



Evaluación bacteriana de queso artesanal Zacazonapan madurado bajo condiciones no controladas en dos épocas de producción



Jair Jesús Sánchez-Valdés ^a

Vianey Colín-Navarro ^a

Felipe López-González ^a

Francisca Avilés-Nova ^b

Octavio Alonso Castelán-Ortega ^c

Julieta Gertrudis Estrada Flores ^{a*}

^a Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. Campus UAEM El Cerrillo, El Cerrillo Piedras Blancas. 50295, Toluca, Estado de México, México.

^b Universidad Autónoma del Estado de México. Centro Universitario UAEM Temascaltepec. Temascaltepec, Estado de México, México.

^c Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Campus UAEM El Cerrillo, Toluca, Estado de México, México.

* Autor de correspondencia: jgestradaf@uaemex.mx

Resumen:

Los quesos tradicionales Zacazonapan tienen características organolépticas únicas y se caracterizan por estar vinculados al territorio de origen. En el proceso de maduración se tienen numerosas variables interactivas que son responsables de los cambios físicos, químicos, biológicos y estructurales. Con el objetivo de evaluar la evolución bacteriológica de quesos artesanales durante su maduración bajo condiciones no controladas en dos épocas de producción, se colectaron muestras de leche cruda y de queso a los 0, 30, 60, 120 y 150

días de maduración. Se determinó la presencia de mohos y levaduras (MyL), bacterias mesófilas aerobias (BMA), *Staphylococcus* spp. (Staph), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Salmonella* spp. (Salm) y *Listeria* spp. (List). La carga microbiana promedio fue 9.68, 9.38, 8.55 y 8.10 log₁₀ UFC/g de queso para MyH, BMA, Staph y CT respectivamente, así como 2.68 log₁₀ NMP/g de queso para CF. No se detectó Salm pero si List. La evolución microbiológica del queso madurado Zacazonapan presentó conteos que superan los niveles máximos de la Norma Oficial Mexicana 243 SSA1 2010.

Palabras clave: Maduración ambiental, añejamiento, evolución microbiológica, leche cruda.

Recibido: 08/03/2021

Aceptado: 07/04/2022

Los quesos tradicionales se producen a partir de un sistema complejo que da lugar a características organolépticas únicas y se caracterizan por fuertes vínculos con su territorio de origen⁽¹⁾. En el proceso se tienen numerosas variables interactivas que son responsables de los cambios físicos, químicos, biológicos y estructurales. Su calidad depende de factores ambientales, y de interacciones entre los microorganismos inoculados y los sustratos de cuajada que resultan de las variaciones en la calidad de la leche cruda y las condiciones de elaboración⁽²⁾. La microflora láctica es de particular interés porque las actividades bioquímicas de estos organismos participan en la elaboración del queso y pueden desempeñar un papel en el desarrollo de características organolépticas durante la maduración⁽³⁾; sin embargo, por su proceso de elaboración y uso de leche cruda, pueden generar brotes de intoxicaciones alimentarias⁽⁴⁾.

El queso de Zacazonapan se elabora artesanalmente con leche cruda proveniente de bovinos criollos de la región sur del Estado de México en la época de lluvias (julio-noviembre). En esta temporada la alimentación del ganado se basa en pastoreo y los quesos se consumen después de cuatro meses de maduración a temperatura y humedad relativa ambiental. Este queso ha sido descrito también como Queso Añejo de Zacazonapan⁽⁵⁾.

Conocer la evolución de los principales grupos microbianos durante la maduración de este queso y la calidad microbiológica final, puede sugerir modificaciones al proceso de maduración que mejoren la calidad sin perder ninguna de sus características. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue evaluar la evolución bacteriológica de quesos artesanales durante su maduración bajo condiciones no controladas en dos épocas de producción.

