CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA SALMUERA UTILIZADA EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESOS FRESCOS ARTESANALES EN UNA QUESERA DE QUIMIAG-CHIMBORAZO

Brine microbiological quality used in the production of fresh cheese in an artisanal factory at Quimiag-Chimborazo

Paola Arguello*, Ana Albuja, Ana Rafaela Pacurucu, Carlos Pilamunga

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias / Facultad de Salud Pública / Facultad de Ciencias, Seguridad Alimentaria Grupo de Investigación y Desarrollo, Riobamba, Ecuador.

*p arguello@espoch.edu.ec

R esumen

Se analizó la calidad microbiológica de la salmuera empleada en una quesera artesanal de la parroquia rural Quimiag -Chimborazo, considerando que el salado es un punto crítico durante la elaboración de quesos. Se muestrearon los insumos y materiales utilizados para la elaboración de la salmuera, los utensilios, manipuladores y el ambiente de producción desde su preparación hasta el día que se descarta esta solución. Los recuentos microbianos de la sal nueva y reutilizada sobrepasaron los límites de la norma ecuatoriana para sal de consumo humano, excepto E. coli en la sal nueva, mientras que en el agua se identificó S. aureus aún después del calentamiento recibido previo uso; los valores del ATP medido en utensilios y manipuladores se encontraron entre 86,5 a 5279,7 URL; y, el conteo microbiano en el ambiente excedió lo establecido por la Asociación Americana de Salud Pública de Estados Unidos. El nivel de S. aureus en la salmuera supera el límite de la normativa nacional para quesos frescos desde su elaboración, y para E. coli y aerobios mesófilos alcanza el máximo permitido al día 5, evidenciándose una corta vida útil, falta de prácticas correctas de higiene y el uso de materia prima contaminada durante el salado.

Palabras clave: Salmuera, queso artesanal, calidad microbiológica.

A bstract

The microbiological quality of the brine used in an artisan cheese factory in the rural parish of Quimiag of the province of Chimborazo, was analyzed, considering that salting process is a critical point during the artisan cheese production. The supplies and materials used for the preparation of the brine, the tools, manipulators and the production environment were sampled from its preparation until the day this solution is discarded. The microbial counts of the new and reused salt exceeded the limits of the Ecuadorian standard for human consumption salt, except for E. coli in the new salt, while S. aureus was identified in the water even after heating received prior use. ATP values measured in tools and manipulators were found between 86.5 to 5279.7 URL, and, the microbial count in the environment exceeded that established by the American Public Health Association of the United States. The level of S. aureus in the brine exceeds the limit of the national regulations for fresh cheeses from the day of its elaboration, and for E. coli and aerobic mesophiles it reaches the maximum allowed on day 5, showing a short shelf life, lack of correct practices of hygiene and the use of contaminated raw materials during brining.

Keywords: Brine, artisanal cheese, microbiological quality.

Fecha de recepción: 13-01-2020 Fecha de aceptación: 29-04-2020 Fecha de publicación: 30-07-2020



I. INTRODUCCIÓN

Los microorganismos patógenos son la principal preocupación de seguridad para la industria alimentaria. La gran mayoría de los brotes de enfermedades relacionadas con los alimentos se deben a estos más que a contaminantes químicos o físicos. Incluso si los microorganismos en un alimento son destruidos por un proceso posterior de cocción, pueden previamente haber producido toxinas, por lo que la prevención de la contaminación a través de buenas prácticas de higiene sigue siendo importante para garantizar la inocuidad de los alimentos (1).

El desarrollo microbiano depende de factores como la temperatura, la humedad / actividad del agua (aw), el pH, la disponibilidad de nutrientes, el nivel de oxígeno y los compuestos inhibidores como los conservantes. El queso fresco es un producto ideal para la proliferación microbiana por su contenido de carbohidratos, proteínas, elevada humedad y aw, además de las condiciones de manufactura, almacenamiento y manipulación, permitiendo que su microbiota esté en constante evolución (2)(3).

Los pocos estudios relacionados a la calidad microbiológica de los quesos artesanales de la zona revelan su deficiencia, a pesar de que la leche que se utiliza es tratada térmicamente y cumple con la normativa, existe contaminación en las siguientes etapas de elaboración (4).

