Artículo Original / Original Article

Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas

Determination of the microbiological safety of artisanal cheeses according to Colombian technical standards

RESUMEN

El queso artesanal se ha convertido en un vehículo transmisor de microorganismos causantes de infecciones alimentarias. Este estudio busca identificar la carga microbiana presente en este producto y determinar el riesgo potencial para la salud pública con la Norma Técnica Colombiana 750. Se analizaron 31 muestras adquiridas en las tiendas comercializadores de queso artesanal con Registro de Cámara y Comercio de la ciudad de Tunja. Se determinó concentración microbiana de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y fecales, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp., mediante técnicas microbiológicas convencionales. Los valores promedios obtenidos para aerobios mesófilos fue de 6×10^6 UFC/g; coliformes totales de $6,29 \times 10^5$ UFC/g; coliformes fecales de $3,99 \times 10^5$ UFC/g, *Staphylococcus aureus* de $1,6 \times 10^5$ UFC/g y para mohos y levaduras de $4,1 \times 10^5$ UFC/g. Se realizó BBL Crystal® a las colonias de agar nutritivo encontrándose una variedad de microorganismos, principalmente *Streptococcus uberis*, *Enterococcus durans*, entre otros. La prevalencia de *Listeria monocytogenes* fue de 3,6% y en *Salmonella* sp de 3,1%. Todos los parámetros analizados presentaron recuentos superiores a los establecidos por la norma, indicando que las muestras no contaban con las condiciones higiénicas adecuadas para su consumo, debido principalmente a los procesos de elaboración artesanal del producto.

Palabras claves: Bacterias aeróbicas, Control de Calidad, Enterobacterias, Queso, Microbiota.

ABSTRACT

Artisanal cheese has become a vehicle that transmits microorganisms that cause food borne infections. This study identified the microbial load present in this product and determined the potential risk to public health using the Colombian Technical Standard 750. Thirty-one samples from artisanal cheese trading stores registered in the Chamber and Commerce of the city of Tunja, Colombia were acquired and analyzed. Microbial concentration of mesophilic aerobes, molds and yeasts, *Staphylococcus aureus*, total and fecal coliforms, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. were determined using conventional microbiological techniques. The

Nuri Merchán¹, Saira Zurymar T¹, Leidy Niño¹, Eliana Urbano¹.

¹Facultad de ciencias de la Salud,
Universidad de Boyacá. Tunja, Colombia.

Dirigir correspondencia a: Nuri Merchán.
Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Boyacá,
3102077100.
E-mail: namerchan@uniboyaca.edu.co

Este trabajo fue recibido el 14 de junio de 2018.
Aceptado con modificaciones: 17 de agosto de 2018.
Aceptado para ser publicado: 27 de diciembre de 2018.

average values obtained for aerobic mesophiles were 6×10^6 CFU/g; total coliforms 6.29×10^5 CFU/g; fecal coliforms of 3.99×10^5 CFU/g, *Staphylococcus aureus* of 1.6×10^5 CFU/g and for molds and yeasts of 4.1×10^5 CFU/g. BBL Crystal® was performed on nutritive agar colonies, and a variety of microorganisms were found, mainly *Streptococcus uberis*, and *Enterococcus durans*, among others. The prevalence of *Listeria monocytogenes* was 3.6% and in *Salmonella* sp 3.1%. All the analyzed parameters had higher counts than those established by the norm, indicating that the samples did not have the adequate hygienic conditions for their consumption, mainly due to the processes of artisanal elaboration of the product.

Keywords: Bacteria Aerobic, Cheese, Enterobacteriaceae, Quality Control, Microbiota.

INTRODUCCIÓN

El queso artesanal es producido por la fermentación de la leche cruda de ovinos, bovinos y caprinos principalmente, con mano de obra familiar, cuya elaboración está definida por costumbres, gustos o circunstancias ambientales de cada región. Los productores informales consideran que el empleo de sus propias técnicas proporciona una mejor textura, sabor y aroma y que la implementación de nuevas tecnologías puede afectar el resultado final del queso¹. Este es un derivado lácteo que se caracteriza por tener cualidades sensoriales generalmente superiores en comparación con los tipos o variedades similares de queso de leche pasteurizada producido industrialmente². Por presentar una microbiota diversa que intervienen en la maduración en procesos como la glucólisis, la proteólisis y la lipólisis los cuales son fundamentales para la producción de queso³. La demanda del consumidor por este alimento ha ido en aumento, sin embargo, los alimentos naturales no son siempre más seguros que los sometidos a procesos⁴.

