

Artículo original

Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración

Gabriela Castro-Castillo, Francisco Ernesto Martínez-Castañeda, Ángel Roberto Martínez-Campos, Angélica Espinoza-Ortega*

Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales, Universidad Autónoma del Estado de México.

Recibido 5 de julio de 2013; aceptado 26 de septiembre de 2013

Resumen: El queso Oaxaca tradicional goza de gran reconocimiento y consumo a nivel nacional, al ser elaborado con leche cruda de vaca es considerado como factor de riesgo para la salud, sin embargo, contiene flora natural no patógena como las bacterias lácticas (BAL), que le proporciona características extraordinarias y su reconocida tipicidad siendo importante su caracterización. Se realizó el conteo, aislamiento y caracterización fenotípica (pruebas morfológicas, bioquímicas, factores de crecimiento y fermentación) de coliformes totales, BAL, levaduras y *Staphylococcus* spp. en las etapas de leche, cuajada y queso. Todos los recuentos se encontraron fuera de la normativa mexicana (NOM-243-SSA1-2010); se observó diferencia ($p < 0,05$) entre la etapa de leche y queso para coliformes totales, BAL y levaduras. Se aislaron 43 cepas de BAL, 38 de coliformes, 24 de levaduras y 16 de *Staphylococcus* spp. El 72,1% de las BAL correspondió al género *Lactococcus* y el 27,9% a *Lactobacillus*, se detectó la presencia de *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Rhodotorula* spp. Los resultados muestran deficientes prácticas de higiene en la elaboración de queso Oaxaca, siendo importante la identificación de la microbiota autóctona y monitoreo en toda la cadena productiva a fin de obtener un producto artesanal inocuo y de mejor calidad.

Palabras clave: queso Oaxaca, pasta hilada, inocuidad, coliformes, bacterias ácido lácticas, *Staphylococcus*.

Characterization of the native microflora of traditional Oaxaca cheese in three phases of production

Abstract: The traditional Oaxaca cheese is highly regarded nationally and its consumption, being made from raw cow's milk is considered as a risk factor to health, however is nonpathogenic natural flora and lactic acid bacteria (LAB), which provides unique characteristics and typicality recognized to be important characterization. Count was performed, isolation and phenotypic characterization (morphological and biochemical tests, growth factors and fermentation) of total coliforms, LAB, yeasts and *Staphylococcus* in the stages of milk, curd and cheese. All counts were found outside Mexican standards (NOM-243-SSA1-2010), was difference ($p < 0.05$) between the stage of milk and cheese for total coliforms, LAB and yeasts. 43 strains were isolated from BAL, coliform 38, 24 yeasts, and 16 *Staphylococcus*. The 72.1% of the BAL corresponded to the genus *Lactococcus* and 27.9% for *Lactobacillus*, we detected the presence of *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Rhodotorula* spp. The results show poor hygiene practices in Oaxaca cheese making and it is important to identify the indigenous microbiota and monitoring throughout the production chain in order to get a handmade product safe and of better quality.

Keywords: Oaxaca cheese, filata paste, safety, coliforms, lactic acid bacteria, *Staphylococcus*.

* Correspondencia:

E-mail: angelica_cihuatl@yahoo.com.mx

Introducción

La leche constituye un excelente sustrato para la proliferación de microorganismos debido a su alto contenido de nutrientes, por ello, es de importancia fundamental determinar la calidad higiénica y sanitaria de la leche y sus derivados, entre ellos el queso, por ser uno de los productos

de mayor consumo. El queso Oaxaca liga su nombre al estado de Oaxaca que es su lugar de origen, aunque en dicho estado se conoce como “quesillo” y en el resto del país como queso Oaxaca. Este queso goza de gran popularidad y es uno de los quesos más consumidos a nivel nacional dentro de la cocina mexicana. Es un queso blanco, fresco, de pasta hilada y de sabor ligeramente ácido [1]. A nivel artesanal,