El trabajo se realizó en siete queserías del municipio de Zacazonapan (19° 07' 27" N, 100° 02' 57" O y 1470 msnm). Su temperatura y precipitación media anual es de 23.0 °C y 1,041.8 mm respectivamente. El estudio se llevó a cabo al final de la temporada de producción de queso (de noviembre de 2010 a abril de 2011), el cual se le denominó como lote de “queso de secas” por las condiciones ambientales en las que es madurado. A mediados de la temporada de producción del siguiente año (de septiembre de 2011 a febrero de 2012), el lote se le llamó “queso de lluvias”. Antes de la elaboración del queso se tomó una muestra de leche de cada sitio de producción de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM) 109 (manejo y toma de muestras)⁽⁶⁾. Las muestras se colocaron en contenedores estériles cerrados y se transportaron a 4 °C para su análisis en laboratorio de microbiología al siguiente día. Se adquirieron dos piezas de queso fresco de aproximadamente 2.0 kg de peso en ambas temporadas de muestreo y se llevaron a una quesería de la zona donde se dejaron madurar por 150 días en condiciones normales de temperatura y humedad relativa. Usando un sacabocado, de cada pieza de queso se colectaban dos muestras de 50.0 g a los 0, 30, 60, 120 y 150 días de maduración. Se utilizó cera de Campeche para sellar los huecos del lugar donde se tomaba la muestra. De cada muestra de queso se determinó la presencia de mohos y levaduras (MyL), bacterias mesófilas aerobias (BMA), *Staphylococcus* spp. (Staph), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Salmonella* spp. (Salm) y *Listeria* spp. (List). Para determinar MyL, se homogenizaron 10 g de la parte central del queso + 10 ml de leche de cada muestra obtenida en 90 ml de agua peptonada al 0.1 % (por duplicado) y se prepararon diluciones decimales a partir de esta primera dilución, obteniendo las diluciones 10⁻² hasta 10⁻⁷. Posteriormente, se incubaron durante 24 h a una temperatura de 25 °C⁽⁷⁾.

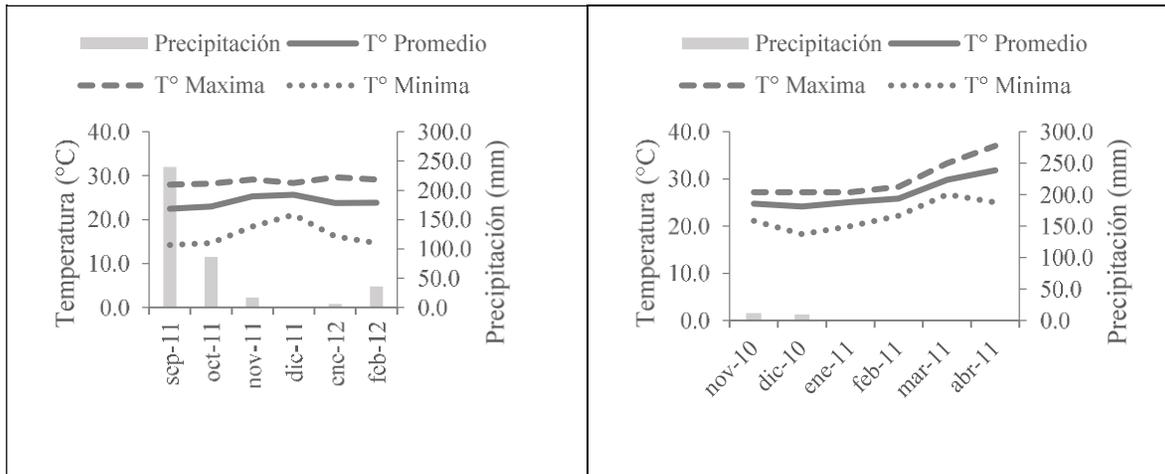
Para determinar BMA, Staph, CT, CF, Salm y List se colectaron 25 g de la parte central del queso + 25 ml de leche de cada muestra y se homogenizaron en 225 ml de agua peptonada al 0.1 % (por duplicado). De esta solución se realizaron diluciones decimales hasta 10⁻⁷, posteriormente se incubaron por 24 h a una temperatura de 35 °C⁽⁷⁾.