Estudios han reportado que el consumo de queso artesanal ha contribuido al aumento de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)^{5,6}, debido a falencias en su proceso de fabricación principalmente en puntos críticos como el empleo de leche cruda, fallas en la manipulación, transporte, almacenamiento y aumento de humedad, entre otras⁷. Estos factores impiden mantener un alimento con un nivel de asepsia adecuado que permitan ofrecer un producto apto para consumo humano.

La carga microbiana representa un indicativo claro de la calidad del producto; debido a que los microorganismos presentes en el queso incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno. La presencia de una posible contaminación de la materia prima, inadecuadas temperaturas aplicadas en los procesos, condiciones deficientes de almacenamiento y transporte⁸. Además de la microbiota normal, el queso artesanal también puede albergar bacterias patógenas y/o que pueden alterar el producto, tales como *Staphylococcus aureus*, *Salmomonella spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Pseudomonas aeruginosa* entre otras, responsables principalmente de ETAS⁷.

En Colombia, el departamento de Boyacá es conocido como uno de los principales productores y comercializadores de queso artesanal, debido a que su economía se basa en la industria láctea⁸. Sin embargo, el número de casos de ETAS reportado en el departamento, refleja que los quesos artesanales son el principal vehículo transmisor de patógenos, no obstante, no se determina el microorganismo involucrado pues en la mayoría de los casos no se llega hasta la identificación del agente⁹. El objetivo de esta investigación fue determinar la inocuidad microbiológica de quesos artesanales distribuidos en el municipio de Tunja según la norma técnica colombiana (NTC) 750¹⁰.

METODOLOGÍA

Localización geográfica

La investigación fue desarrollada en el municipio de

Tunja Capital del Departamento de Boyacá - Colombia. El Municipio de Tunja, se encuentra en la parte central del departamento de Boyacá. Localizado a 05° 32'7" de latitud norte y 37° 22'04" de longitud oeste, con alturas que van desde los 2.700 m.s.n.m. hasta 3.150 m.s.n.m. en la parte más elevada; con una temperatura de 13° C.

Selección y tamaño de la muestra

Se realizó un estudio observacional de corte transversal con muestreo aleatorio estratificado. Para la estratificación se tomó como base la división por extensión territorial del municipio de Tunja obtenido por el Análisis de Situación de Salud (ASIS)¹¹, dividiendo el municipio en 8 comunas (Tabla 1). De cada comuna se obtuvo el número total de tiendas distribuidoras de quesos a través del Registro de Cámara y Comercio obteniendo un total de 33 tiendas. Teniendo en cuenta los criterios de inclusión (queso sin ningún registro sanitario, quesos con adecuadas condiciones organolépticas y frescos) y exclusión (queso con más de 8 días de almacenamiento y productos cuyo empaque se encuentren alterados en sus condiciones físicas).

Tabla 1. División por extensión territorial del municipio de Tunja.

COMUNAS	N° BARRIOS	N° TIENDAS SELECCIONAS
Comuna uno - Extremo Norte	29	8
Comuna dos - Noroccidental	25	5
Comuna tres - Nororiental	20	3
Comuna cuatro - Occidental	17	2
Comuna cinco - Centro Histórico	28	7
Comuna seis - Suroccidental	19	2
Comuna siete - Oriental	19	1
Comuna ocho - Suroriental	24	3

Adaptado del Análisis de Situación de Salud con el Modelo de los Determinantes Sociales de Salud, Tunja - Boyacá 2016.

Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizaron de acuerdo a los requisitos que deben cumplir los quesos destinados para el consumo directo o para la elaboración posterior, estipulados en la norma NTC 750. Con base en ésta, fueron analizados coliformes totales y fecales, *Listeria*

monocytogenes, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* Además, se cuantificó aerobios mesófilos, mohos y levaduras.

Para coliformes totales y fecales se pesaron 10g de la muestra a partir de la cual se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-8} en NaCl (Cloruro de Sodio) al 0,85%; se sembró 1 mL de cada dilución en 9 mL con caldo LMX fluorocult® por triplicado, se incubaron a 37°C por 24 horas. El análisis se realizó observando el cambio de color verde para coliformes totales y fluorescencia para identificar la presencia de coliformes fecales.

El recuento de *Staphylococcus aureus* se llevó a cabo sembrando 0,1 mL de cada dilución previamente realizada en medio sólido Salado Manitol (por duplicado), se incubó a 37°C por 24 horas, pasado este tiempo a las colonias presuntivas que presentaron color amarillo se les realizó la prueba de coagulasa (Prueba de coagulasa en tubo con plasma).