el queso Oaxaca se caracteriza por ser elaborado con leche cruda de vaca, sin la adición de cultivos iniciadores, la leche se deja acidificar naturalmente o se añade leche ácida del día anterior antes de cuajarla, la cuajada se corta manualmente y se deja acidificar, posteriormente es amasada en agua caliente a 60 °C y estirada para formar largas hebras de paredes lisas, brillantes, que se entrelazan para hacer una bola de queso [2,3]. Debido a que el proceso artesanal se caracteriza por el empleo de leche cruda, utensilios rústicos, un entorno rural y la falta de tecnología para llevar a cabo un control estricto de los parámetros del proceso, es por lo que los quesos artesanales son asociados con lo sucio y representan un riesgo para la salud [4]. Ante esta situación, en 2010 entró en vigor la normativa NOM-243-SSA1-2010, que establece que todo queso deberá elaborarse con leche pasteurizada, para asegurar la inocuidad y limpieza del producto [5]: sin embargo, diversas investigaciones han demostrado que la microbiota autóctona de la leche incluye microorganismos no patógenos como las bacterias ácido lácticas (BAL) que con su actividad metabólica brindan características bioquímicas, microbiológicas y sensoriales a los quesos, haciéndolos auténticos y otorgándoles su reconocida tipicidad [6]. En México existen alrededor de 40 variedades de quesos tradicionales por lo que el potencial de caracterización es muy amplio, Ante esto surge la necesidad de revalorizar y caracterizar fisicoquímica, sensorial y microbiológicamente los quesos genuinos mexicanos al ser un patrimonio cultural. El objetivo del trabajo fue aislar y caracterizar la microbiota presente en las etapas de elaboración del queso Oaxaca tradicional: leche, cuajada y queso.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó durante el periodo de agosto a noviembre de 2011, en cuatro queserías tradicionales del centro de México, analizándose 26 muestras en cada fase (leche, cuajada y queso). Las muestras se depositaron en frascos de vidrio estériles, se etiquetaron y fueron transportadas bajo condiciones de refrigeración a 4 °C para su posterior análisis [5]. Se midió el pH de las muestras con un potenciómetro marca Orion 520A, con la metodología de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [7], el análisis se realizó por triplicado.

Análisis microbianos: Se realizaron diluciones seriadas colocando 10 mL de leche y 10 g de cuajada o queso en 90 mL de solución peptonada, se homogeneizaron durante un minuto en una licuadora doméstica y a partir de ésta se realizaron diluciones decimales consecutivas, en solución de NaCl 0.9%, las diluciones fueron sembradas por duplicado, de acuerdo a la normativa NOM-243-SSA1-2010 [5] y la norma oficial mexicana NOM-110-SSA1-1994 [8]. El análisis comprendió los conteos de bacterias coliformes totales, sembrados por vertido en placa en agar rojo bilis violeta incubados a 35 °C por 24 h, BAL a través de cuenta directa en medio agar M.R.S. incubando a 35 °C durante

48 h, mohos y levaduras, en agar dextrosa papa a 28 °C durante 72 h y *Staphylococcus* spp., por extensión en agar Baird Parker enriquecido con emulsión de yema de huevo con telurito de potasio, incubado a 35 °C durante 48 h [5,6] Se realizaron los conteos microbianos y los cálculos para obtener las unidades formadoras de colonia por mililitro o gramo.

Aislamiento y purificación de cepas: Se seleccionaron cinco colonias con diferentes características como tamaño, color, forma, etc. representativas para cada grupo microbiano, las BAL se cultivaron en caldo Elliker (Biokar®) y M.R.S. (Difco™) incubando a 35 °C durante toda la noche, los coliformes y *Staphylococcus* spp. en caldo nutritivo (Bioxon®) a 37 °C y las levaduras en caldo dextrosa papa (MCD®) a 28 °C. Las cepas bacterianas se sometieron a las pruebas de Gram, catalasa y oxidasa y las levaduras fueron teñidas con azul de metileno. La purificación se realizó mediante pases sucesivos en caldo y posteriormente por el método de estría cruzada en el agar correspondiente, las cepas fueron preservadas en agar con glicerol a -70 °C hasta su posterior utilización [9].

Pruebas selectivas: Se evaluó el crecimiento de las BAL, en caldo M.R.S. incubados a temperaturas de: 10 °C, 15 °C y 40 °C, la formación de CO₂ en campana de Durham a 37 °C por 48 h y resistencia a 2%, 4% y 6,5% de NaCl [6]. Se seleccionaron colonias sospechosas de *E. coli* y se sembraron por estría en agar eosina azul de metileno (EMB) incubadas a 37 °C durante 24 h. A las colonias oscuras con brillo metálico típicas de *E. coli*, se les realizaron las pruebas bioquímicas de indol (I), rojo de metilo (RM), Voges-Proskauer (VP) y citrato (C). Todos los tubos se prepararon por duplicado y se incubaron a 37 °C por 24 h, incluyendo tubos sin inocular (testigos) en cada una de las pruebas bioquímicas. La presencia de *Staphylococcus aureus* se determinó mediante la prueba de coagulasa con plasma de conejo estéril con EDTA, incubando a 35 °C durante 24 h, (NOM-243-SSA1-2010) [5].