De acuerdo a NOM's, la presencia de MyL fueron determinadas mediante el conteo en placa con agar papa dextrosa después de incubación a 25 °C por 48 h⁽⁸⁾. Para BMA se utilizó agar triptona-extracto de levadura incubando a 35 °C por 48 h⁽⁹⁾. Las CT se determinaron en plato mediante agar rojo violeta bilis después de incubación a 35 °C por 24 h⁽¹⁰⁾. La presencia de CF se determinó mediante la técnica del número más probable, utilizando caldo lauril sulfato triptosa, después de incubar a 35 °C por 24 h⁽¹¹⁾. La determinación de Staph con agar Baird-Parker y la adición de telurito de yema de huevo, incubados 37 °C por 48 h después del crecimiento⁽¹²⁾. Análisis para Salm en agar Salmonella Shigella incubados por 48 h a 35 °C⁽¹³⁾ y List incubados a 35 °C por 48 h en agar Oxford⁽¹⁴⁾. Los datos obtenidos se normalizaron mediante log₁₀, se utilizó un diseño

experimental de bloques completamente al azar y se analizaron con el comando del modelo general lineal del minitab V.14⁽¹⁵⁾. Cuando se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó la prueba de Tukey.

La evolución de la temperatura y la precipitación en la región de estudio se observa en la Figura 1. La temperatura de maduración de los quesos de secas inicia a 24.8 °C en noviembre y finaliza con 31.8 °C en abril; las precipitaciones son casi nulas (<12 mm/mes) características propias de la época de estiaje (Figura 1a). En los quesos de lluvias la temperatura de maduración comienza con 22.1 °C en septiembre y finaliza con 22.7 °C en febrero, las precipitaciones fueron de 240 mm al inicio de la maduración y de 36 mm al final (Figura 1b).

Figura 1: Precipitación y temperatura durante la maduración ambiental del queso Zacazonapan



a) Queso de secas

b) Queso de lluvias

La humedad relativa, la temperatura y el tiempo son factores importantes durante la maduración de los quesos⁽¹⁶⁾. Las temperaturas de maduración observadas en este trabajo favorecieron el desarrollo de los microorganismos y las precipitaciones afectaron la textura final de los quesos; la ausencia de lluvias produjo quesos más secos, presentando cortezas agrietadas y la presencia de lluvias produjo quesos más suaves con corteza húmeda, lo que evitó que los quesos reventaran por la producción de gas. Sin embargo, estos quesos presentaron al interior agujeros y zonas putrefactas, fenómeno conocido como hinchazón tardía⁽¹⁷⁾.

Los conteos realizados a la leche utilizada para la elaboración del queso (Cuadro 1) fueron de 7.03, 7.02 y 4.9 (\log_{10} UFC/ml de leche) para MyL, BMA y CT. El uso de leche de mala calidad microbiológica, es una práctica común durante la producción de quesos artesanales de leche cruda y se atribuye a las malas prácticas de ordeño. De igual forma, la ausencia de la cadena fría y deficientes condiciones de transporte, conlleva a las cuentas de MyL, BMA y CT⁽¹⁸⁾.

Cuadro 1: Calidad microbiológica de la leche y del queso Zacazonapan durante la maduración

Leche / Queso	MyL ¹	BMA ¹	Staph ¹	CT ¹	CF ²
Leche	7.03	7.02	ND	4.9	ND
Días de maduración de queso					
0	9.250 ^b	9.499 ^a	9.090 ^{ab}	9.468 ^a	3.040 ^a
30	9.632 ^b	9.882 ^a	9.827 ^a	9.854 ^a	3.040 ^a
60	9.628 ^b	9.403 ^a	7.133 ^b	7.276 ^b	3.040 ^a
120	9.908 ^{ab}	8.858 ^b	8.438 ^b	6.680 ^b	2.340 ^b
150	10.102 ^a	8.900 ^b	7.797 ^b	7.147 ^b	1.767 ^c
Promedio	9.704	9.308	8.457	8.085	2.645
Época de producción de queso					
Secas	9.722	8.912 ^b	7.992 ^b	8.189	3.040 ^a
Lluvias	9.648	9.865 ^a	9.123 ^a	8.022	2.195 ^b
Promedio	9.685	9.388	8.558	8.106	2.618
EEM	0.21	0.26	0.529	0.947	0.264

MyL= mohos y levaduras; BMA= bacterias mesófilas aerobias; Staph= *Staphylococcus* spp. CT= coliformes totales; CF= coliformes fecales.

¹= \log_{10} unidades formadoras de colonias / g de queso o ml de leche.

²= \log_{10} número más probable / g de queso.

ac= letras diferentes dentro de una columna indican diferencias ($P < 0.05$). EEM= error estándar de la media.