Para la determinación de *Salmonella spp.*, se diluyeron 25g del producto en 225 mL de agua peptonada, se incubó por 18 horas a 37°C, a partir de este pre-enriquecimiento se inoculó 1 mL en Caldo Rappaport (10 mL) y se incubó por 24 horas a 37°C, posteriormente se sembró 0,1 mL del caldo enriquecido en medio sólido Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) por 37°C a 24 horas, a las colonias que presentaron coloración rojo con centro negro se les realizó identificación por BBL Crystal^{MT} BD. Para *Listeria monocytogenes*, 25g del queso fueron adicionados a 225 mL de caldo Fraser, el cual se incubó a 4°C por 8 días, pasado este tiempo se sembró en medio Palcam a 37°C por 24 horas, observando las colonias presuntivas grises a verdes rodeadas de halos de color marrón oscuro a negro en el medio, a éstas colonias se les realizó identificación por BBL Crystal^{MT} BD.

Para el recuento en UFC/mL de aerobios mesófilos se sembró 1 mL de cada dilución por profundidad (por duplicado) en medio agar nutritivo incubando a 37°C por 24 horas. A partir de éstas colonias se realizó una segunda

siembra en agar nutritivo, para posteriormente realizar la identificación por el sistema BBL Crystal^{MT} BD.

La determinación de mohos y levaduras se realizó por siembra superficie (por duplicado) en medio Potato Dextrose Agar (PDA) a 25°C por 8 días. La identificación microscópica de mohos y levaduras se realizó mediante la coloración de azul de lactofenol y Gram respectivamente.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS versión 24.0 y Excel. A las variables cualitativas se les realizó análisis descriptivo y las variables cuantitativas medidas de tendencia central y dispersión.

RESULTADOS

Una vez aplicados los criterios de inclusión y exclusión se obtuvo un total de 31 muestras de quesos frescos artesanales (queso campesino y queso de hoja), el recuento promedio de coliformes totales fue de $6,29 \times 10^5$ UFC/g con un recuento máximo de $1,10 \times 10^6$ UFC/g; con base en estos resultados el 96.7% estuvieron fuera de los valores permisibles por la norma ($M: 5000$ UFC/g) para coliformes totales. Entendiendo que M: índice máximo permisible para identificar nivel de calidad aceptable (NTC 750).

Para coliformes fecales el promedio fue de $3,99 \times 10^5$ UFC/g, del total de las muestras el 19.3% cumplían con los estándares microbiológicos (valor permisible por la norma ($M: 100$ UFC/g) Entendiendo que M: índice máximo permisible para identificar nivel de calidad aceptable -NTC 750). Se evidenció que del total de las muestras 12 presentaron recuentos similares de coliformes totales y de coliformes fecales (Figura 1). De éstas muestras siete correspondieron a queso de hoja y cinco a queso campesino.

Para *Staphylococcus aureus* el 38,7% de las muestras presentaron rangos superiores a los establecidos por la norma NTC 750 ($M: 1000$ /g), con un promedio de $1,6 \times 10^5$ UFC/g siendo un valor máximo de $3,2 \times 10^6$ UFC/g y valor

Figura 1. Recuento de coliformes totales y fecales en quesos artesanales (queso de hoja y campesino).

mínimo de $2,4 \times 10^2$ UFC/g.

Los resultados para *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhi* arrojaron una prevalencia de 3.6% y 3.1% respectivamente, evidenciando su mayor frecuencia en queso campesino para los dos microorganismos.

Más del 90% de los quesos presentaron recuentos para aerobios mesófilos entre 0 UFC/g y $3,4 \times 10^7$ UFC/g. Los resultados no muestran diferencia entre los recuentos de los dos quesos evaluados. En el análisis de mohos y levaduras diez muestras se encontraron dentro de los valores permisibles ($M:5000$ UFC/g), con mayor prevalencia de queso campesino; las muestras restantes presentaron valores superiores a 4.1×10^5 UFC/g (Figura 2). La identificación macroscópica de las colonias crecidas en PDA se caracterizaron por ser blancas algodonosas con crecimiento radial y borde difuso, colonias blancas a beige, de aspecto veloso, radiado y húmedo, y colonias lisas, brillantes, de color blanco. La identificación microscópica de estas colonias mostro la presencia de levaduras, artroconidias e hifas septadas hialinas. Lo anterior puede sugerir presuntivamente *Candida sp* y *Geotrichum sp*, aunque para confirmar la presencia de estos microorganismos se deben realizar pruebas bioquímicas y moleculares que nos permitan definir si corresponden a ellos. Al comparar el recuento de mohos y levaduras con aerobios mesófilos fue evidente la superioridad en UFC/g de estos últimos a excepción de la muestra 27 (Figura 2).