La fabricación artesanal de quesos frescos en Quimiag-Ecuador, utiliza un enfoque empírico tradicional, empleando como materia prima la leche cruda, con adición de un agente de cuajado comercial, separación de la cuajada y finalmente el proceso de salado (introducción del queso en solución saturada de sal muera por 2 horas), estos quesos son apreciados por los consumidores por su sabor y buen precio, además de guardar relación con una importante participación social, económica y cultural, de ahí el interés de estudiar su calidad microbiológica (5).

Una de las etapas de la elaboración de quesos es el salado por inmersión en salmuera. En un estudio de 2010, (6) analizó las fuentes de contaminación del queso "Dil" durante la producción en una planta lechera local en Bursa, Turquía, identificando que las soluciones de salmuera y el cuajo estaban contaminados con estafilococos.

América Latina y Ecuador carecen de una normativa o procedimiento que establezca los valores máximos de la carga microbiana y los parámetros fisicoquímicos determinantes para establecer el tiempo de vida útil de esta solución, ambigüedad que se convierte en un punto crítico dentro del proceso de producción y merece ser considerado para evitar convertirse en un foco de contaminación del producto que conlleve a la transmisión de enfermedades a la población (7).

La salmuera influye en las propiedades fisicoquímicas del queso, mejorando la expulsión del suero y la pérdida de humedad, causando una concentración de la matriz proteica, pero puede convertirse en un foco de contaminación microbiológica sino es manejada adecuadamente (8).

Por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica de insumos y materiales utilizados para elaborar la salmuera y el seguimiento en función de los días de utilización, así como los ambientes de producción y superficies en contacto, determinando su tiempo de vida útil bajo las condiciones de una quesera artesanal.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una quesera artesanal en la Parroquia Quimiag, provincia de Chimborazo. Se tomaron muestras según lo especificado en la norma correspondiente (9): ingredientes para la elaboración de la salmuera (agua tratada y en reposo, sal nueva y reutilizada), solución de salmuera (imagen 1), ambiente y superficies en contacto con la salmuera.

Los ensayos microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Investigación del Grupo SAGID de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

El muestreo de salmuera se realizó los días 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, y 12, correspondiendo el día 0 a la preparación y el día 12 a la eliminación. En la

imagen 1 se muestra las tinas de acero inoxidable empleadas para almacenar la salmuera, en la primera tina se observa la colocación de la sal y en las dos siguientes con la salmuera ya utilizada. Se tomaron muestras de queso antes y después del proceso de salado, durante los días 1, 3, 5, 7, 9 y 11 de producción.

Se analizaron las manos de 3 manipuladores según lo descrito en (10) durante los días 1, 7 y 11 de producción. Para todas estas muestras los parámetros microbiológicos evaluados fueron: aerobios mesófilos, mohos y levaduras, *Escherichia coli* y *coliformes* (11), y enterobacterias y *Staphylococcus* aureus empleando placas 3M Petrifilm (12).

Se realizó el muestreo del ambiente de producción (proximidades de las tinas de salmuera) por el método de sedimentación en placas (13), y se evaluaron mohos y levaduras, y aerobios mesófilos.

En cuanto a las superficies (tinas de salmuera, lonas de sal, bidón de agua, mesón de quesos, colador, manguera y las manos de los manipuladores) se realizó la medición de ATP en unidades relativas de luz (URL) utilizando el luminómetro manual Hygiena Ensure TM Monitoring System (14), esto con el fin de valorar la calidad de la limpieza de los materiales utilizados para la elaboración de salmuera.



Figura 1. Tinas de salado

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de insumos y materiales utilizados para elaborar la salmuera

En la tabla 1 se muestran los resultados microbiológicos en log10 UFC de los insumos utilizados en la elaboración de salmuera (día 0), los recuentos de todos los microrganismos evaluados tanto en la sal nueva y reutilizada sobrepasan los criterios establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0057:2010 que establece los requisitos para sal de consumo humano (15), excepto para el recuento de *E. coli* cuyo valor fue de 0 en la sal nueva.

La presencia de mohos y levaduras en la materia prima podría deberse a su capacidad natural de tolerar y multiplicarse aún con baja actividad de agua (aw) (16), en tanto que la presencia de aerobios mesófilos refleja su ubicuidad y su recuento demuestra las inadecuadas condiciones higiénicas de manipulación de la materia prima, poco aconsejable para la producción de alimentos (17).