ND: No determinado

En ambos lotes de queso se observa que, en los primeros días de maduración hay un incremento de las cuentas microbianas (día 30), las cuales disminuyen a lo largo del proceso de maduración debido a los procesos bioquímicos y microbiológicos que ocurren al interior del queso como la reducción del contenido de agua, la concentración de sólidos, el incremento de la acidez y una reducción del pH causada por la acción de bacterias lácticas. Lo anterior provoca una competencia microbiana por los nutrientes⁽¹⁹⁾.

El grupo de los MyL (Cuadro1), presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre días de maduración. Esto se debe a la retención física de los microorganismos en el cuajo y a la

multiplicación microbiana durante el cuajado de la leche y drenado del suero⁽¹⁸⁾. La reducción de MyL a partir del día 60 se atribuye a que a medida que la maduración transcurre, el centro del queso se comprime y se reduce el oxígeno necesario para la reproducción microbiana⁽²⁰⁾.

Los conteos de MyL observados en este estudio concuerdan con los encontrados en quesos similares. Por ejemplo, el queso Tepeque oreado, en la época de estiaje presentó conteos de 7.6 log₁₀ UFC/g de queso y de 7.7 log₁₀ UFC/g de queso en época de lluvias; y cuando el queso Tepeque se llevó hasta la maduración, en la época de estiaje presentó 6.2 log₁₀ UFC/g y 6.4 log₁₀ UFC/g en queso madurado en la época de lluvias⁽²¹⁾.

Durante la maduración del queso Kurdish, el queso fresco inicia con 5.6 log₁₀ UFC/g de queso, a los 20 días presenta 5.95 log₁₀ UFC/g de queso, hasta llegar a 9.28 log₁₀ UFC/g de queso en los 40 días, posteriormente la carga comienza a disminuir llegando a 9.06 log₁₀ UFC/g de queso en el día 60⁽²²⁾. La misma dinámica poblacional se observó en el presente estudio y se relaciona con el agotamiento en el contenido de lactosa por la utilización simultánea de las bacterias ácido lácticas^(18,20,22).

La NOM 243 SSA1, que refiere las disposiciones y especificaciones sanitarias para leche y derivados lácteos⁽²³⁾, no especifica la determinación de BMA como microorganismos indicadores de calidad en quesos, debido a que este grupo incluye a las bacterias ácido lácticas que son microorganismos deseables en la maduración del queso⁽²⁴⁾, las cuales por sus actividades proteolíticas y lipolíticas a largo plazo, contribuyen al desarrollo del sabor y aroma^(18,20,22), proporcionando las características propias al producto de una región. En este estudio, las BMA presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre días de maduración y entre épocas de producción. Al respecto, los conteos del queso de secas fueron de 8.91 log₁₀ UFC/g de queso y el de lluvias de 9.86 log₁₀ UFC/g de queso (Cuadro 1). Los conteos microbiológicos aumentaron en los primeros 30 días de maduración, debido a la presencia de bacterias ácido lácticas inherentes en la leche o en el cuajo usado para la elaboración del queso, obtenido de becerros jóvenes de la región.

La disminución de los conteos de BMA a partir del día 60 se atribuye a que el crecimiento de estos organismos durante la maduración del queso es controlado por algunos factores fisicoquímicos como la actividad del agua, concentración de sal, pH, ácidos orgánicos, temperatura durante la maduración, el potencial de óxido reducción y presencia de nitratos⁽²⁵⁾.

La dinámica poblacional de las BMA de este estudio concuerda con la de otros quesos. En el queso de poro artesanal con tres días de elaboración las BMA estaban presentes con una

concentración de 6.77 log₁₀ UFC/g de queso y a los 12 días de elaboración se incrementaron a 7.44 log₁₀ UFC/g de queso⁽¹⁶⁾. En el queso Tepeque oreado, en la época de estiaje se reportaron concentraciones de 7.9 log₁₀ UFC/g de queso y en la de lluvias de 7.6 log₁₀ UFC/g de queso. En el queso Tepeque llevado hasta la maduración, la concentración tanto en el queso producido en época de estiaje como en la de lluvias fue de 6.1 log₁₀ UFC/g de queso⁽²¹⁾. En el estudio realizado por Hernández *et al*⁽²⁶⁾ al queso añejo de Zacazonapan, los quesos fueron madurados a una temperatura de 24 °C y a una humedad relativa de 65 % y a los 27 días de maduración las BMA estuvieron presentes a una concentración de 1.5 a 7.8 log₁₀ UFC/g de queso.