Análisis estadístico: Los conteos fueron transformados a log₁₀ UFC/g según el caso. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) entre las diferentes poblaciones microbianas obtenidas en las etapas estudiadas. Las diferencias estadísticas se analizaron mediante la prueba de Tukey (p<0,05) utilizando el programa estadístico SAS versión 9.0.

Resultados y discusión

Medición de pH: El valor promedio de pH fue de 6,8 en leche, 5,6 en cuajada y 5,3 en queso; estos valores concuerdan con los obtenidos en el análisis fisicoquímico del queso Oaxaca realizado por otros autores [2,3] quienes reportan que los productores de queso Oaxaca prefieren la leche con mayor acidez para agilizar el proceso de elaboración.

En los quesos de pasta hilada se requiere de un pH óptimo

de 4,9 a 5,4 para la fundición de la cuajada, obteniendo un queso ácido como el Mozzarella con pH de 5,0-5,8 o el Oaxaca con pH de 5,2-5,6 [10,11].

Conteos microbianos: Los recuentos microbianos analizados en leche, cuajada y queso se muestran en la tabla 1. El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) para leche y queso con respecto al número de bacterias coliformes totales, BAL y levaduras; *Staphylococcus* spp. no presentó diferencia entre las fases analizadas.

Tabla 1. Recuentos (\log_{10} UFC/g), microbianos en leche, cuajada y queso Oaxaca tradicional.

Grupo microbiano	Leche	Cuajada	Queso
Coliformes	8,3±0,8 ^b	8,8±0,8 ^{ab}	9,0±0,9 ^a
Bacterias lácticas	8,9±0,7 ^b	9,4±0,7 ^a	9,8±0,8 ^a
Levaduras	9,0±0,9 ^b	9,5±0,9 ^{ab}	9,9±0,9 ^a
<i>Staphylococcus</i>	8,6±0,6 ^a	8,5±0,5 ^a	9,0±0,7 ^a

Media ± desviación estándar.

a,b letras diferentes en la misma fila, indican diferencias Tukey ($p < 0,05$).

Los valores de coliformes totales en leche se encontraron en el nivel reportado por otros autores para leche cruda destinada a la elaboración de quesos frescos tradicionales en la zona de estudio [12], su persistencia en cuajada se debe a que ésta se expone al medio ambiente a una temperatura entre 35 y 37 °C que resulta óptima para el crecimiento bacteriano [1] y los valores en queso fueron superiores a los reportados en la evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales de Perú [13]. El elevado conteo de coliformes indica prácticas sanitarias deficientes en la fabricación del queso y puede relacionarse con un riesgo mayor para la salud por la transmisión de patógenos entéricos [14].

Los conteos de BAL se incrementaron en la fase de cuajada y se observó prevalencia de flora láctica en queso, estos resultados coinciden con los reportados por otros autores para quesos elaborados con cultivos iniciadores y leches fermentadas donde las BAL tuvieron conteos elevados [15], situación deseada puesto que las perspectivas para la aplicación de las BAL en la industria de los alimentos son prometedoras debido a que les confieren características organolépticas deseables y desempeñan una función conservadora mediante la producción de metabolitos que inhiben el desarrollo de bacterias alterantes y patógenas, siendo reconocidas por la FDA (Food and Drug Administration) por sus beneficios a la salud humana [16].

Las levaduras fueron el grupo microbiano predominante en las tres etapas analizadas, los conteos más elevados se encontraron en queso, resultado que llama la atención por ser un queso fresco; de acuerdo a varios autores, es más común la prevalencia de levaduras en quesos artesanales madurados o con periodos prolongados de refrigeración [17], sin embargo, las levaduras poseen determinadas

características que les permiten crecer y contaminar los productos lácteos al estar presentes en el ambiente agropecuario encontrándose en la leche, el microambiente de la quesería y temperaturas manejadas en el proceso de elaboración. Orberá [18] establece que la flora levaduriforme es muy específica en cada quesería y se piensa contribuye al bouquet específico del producto, situación observada en las queserías estudiadas que manejan temperaturas alrededor de los 30 °C, un ambiente húmedo y además, el queso brinda un medio ácido que permite su desarrollo. Algunos autores consideran que las levaduras no producen enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), pero pueden causar deterioro en el producto.