Los coliformes totales son enterobacterias cuyo recuento refleja una manipulación inadecuada y/o almacenaje inapropiado en la industria alimentaria, sin embargo, *E. coli* sí es un indicador directo de contaminación de origen fecal, por lo que se trata del microorganismo de mayor significado sanitario (17).

Por otro lado, la presencia de *S. aureus* guarda relación con su tolerancia frente a concentraciones de sal hasta del 10% y una actividad acuosa mínima (18), siendo también un indicador de inadecuada manipulación, pues su fuente principal es la superficie corporal del ser humano (16).

El agua que proviene de reservorio recibe un tratamiento de cloración en la planta, y se somete a calentamiento (60°C, 30min), la muestra tomada inmediatamente después de este proceso presenta un recuento únicamente para *S. aureus*. Misma que es conservada hasta su utilización en un bidón (agua en reposo).

Esta contaminación cruzada se puede deber a la inadecuada limpieza de los materiales utilizados en el proceso de elaboración de salmuera, los niveles de URL medidos sobrepasan el límite de 10 URL para superficies en contacto con alimentos (Tabla 2).



Ingredientes	Tipo	Mohos	Levaduras	S. aureus	Aerobios mesófilos	Enterobacterias	E. coli	Coliformes	
¥0.1	Nueva	1,4314	1,5563	2,8388	3,0000	2,0000	0,0000	2,2553	
*Sal	Usada	1,7324	1,9138	4,4150	4,6628	3,1461	1,0000	1,6532	
** 4	Pasteurizada	0	0	1,2553	0	0	0	0	
**Agua	Reposo	0	0	2,2304	4,4914	3,3222	1,4314	1,5563	

Tabla 1. Resultados del análisis microbiológico en *log10 UFC/g y en ** log10 UFC/mL de ingredientes para la elaboración de la salmuera al día 0

El conteo de *S. aureus* indica un peligro potencial debido a la producción de la toxina estafilocócica, termorresistente aún a 100°C (19); considerando que esta bacteria resiste a la desecación y muere a temperaturas superiores a 60°C se puede deducir que el tratamiento térmico del agua no es el adecuado.

Análisis de superficies

Los microorganismos de las superficies tienen un rol vital en la industria de los alimentos Una forma indirecta de medición de estos es utilizando ATP-bioluminiscencia. Este método utiliza el sistema de enzimas luciferinas para atrapar los ATP de los microorganismos para cuantificarlos (20). La contaminación orgánica puede influir en este método, sin embargo, considerando que ésta potencia la formación de biopelículas, el resultado de la medición aún con materia orgánica, da una clara evaluación de las fuentes de contaminación, los datos obtenidos están en URL.

Los resultados se encuentran en el rango de 86,5 a 5279,7 URL (Tabla 2). Los valores más altos se presentan en la tina, mesón, mangueras y manos de los manipuladores esto guarda relación con los recuentos microbianos en el ambiente, con la presencia de restos de producto y de zonas de difícil acceso para la limpieza, además los manipuladores en su actividad dentro de la planta utilizan utensilios e instrumentos que suelen estar en contacto con leche, agua o salmuera.

Superficie evaluada	Resultado en URL		
Tinas	1529,5±669,7		
Lonas	86,5±94.0		
Bidón	494±299,8		
Mesón	6103,4±664,2		
Cernidera (base)	8065		
Manguera (boca)	6249		
Manipuladores	5279,7±1713,3		

Tabla 2. Resultados de la medición de ATP en superficies.

Los resultados se encuentran en el rango de 86,5 a 5279,7 URL (Tabla 2).

Los valores más altos se presentan en la tina, mesón, mangueras y manos de los manipuladores esto guarda relación con los recuentos microbianos en el ambiente, con la presencia de restos de producto y de zonas de difícil acceso para la limpieza, además los manipuladores en su actividad dentro de la planta utilizan utensilios e instrumentos que suelen estar en contacto con leche, agua o salmuera.

Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos por Ípek et al. (21), quienes hallaron resultados entre 11 y 186265 URL, siendo las superficies con los mayores valores las manos de los manipuladores y el tanque de almacenamiento de salmuera.

