence of *Listeria* spp in raw milk in Ontario. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, 34(2): 95-100. Feb. 1988.
46. Davidson J.D.; Sprung D.W.; Park C.E.; Rayman M.K. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp and *Yersinia enterocolitica* in Manitoba raw milk. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, Ottawa, 22(1):70-4, Feb. 1989.
47. Papageorgiou, D.K. & Marth E.H. Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Blue cheese. *Journal of Food Protection*, Ames, 52(7): 459-65, July 1989b.
48. Lovett J.; Wesley I.V.; Vandermaaten M.J.; Bradshaw J.G.; Francis D.W.; Crawford R.G.; Donnelly C.W.; Messer J.W. High-temperature short-time pasteurization inactivates *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, Ames, 53(9):734-8, Sept. 1990.

Recibido: 10-12-1993

Aceptado: 18-05-1994