El grupo de los Staph (Cuadro 1) presentaron diferencias ($P<0.05$) entre días de maduración y entre época de producción. El promedio de los conteos realizados al queso en la época de secas fue de 7.99 log₁₀ UFC/g de queso y en el de la época de lluvias de 9.12 log₁₀ UFC/g de queso. La presencia de estafilococos y la aparición de enterotoxinas en los alimentos son parámetros importantes en la evaluación de la inocuidad de los alimentos⁽²⁷⁾. *Staphylococcus aureus* se encuentra a menudo en la leche cruda y en el ambiente de las plantas de queso (equipo y personal), es tolerante a la sal y puede crecer bajo una amplia gama de condiciones; la baja producción de ácido puede permitir que el estafilococo crezca y produzca enterotoxinas^(16,27).

En queso de poro artesanal, se encontró que *S. aureus* estuvo presente con una concentración promedio de 5.91 log₁₀ UFC/g de queso en queso de tres días y de 6.29 log₁₀ UFC/g de queso con 12 días de maduración⁽¹⁶⁾. En queso Tepeque oreado, la carga microbiana fue de 7.9 y 7.7 log₁₀ UFC/g de queso en queso de la época de estiaje y de la época de lluvias respectivamente⁽²¹⁾. En el queso Kurdish la concentración fue de 3.06 log₁₀ UFC/g de queso en queso fresco y de 1.12 log₁₀ UFC/g de queso a los 40 días de maduración⁽²²⁾. Resultados similares a los encontrados en este trabajo indican serias fallas en las condiciones higiénico-sanitarias de las queserías⁽²⁸⁾ y, en consecuencia, el consumo de este queso puede provocar una intoxicación estafilocócica representando un peligro para el consumidor⁽²⁹⁾.

Diferencias significativas ($P<0.05$) se observaron en el contenido de CT entre días de maduración, disminuyendo durante todo el proceso. El promedio de ambos lotes de queso fue de 8.10 log₁₀ UFC/g de queso (Cuadro 1). Los CT son un buen indicador de la calidad higiénica, su presencia es indeseable porque causa defectos estructurales en el queso y son un indicador de contaminación fecal y refleja falta de higiene durante la elaboración o manipulación del producto y advierten la posible presencia de otros patógenos⁽³⁰⁾. Durante el salado, se presenta un proceso lento de deshidratación natural de los quesos, favoreciendo la sobrevivencia de estas bacterias por más tiempo⁽¹⁶⁾.

La carga bacteriana de CT en los quesos del día cero (Cuadro 1) fue similar a lo reportado en quesos frescos^(28,29). La carga mínima observada en este estudio fue de 6.68 log₁₀ UFC/g de queso a los 120 días, similar al queso Tepeque madurado⁽²¹⁾. Sin embargo, supera los conteos reportados en quesos oreados o de maduración controlada como el queso de poro artesanal⁽¹⁶⁾, el queso Añejo de Zacazonapan⁽²⁶⁾ y el queso de Corrientes⁽³¹⁾, lo que deja en claro la importancia de controlar las condiciones de maduración de este tipo de quesos.

Los conteos para CF (Cuadro 1) presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre época de producción, siendo mayor en los quesos de secas (3.04 log₁₀ NMP/g de queso). Los resultados de este trabajo fueron menores a lo encontrado en el queso crema tropical mexicano elaborado con leche sin pasteurizar de la región de Tonalá, Chiapas⁽²⁴⁾ y su presencia en queso, indica la contaminación por heces⁽³²⁾. La disminución de los conteos a partir de los 120 días de maduración en los quesos de lluvias, se debe a la acción de las bacterias ácido lácticas⁽²⁷⁾.

Los resultados de los análisis realizados para Salm y List durante la maduración de los quesos (Cuadro 2) indican que Salm solo fue detectada en los quesos del día 0 (quesos frescos) y List estuvo presente durante toda la maduración.