En la tabla 3 se presenta los resultados del análisis microbiológico de las manos de los tres manipuladores, quienes fueron los encargados de introducir y sacar el queso de la salmuera.

Las muestras fueron tomadas previo a la manipulación del producto, todos los microorganismos evaluados presentaron crecimiento en las tres fechas de muestreo, observándose una relación directa con los resultados de bioluminiscencia.

Carrascosa et al. (22) identificaron los factores de riesgo asociados a la producción de queso, entre los que se resalta los relacionados directamente con los manipuladores, siendo estos: el grado de manipulación durante el procesamiento, el conocimiento de los manipuladores sobre higiene del proceso, el conocimiento de los manipuladores de la forma de limpieza y desinfección, esto evidencia que la higiene del personal es un punto débil en el procesamiento de quesos artesanales.

Día de muestreo antes de la manipulación	Mohos	Levaduras	S. aureus	Aerobios mesófilos	Enterobacterias	E. coli	Coliformes
1	1,000	1,000	4,5416	4,8997	4,4840	1,4466	3,6209
7	1,5884	2,5301	4,8424	7,6931	4,5174	2,1206	4,5046
11	1,000	2,3559	4,8290	7,3363	4,4214	3,0335	4,7929

Tabla 3. Análisis microbiológico de manos de los manipuladores en log10 UFC/mano

Análisis del ambiente de producción

El recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras en el ambiente (Tabla 4), exceden lo establecido por la Asociación Americana de Salud Pública de Estados Unidos (APHA) (23). La contaminación microbiana de ambientes internos es favorecida por factores como humedad elevada, temperatura, ventilación reducida y por la presencia de polvo, considerando que la humedad relativa en el rango de 60-90% es un factor determinante para el desarrollo fúngico (24).

Área	Mohos y levaduras	Aerobios mesófilos		
Ambiente de producción	2,13	1,60		

Tabla 4. Calidad microbiológica del ambiente de producción en log10 UFC/m2

Análisis de salmuera

En la Tabla 5 se observa los resultados del análisis microbiológico de la salmuera a través del tiempo de muestreo, la carga microbiana de *S. aureus*, aerobios mesófilos, enterobacterias, *E. coli*, coliformes, mohos y levaduras, presentan oscilaciones de los contenidos, pero siempre mayores a los del día cero, esto indicaría que la salmuera no solo contribuye a las propiedades estructurales y organolépticas de los quesos, sino que también sirve como una fuente importante para la inoculación de la superficie de los quesos no maduros con una amplia gama de microorganismos halotolerantes y / o halófilos (25). En los doce días de evaluación del proceso de producción de quesos, los valores de *S. aureus* fueron superiores al lí-

mite para producir una infección gastrointestinal (≤105 UFC/cm3) (26), y aunque ésta no se consume directamente, al ser absorbida por los quesos se convierte en un contaminante del producto final, así se evidencia en los datos reportados por (27), en la investigación Resistencia Antimicrobiana de Staphylococcus aureus Aislado en Quesos Frescos Artesanales Elaborados en Zonas Rurales de Riobamba-Ecuador, donde el 83,3% de las muestras analizadas no cumplían con la normativa pertinente. Los valores de enterobacterias, E. coli y coliformes indican que existen prácticas higiénico-sanitarias no bien controladas, especialmente E. coli tiene la capacidad de formar una coraza a su alrededor que le permite crecer en medios salinos de forma lenta y, al detectar humedad nuevamente crece exponencialmente, lo que puede explicar la tendencia del crecimiento en la salmuera (28). Al no existir normativa específica para salmuera, se ha comparado los resultados de E. coli y mesófilos aerobios con los requisitos para quesos frescos (29), observándose que al día 5 desde la elaboración, los recuentos de estos microorganismos sobrepasaron el máximo permitido, y considerando que la salmuera se convierte en un ingrediente del producto final, los límites deberían ser menores.

La presencia de levaduras en la salmuera es alta, esto se puede explicar por las características de esto microorganimo de resistir las condiciones ambientales extremas (pH ácido, altas concentraciones de sal y baja temperatura), condiciones que presenta la salmuera, (30).