Staphylococcus spp. fue el recuento más bajo de los grupos analizados, no obstante la presencia de este grupo microbiano indica serias fallas en las condiciones higiénico-sanitarias de las queserías estudiadas, debido a las malas prácticas de manipulación en el ordeño, recolección y transporte de leche, refrigeración inadecuada o falta de ella en la leche y queso [12]. Estos resultados coinciden con lo reportado en otros trabajos de quesos artesanales elaborados con leche cruda de vaca, como el queso Fiore Sardo, donde los conteos de *Staphylococcus* spp. en leche y queso fueron superiores a los establecidos por la normativa italiana [19], el mayor riesgo atribuido a estos quesos reside en que se comercializan frescos, con tiempo insuficiente o sin maduración para permitir que las bacterias lácticas naturalmente presentes sean capaces de producir una adecuada concentración de ácido láctico y actuar como biopreservantes [6].

Todos los valores microbianos obtenidos superan ampliamente los límites máximos permitidos por la NOM-243-SSA1-2010 en leche y queso: 100 UFC/g para coliformes, 500 UFC/g para levaduras y 1000 UFC/g para *Staphylococcus* spp. La norma no especifica la determinación de bacterias lácticas por ser considerados microorganismos deseables [5].

Aislamiento de poblaciones microbianas: Se aislaron y purificaron 38 cepas de coliformes (leche=10, cuajada=9, queso=19); 43 de BAL (leche=7, cuajada=9, queso=27), 24 de levaduras (leche=5, cuajada=5, queso=14) y 16 de *Staphylococcus* spp. (leche=3, cuajada=4, queso=9). La mayoría de las cepas fueron aisladas de las muestras de queso Oaxaca, seguido de cuajada y en menor número de la fase de leche.

De las 43 cepas aisladas de BAL el 72,1% (n=31) pertenece al género *Lactococcus* y 27,9% (n=12) a *Lactobacillus* de acuerdo a los perfiles bioquímicos realizados (Tabla 2), resultados similares a los obtenidos en la caracterización del queso venezolano andino artesanal, queso fresco elaborado con leche cruda de vaca [20]. Muchos estudios reportan a los géneros *Lactobacillus* y *Lactococcus* como la principal flora láctica de leche y quesos frescos elaborados con leche cruda de vaca [21]. Recientemente se ha demostrado su significancia tecnológica por su actividad antimicrobiana relevante contra patógenos y son reconocidos como cultivos

Tabla 2. Identificación bioquímica de las BAL aisladas.

Grupo microbiano identificado	<i>Lactococcus</i> n=31	<i>Lactobacillus</i> n=12
Gram	+	+
Catalasa	-	-
Oxidasa	-	-
Crecimiento a 10 °C	+	-
Crecimiento a 15 °C	+	+
Crecimiento a 40 °C	+	+
Producción de CO ₂ a partir de glucosa	+	+
Crecimiento a 2% de NaCl	+	+
Crecimiento a 4% de NaCl	+	+
Crecimiento a 6,5% de NaCl	-	+

+, Reacción positiva. -, Reacción negativa.

iniciadores influyentes de la calidad alimentaria [22].

La presencia de *E. coli* fue del 10,5% (n=4) del total de las 38 cepas pertenecientes a coliformes, una aislada de leche, una de cuajada y dos de queso. De acuerdo con Pisano [19] es la especie más comúnmente aislada en leche cruda y queso seguida de *Klebsiella* y *Listeria*. Los resultados obtenidos fueron inferiores a los reportados en queso artesanal argentino donde *E. coli* se detectó en el 80% de los quesos [4], situación de importancia por sus conocidas implicaciones en la salud.

Staphylococcus aureus representó el 37,5% (n=6) de las 16 cepas aisladas, dos cepas correspondieron a leche, una a cuajada y tres de queso. Estos microorganismos se atribuyen a la leche de vacas con mastitis siendo *S. aureus* el agente causal de dicha enfermedad, a la deficiencia en las buenas prácticas de manufactura en quesería por el contacto con la piel, la boca o fosas nasales de quienes manipulan el queso, y el empleo de material y equipo de trabajo no desinfectado [23]. Los valores obtenidos son inferiores al 53,4% reportado en queso fresco artesanal de Brasil [24]. Su conteo tiene gran relevancia por la posible presencia de enterotoxina estafilocócica, capaz de provocar intoxicaciones alimentarias [25].