Cuadro 2: *Salmonella* spp. y *Listeria* spp. durante la maduración del queso Zacazonapan

Grupo microbiano	Lote	Días de maduración				
		0	30	60	120	150
Salm	Secas	P				
	Lluvias	P				
List	Secas	P	P	P	P	P
	Lluvias	P	P	P	P	P

Salm= *Salmonella* spp. List= *Listeria* spp. P= Presente en 25 g de muestra.

La presencia de Salm en quesos se relaciona a la elaboración de productos con leche no pasteurizada y se ha detectado en quesos frescos⁽²⁹⁾, en los primeros días de maduración^(22,27,32). En quesos con 7 días de maduración no se detectó Salm y se atribuye a la acumulación de ácido láctico y a la disminución del pH (< 4.7)⁽²⁷⁾.

La presencia de List en los quesos (Cuadro 2) sugiere una contaminación al utilizar leche contaminada por vacas que sufren de mastitis subclínica⁽³³⁾. Bacterias del género List se han detectado en los equipos utilizados en la manufactura de quesos⁽³⁴⁾, en quesos oreados y madurados^(21,28). Aunque no se determinó la especie, se debe considerar el riesgo a la salud

del consumidor que *List* representa, ya que puede producir alteraciones importantes al sistema nervioso central e incluso la muerte⁽³⁴⁾.

Los resultados obtenidos en esta investigación, el conteo bacteriano de los grupos estudiados supera lo permitido por la NOM 243 SSA1⁽²³⁾. Sin embargo, existe una tendencia a nivel mundial de consumir productos artesanales que son buscados por su sabor y calidad ligados al lugar de origen. La diversidad microbiana, así como las interacciones entre las poblaciones, son los principales factores que contribuyen al sabor de los quesos tradicionales^(16,20).

Se concluye que la maduración por 150 días de ambos lotes de quesos, como se realiza tradicionalmente, es insuficiente para inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos, aunque el queso de lluvias presentó menor carga microbiana. La presencia de bacterias del género *List* y *Salm* indicaron un riesgo sanitario mayor y no es apto para el consumo. Es necesario realizar acciones en todo el proceso del queso, y se sugiere implementar buenas prácticas de manufactura para la producción del queso, y que se adapte un espacio de la quesería como cámara de maduración.

Agradecimientos y conflictos de interés

Trabajo financiado por los proyectos FE016/2009 (COMECYT) y 3101/2011 (Universidad Autónoma del Estado de México). Los autores agradecen al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) por la subvención al primer autor en sus estudios de posgrado y a los productores de queso del Municipio de Zacazonapan el apoyo brindado para la realización de esta investigación. Los autores de este trabajo declaran que no existe conflicto de interés de ningún tipo.

Literatura citada:

1. Cardoso VM, Dias RS, Soares BM, Clementino LA, Araújo CP, Rosa CA. The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. *Braz J Microbiol* 2013;44:743-749.
2. Sicard M, Perrot N, Leclercq-Perlat MN, Baudrit C, Corrieu G. Toward the integration of expert knowledge and instrumental data to control food processes: Application to Camembert-type cheese ripening. *J Dairy Sci* 2011;94:1-13.
3. Licitra G, Carpino S. The microfloras and sensory profiles of selected protected designation of origin Italian cheeses. *Microbiol Spectr* 2014;2(1):1-12.

4. Soto VZ, Pérez LL, Estrada AD. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Salud Uninorte Barranq* 2016;32(1):105-122.
5. Hernández MC, Hernández MA, Villegas de Gante AZ, Aguirre ME. El proceso socio-técnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. *Rev Mex Cienc Pecu* 2011;2:161-176.
6. Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México: Diario Oficial de la Federación, 4 de noviembre de 1994.
7. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México: Diario Oficial de la Federación, 28 de abril de 1994.
8. Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. México: Diario Oficial de la Federación, 28 de abril de 1994.
9. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México: Diario Oficial de la Federación, 23 de marzo de 1994.
10. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. México: Diario Oficial de la Federación, 28 de abril de 1994.
11. Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes fecales. Técnica del número más probable (NMP). México: Diario Oficial de la Federación, 10 de mayo de 1995.
12. Norma Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. México: Diario Oficial de la Federación, 20 de febrero de 1995.
13. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos. México: Diario Oficial de la Federación, 28 de abril de 1994.
14. Norma Oficial Mexicana NOM-143-SSA1-1995. Bienes y servicios. Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*. México: Diario Oficial de la Federación, 19 de noviembre de 1997.