Día de muestreo	Mohos	Levaduras	S. aureus	Aerobios mesófilos	Enterobacterias	E. coli	Coliformes
0	1,00	3,4561	4,4911	4,7589	0	1,0000	2,0000
1	1,95	4,1968	6,3217	6,7031	2,7492	1,0000	2,4404
3	3,60	3,8266	6,2274	10,0682	2,6048	1,0000	2,5423
5	2,83	4,9650	6,1228	9,5851	2,9212	1,4317	2,6685
7	4,89	5,7113	6,0094	9,6602	2,7310	1,0000	2,3521
9	4,50	5,8129	5,9137	10,6632	2,5642	1,4795	2,5974
11	4,46	5,9030	5,9828	11,5191	2,3351	1,9238	2,3976
12	5,15	6,1139	5,8563	12,0578	2,4828	1,5880	2,4831

Tabla 5. Análisis microbiológico de la salmuera en función de los días de utilización en log10 UFC/mL



IV. CONCLUSIONES

El tiempo de vida útil de la salmuera es extremadamente corto bajo las condiciones del lugar de producción donde se tomaron las muestras, por lo que se concluye que el proceso de salado es un foco de contaminación del queso fresco, debido a factores como: la deficiencia de las prácticas de limpieza e higiene de los manipuladores y de las superficies de contacto, el uso de materia prima contaminada y la falta de protocolos estandarizados de elaboración, siendo fundamental capacitar al personal en Prácticas Correctas de Higiene (PCH).

V. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, y a los dueños de las queseras artesanales quienes han brindado las facilidades para la ejecución del proyecto de investigación de que derivan estos resultados.

R eferencias

- 1. Sousa P. The impact of food manufacturing practices on food borne diseases. Brazilian Archives of biology and Technology. 2008; 51(4): 615-623.
- 2. Perin L, Sardaro L, Nero L, Neviani E, Gatti, M. Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and-independent methods. Food microbiology. 2017; 65: 160-169.
- 3. Irlinger F, Mounier J.Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. Current Opinion in Biotechnology. 2009; 20(2): 142-148.
- 4. Arguello P, Escobar S, Espinoza C, Albuja A. "Calidad microbiológica de la materia prima, suero y producto terminado en las queseras artesanales: Quimiag-Ecuador" en: VII Congreso Iberoamericano De Ciencias Farmaceuticas Coiffa 2017. Riobamba-Ecuador: COIFFA; 2017. 155-162.
- 5. Zheng X, Liu F, Li K, Shi X, Ni Y, Li B, Zhuge B. Evaluating the microbial ecology and metabolite profile in Kazak artisanal cheeses from Xinjiang, China. Food research international. 2018; 111: 130-136.
- 6. Irkin, R. Determination of microbial contamination sources for use in quality management of cheese industry: "Dil" cheese as an example. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. 2010; 5(1): 91-96.
- 7. Pontín M, Barraza A, Bruschi J. Estudio de la calidad microbiológica y fisicoquímica de salmueras en una quesería [Internet]. Tandil-Argentina. 2017 [citado 28 noviembre 2019]. Disponible en: http://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1472/PONTIN%2C MAXIMILIANO MATIAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- 8. Salgado M. Efecto del salado directo sobre las características fisicoquímicas, texturales y aceptación de un queso de pasta dura. Universidad Autónoma del Estado de México. 2007; 31 -32.
- 9. Norma INEN 1529-2: Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN).1999.
- 10. Guía técnica sobre criterios y procedimientos para el examen microbiológico de superficies en relación con alimentos y bebidas [Internet]. Perú: Dirección General de Salud Ambiental. 2005 [citado 3 diciembre 2019]. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm
- 11. Association of Official Analytical Chemists [Internet]. AOAC Official Method 991.14: Coliform and Escherichia coli Counts in Foods. AOAC; 1994. [citado 2 enero 2019]. Disponible en: http://www.longrunbio.com/uploads/soft/130814/1-130Q4144244.pdf.
- 12. Silva BO, Caraviello DZ, Rodrigues AC, Ruegg PL. Evaluation of Petrifilm for the isolation of Staphylococcus aureus from milk samples. J Dairy Sci. 2005;88(8):3000–8
- 13. Control de carga microbiana en el aire, método pasivo por sedimentación. [Internet]. Argentina: Instituto Argentino de Normalización y Certificación. 2004 [citado 3 Diciembre2019]. Disponible en: http://catalogo2.iram.org.ar/signven2/busciram01.aspx
- 14. Cortizas J, Rumbo J. Nivel de contaminación-descontaminación de la epidermis de las ma-

nos medida por luminiscencia. Enfermería Dermatológica. 2015; 9(24):34-45.