Dentro del grupo de levaduras analizadas, se observó la presencia predominante del género *Rhodotorula*, resultados que concuerdan con otros trabajos donde se reportan estas características levaduras rosadas o rojas. Este género es de gran importancia en la industria farmacéutica por los pigmentos carotenoides presentes que le confieren colores característicos a las colonias y protección contra efectos dañinos de la radiación UV. Esta levadura es simbionte normal de la piel y tracto respiratorio superior, posee una amplia distribución en la naturaleza y presenta una asombrosa capacidad de adaptarse a ambientes extremos siendo considerada como levadura emergente asociada a micosis oportunistas en pacientes inmunodeprimidos [26].

De acuerdo con estudios en queso Cotija es contaminante del ambiente quesero junto con otras especies como *Candida zeylanoides*, *Candida parapsilosis* y *Kluyveromyces lactis* [27] y sus efectos radican en la producción de olores y sabores amargos en el queso, además de contribuir al defecto del producto por las enzimas producidas [28].

Cabe mencionar que la flora microbiana no deseada encontrada en el queso Oaxaca está íntimamente ligada a tres factores:

- Las condiciones de las queserías, puesto que la infraestructura con que cuentan es muy básica, son pequeñas habitaciones de 30 m² con piso, paredes y techos de concreto, el equipo utilizado es de madera, plástico y sólo algunas cuentan con acero inoxidable.
- Excesiva manipulación, porque todo el proceso de elaboraciones completamente manual desde la recepción de leche hasta el queso terminado, características propias del proceso artesanal de elaboración [29].
- Deficiencia en las buenas prácticas de manufactura, aunque existe un conocimiento de buenas prácticas de manufactura, sin embargo no se llevan de manera adecuada, no hay un acceso restringido a la zona de producción de queso, el uso inadecuado de la vestimenta. En la materia prima no hay un monitoreo, se reportan adulteraciones, transporte inadecuado en tambores de plástico, bajo condiciones precarias de higiene y refrigeración [12].

Conclusiones

La metodología utilizada en este trabajo indicó que la flora láctica está formada principalmente por los géneros *Lactococcus* y *Lactobacillus*, resultados relevantes debido a la gran actividad probiótica y antimicrobiana de las BAL contra bacterias patógenas, contribuyendo a la obtención de un producto artesanal de mejor calidad.

Se detectó *E. coli* y *S. aureus* con mayor incidencia en las muestras de queso y en levaduras destacó el género *Rhodotorula*.

Es importante realizar estudios de identificación de especie, mediante técnicas moleculares para determinar la presencia de microorganismos que pudiesen causar alguna patología, que comprometa la salud pública por el consumo de ese tipo de queso y es imprescindible implementar un plan de control y monitoreo en toda la cadena de elaboración de queso Oaxaca, a fin de eliminar focos de contaminación para la obtención de un producto artesanal de mejor calidad.

Agradecimientos

Agradecimiento al proyecto “Programa de desarrollo en la integración y agregación de valor en los eslabones de la cadena productiva caso quesos mexicanos genuinos”, financiado por SAGARPA-CONACyT, Clave 1928/2011C, a los productores de queso Oaxaca de la zona de estudio por su colaboración, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de estudios de

posgrado y al Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales de la UAEM.