15. Minitab V.14. Statistical software. User's guide II: Data analysis and quality tools, graphics, and Macros 2003; USA.
16. Alejo-Martínez K, Ortiz-Hernández M, Recino-Metelín BR, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. Tiempo de maduración y perfil microbiológico del queso de poro artesanal. *Rev Iberoamericana Cienc* 2015;2 (5):15-24.
17. Vázquez-Fontes C, Sánchez-Vera E, Castelán-Ortega O, Espinoza-Ortega A. Microbiological quality of artisan-made Mexican Botanero cheese in the Central Highlands. *J Food Saf* 2010;30:40-50.
18. Volken De SCF, Dalla RT, Zachia AA. Changes in the microbiological and physicochemical characteristics of Serrano cheese during manufacture and ripening. *Braz J Microbiol* 2003;34:260-266.
19. De Dea LJ, Bernini V, De Lorentiis A, Pecorari A, Neviani E, Gatti M. Parmigiano Reggiano cheese: evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. *Dairy Sci Technol* 2008;88:511–523.
20. Marino M, Maifreni M, Rondinini G. Microbiological characterization of artisanal Montaisa cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Letón* 2003;229:133–140.
21. Solís MAD, Martínez LR, Solorio SJ, Estrada FJG, Avilés NF, Gutiérrez IAT, Castelán OOA. Características del queso Tepeque de la tierra caliente de Michoacán: Un queso producido en un sistema silvopastoril intensivo. *Trop Subtrop Agroecosystems* 2013;16:201-214.
22. Milani E, Shahidi F, Mortazavi SA, Reza-Vakili SA, Ghoddusi HB. Microbiological, biochemical and rheological changes throughout ripening of Kurdish cheese. *J Food Saf* 2014;34:168-175.
23. Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. México: Diario Oficial de la Federación, 27 de septiembre de 2010.
24. Romero-Castillo PA, Leyva-Ruelas G, Cruz-Castillo JG, Santos-Moreno A. Evaluación de la calidad sanitaria de queso crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Rev Mex Ing Quim* 2009;8:111-119.
25. Beresford TP, Fitzsimons NA, Brennan NL, Cogan TM. Recent advances in cheese microbiology. *Int Dairy J* 2001;11:259-274.

26. Hernández MC, Hernández MA, Aguirre ME, Villegas de Gante AZ. Physicochemical, microbiological, textural and sensory characterization of Mexican Añejo cheese. *Int J Dairy Technol* 2010;63(4):552-560.
27. Amran AM, Abbas AA. Microbiological changes and determination of some chemical characteristics for local Yemeni cheese. *Jordan J Biol Sci* 2011;4 (2):93-100.
28. Castro-Castillo G, Martínez-Castañeda FE, Martínez-Campos AR, Espinoza-Ortega A. Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración. *Rev Soc Ven Microbiol* 2013;33(2):105-109.
29. González-Montiel L, Franco-Fernández MJ. Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña. *Brazilian J Food Technol* 2015;18(3):250-257.
30. Sengul M, Ertugay MF. Microbiological and chemical properties of cheese Helva produced in Turkey. *Int J Food Prop* 2006;9:185-193.
31. Vasek OM, Mazza SM, Giori GS. Physicochemical and microbiological evaluation of corrientes artisanal cheese during ripening. *Food Sci Technol* 2013;33(1):151-160.
32. Martins JM, Galinari E, Pimentel-Filho NJ, Ribeiro JJI, Furtado MM, Ferreira CLLF. Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. *Braz J Microbiol* 2015;46(1):219-230.
33. Meyer-Broseta S, Diot A, Bastian S, Rivière J, Cerf O. Estimation of low bacteria concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Int J Food Microbiol* 2003;80:1-15.
34. Arguello P, Lucero O, Castillo G, Escobar S, Albuja A, Gallegos J, Carrascal A. Calidad microbiológica de los quesos artesanales elaborados en zonas rurales de Riobamba (Ecuador). *Perspectiva* 2015;16 (18):65-74.