- 15. Norma INEN 0057: Sal para consumo humano. Requisitos. Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN).2010.
- 16. Sanchez J. OPS/OMS Peligros biológicos [Internet]. Pan American Health Organization / World Health Organization. 2015 [citado 3 December 2019]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es
- 17. Figueroa A, Rivera N, Muñoz J. Implementación del método alternativo petrifilm para determinar coliformes y bacterias aerobias mesófilas en la industria de lácteos "Pairumani" y el laboratorio "Lidiveco". Journal boliviano deficiencias. 2016; 11: 58-65.
- 18. Rojas Y, Yesquén G, Vega A, Ascón Y, Vidaurre L, Díaz L. Frecuencia de aislamiento de Staphylococcus aureus Oxacilina resistente en quesos artesanales comercializados en el mercado La Unión (Trujillo, Perú) mayo-julio 2015. REBIOL. 2018; 37(1): 13-18.
- 19. Documento de consenso sobre el manejo clínico de las infecciones causadas por Staphylococcus aureus resistente a meticilina en adultos [Internet]. Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas. 2004 [citado 3 diciembre 2019]. Disponible en: http://www.saei.org/biblioteca/descargar/id/28.
- 20. Ur Rahman, Shahzad T, Sahar A, Ishaq A, Khan MI, Zahoor T, et al. Recapitulating the competence of novel & rapid monitoring tools for microbial documentation in food systems [Internet]. LWT Food Sci Technol. 2015 [citado 5 noviembre 2019]. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.041.
- 21. İpek D, Demirel NN. Microbial load of white cheese process lines after CIP and COP: A case study in Turkey. LWT Food Sci Technol. 2018; 90:505–12.
- 22. Carrascosa C, Millán R, Saavedra P, Jaber JR, Raposo A, Sanjuán E. Identification of the risk factors associated with cheese production to implement the hazard analysis and critical control points (HACCP) system on cheese farms. Journal of Dairy Science. 2016; 99(4): 2606–2616.
- 23. Pasquarella C, Pitzurra O, Savino A. The index of microbial air contamination. Journal of Hospital Infection [Internet]. 2000; 46: 241-256. [citado 6 enero 2019]. Disponible en: https://doi: 10.1.1.632.858&rep=rep1&type=pdf
- 24. Shelton B, Kirkland K, Flanders W, Morris G. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. Applied Environmental Microbiology. 2002; 68:1743-1753.
- 25. Kragelund M, Johansen P, Harboe A, Castro-Mejía J, Kot W, Krych L, Arneborg N, Jespersen L. Cheese brines from Danish dairies reveal a complex microbiota comprising several halotolerant bacteria and yeasts. International Journal of Food Microbiology. 2018; 285: 173-187.
- 26. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Evaluación de riesgos de Staphylococcus aureus enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia [Internet]. 2011 [citado 6 junio 2019]. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Erstaphylococcus.pdf.
- 27. Albuja A, Andueza L, Escobar S, Yugcha P, Guevara L, Arguello P. Resistencia antimicrobiana de Staphylococcus aureus aislado en quesos frescos artesanales elaborados en zonas rurales de Riobamba-Ecuador. Revista Perfiles. 2018; 20 (2): 76-81.
- 28. Gómez J, Medina J, Hochberg D, Mateo-Martí E, Martínez-Frías J, Rull F. Drying Bacterial Biosaline Patterns Capable of Vital Reanimation upon Rehydration: Novel Hibernating Biomineralogical Life Formations. 2014;14 (7): 589-602.
- 29. Norma INEN 1528: Norma General para quesos frescos no madurados. Requisitos. Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN).2012.
- 30. Marino M, Innocente N, Maifreni M, Mounier J, Cobo-Díaz J., Coton, E, et al. Diversity within Italian cheesemaking brine-associated bacterial communities evidenced by massive parallel 16S rRNA gene tag sequencing. Frontiers in Microbiology.2017; 8: 2119.