Referencias

- Villegas de Gante A. Dos famosos quesos de pasta hilada: el Oaxaca y el Mozzarella. Revista Carnilac Industrial. 2004; October–November. 21–31.
- De Oca-Flores EM, Castelan-Ortega OA, Estrada-Flores J, Espinoza-Ortega A. Oaxaca cheese: Manufacture process and physicochemical characteristics. Int J of Dairy Technol. 2009; 62:535-40.
- Villanueva-Carvajal A, Esteban-Chávez M, Espinoza-Ortega A, Arriaga-Jordán CM, Dominguez-Lopez A. Oaxaca cheese: flavour, texture and their interaction in a Mexican traditional pasta filata type cheese. J Food. 2012; 10:63-70.
- Vasek OM, Cabrera R, Coronel GJ, De Giori GS, Fusco AJV. Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). FACENA. 2004; 20:13-22.
- NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Secretaría de Salud. México, D.F. México. 2010.
- Cogan TM, Barbosa M, Beuvoir E, Bianchi-Salvadori B, Coconcelli PS, Fernandes I, Gómez J, Gómez R, Kalantzopoulos G. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. J Dairy Res. 1997; 64:409-21.
- Horwitz W, Latimer GW. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 19th ed. USA; Arlington VA; 2012.
- NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaría de Salud. México, D.F. México. 1994.
- Centeno J, Cepeda A, Rodríguez-Otero JL. Lactic acid bacteria isolated from Arzu' a cows' milk cheese. Int Dairy J. 1996; 6:65-78.
- Ercolini D, Mauriello G, Blaiotta G, Moschetti G, Coppola S. PCR-DGGE fingerprints of microbial succession during a manufacture of traditional water buffalo mozzarella cheese. J Appl Microbiol. 2004; 96:263-70.
- Metzger LE, Barbano DM, Rudan MA, Kindstedt PS, Guo MR. Whiteness change during heating and cooling of mozzarella cheese. J Dairy Sci. 2000; 83:1-10.
- Vázquez FC, Espinoza VE, Castelan OOA, Espinoza OA. Microbiological quality of artisan made Mexican Botanero cheese in the central highlands. J Food Safety. 2009; 30:40–50.
- Cristóbal LR, Maurtua TDJ. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. Rev Panam Salud Pub. 2003; 14:158-64.
- Sandrou DK, Arvanitoyannis IS. Application of hazard analysis critical control point (HACCP) system to the cheese-making industry: a review. Food Rev Int. 2000; 16:460-7.
- Savadogo A, Ouattara CAT, Savadogo AW, Ouattara AS, Barro N, Traore AS. Microorganisms involved in Fulani traditional fermented milk in Burkina Faso. Pak. J. Nutr. 2004; 3:134-9.
- Messens W, De Vuyst L. Inhibitory substances produced by Lactobacilli isolated from sourdoughs—a review. Int J Food Microbiol. 2002; 72:31-43.
- Lopandica K, Zelgerb S, Bańszkyc LK, Eliskases-Lechner F. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. Food Microbiol. 2006; 23:341-50.
- Orberá RT. Acción prejudicial de las levaduras sobre los alimentos. Rev Cub Salud Pub. 2004; 30:54-7.
- Pisano BM, Fadda EM, De Plano M, Corda A, Consentino A. Microbiological and chemical characterization of Fiore Sardo, a traditional Sardinian cheese made from ewe's milk. Soc. Dairy Technol. 2006; 59:171–9.
- Alvarado RC, Zarack CR, Otoniel RJ, Guerrero CB, López CG. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal. Su uso como cultivo iniciador. Rev Cient. 2007;17:301-8.
- Kieun L, Yeonhee L. Effect of *Lactobacillus plantarum* as a starter on the food quality and microbiota of kimchi. Food Sci Biotech. 2010; 19:641-6.
- Saad SMI, Vanzin C, Oliveira MN, De Franco BDG. Influence of lactic acid bacteria on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated Minas cheese during storage at 8.5 °C. J Food Protect. 2001; 64:1151-5.
- García MC, Rodríguez MJ, Bernardo A, Tornadijo M, Carballo J. Study of enterococci and micrococci isolated throughout manufacture and ripening of San Simón cheese. Food Microbiol. 2002; 19:23-33.
- Sampaio E, Nader A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo “frescal”. Rev Saude Publica. 2000; 34:578-80.
- Lemus D, Maniscalchi M, Hassoun M, Vizcaya H. Estafilococos oxacilino resistentes en queso blanco fabricado en el estado Anzoátegui, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 2008; 28:48-54.
- Guamán-Burneo C, Carvajal-Barriga Javier. Caracterización e identificación de aislados de levaduras carotenogénicas de varias zonas naturales del Ecuador. Universitas Scientiarum. 2009; 14 (2-3):187-97.
- Martínez DP, Peña C, Quirasco M. Identificación de levaduras presentes en el queso Cotija artesanal por métodos moleculares dependientes e independientes de cultivo. En: XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. 21 al 26 de junio, 2009.
- Orberá RT. Métodos moleculares de identificación de levaduras de interés biotecnológico. Rev Iberoam Micol. 2004; 21:15-9.
- Dominguez LA, Villanueva CA, Arriaga JCM, Espinoza OA. Alimentos artesanales y tradicionales: el queso Oaxaca como un caso de estudio del centro de México. Estudios Sociales. 2011; 19:166-93.