La identificación bioquímica realizada con Crystal evidenció la presencia de bacterias como *Streptococcus uberis* y *Enterococcus durans* con prevalencia del (6,1%), *Staphylococcus haemolyticus* (4,7%), *Enterococcus faecium* (4.7%) y *Micrococcus kristinae* (3.1%) entre otros. Los microorganismos enteropatógenos encontrados con mayor prevalencia fue *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloace* y *Citrobater freundii* con el 17,2%, 7,3% y 6,1% respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Identificación bioquímica de bacterias aisladas en queso artesanal.

MICROORGANISMO	PREVALENCIA %
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	3,1
<i>Lactococcus garviaea</i>	1,6
<i>Lactococcus raffinolactis</i>	1,6
<i>Enterococcus faecium</i>	4,7
<i>Enterococcus raffinosus</i>	3,1
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1,6
<i>Streptococcus uberis</i>	6,1
<i>Enterococcus durans</i>	6,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,6
<i>Micrococcus kristinae</i>	3,1
<i>Corynebacterium bovis</i>	1,6
<i>Bacillus subtilis</i>	1,6
<i>Bacillus licheniformis</i>	3,1
<i>Bacillus cereus</i>	1,6
<i>Staphylococcus simulans</i>	1,6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3,1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,6
<i>Stomatococcus mucilaginosus</i>	1,6
<i>Listeria monocytogenes</i>	3,6
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>	4,7
<i>Enterobacter cloacae</i>	7,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17,2
<i>Citrobacter freundii</i>	6,1
<i>Escherichia coli</i>	1,6
<i>Salmonella typhi</i>	3,1
<i>Proteus vulgaris</i>	1,6
<i>Serratia liquefaciens</i>	1,6

Figura 2. Recuento de aerobios mesófilos y mohos y levaduras en quesos artesanales (queso de hoja y campesino).

DISCUSIÓN

Este estudio proporciona datos sobre la inocuidad que presentan los quesos artesanales comercializados en la ciudad de Tunja, así como la identificación de patógenos causantes de ETA. Los recuentos de aerobios mesófilos obtenidos en el presente trabajo fueron similares descritos por otros estudios en queso artesanal^{5,12-13}. La presencia de estos indicadores es normal si se considera que este grupo incluye un amplio número de microorganismos patógenos y no patógenos, capaces de crecer a temperatura ambiente, y por su ubicuidad pueden encontrarse en diferentes ambientes como: potreros, fincas, granja, establos y casas donde es elaborado el queso artesanal u obtenida la materia prima. Estando asociados con inadecuadas prácticas de manufactura y falta de higiene en los equipos o utensilios empleados en el procesamiento, almacenamiento y manipulación¹⁴⁻¹⁶. Dentro de este grupo se encuentran mohos y levaduras que están asociados con el ambiente en donde es elaborado y almacenado el queso, es así como estas condiciones representan el principal factor de aumento para la presencia de éstos microorganismos^{16,17}. De acuerdo con los resultados obtenidos algunas muestras presentaron recuentos por fuera del límite permisible, demostrando que las condiciones de almacenamiento influyen en el resultado¹⁸ y posiblemente su comercialización en plazas de mercado y tiendas no se realiza en condiciones de refrigeración adecuadas¹.

De acuerdo a los estándares exigidos por la norma, se analiza que la presencia de *S. aureus* en las muestras puede ser atribuido a la manipulación por encontrarse dentro de la flora normal de piel y mucosas¹⁹ y/o por la contaminación derivada del ordeño. A nivel nacional se han reportado prevalencias de 41,4% y 31% de *Staphylococcus aureus coagulasa* positiva en queso artesanal^{17,19}; mientras que, a nivel internacional refieren entre el 1.53% y 4.54%²⁰. Datos relevantes debido a que este microorganismo puede producir enterotoxinas en este tipo de alimentos capaces de originar infecciones oportunistas en el ser humano¹⁷.

Otro de los principales indicadores de higiene está relacionado con la presencia de coliformes totales y fecales frecuentemente encontrados en quesos artesanales, y asociados a brotes o infecciones alimentarias²¹, siendo *Escherichia coli* el microorganismo implicado en la mayoría de los casos, el cual refleja ineficiente higiene durante la elaboración o manipulación del producto²². Estos resultados son comparables a nivel internacional en donde su identificación supera los límites permisibles²²⁻²⁶.

La presencia de

con un porcentaje de 3.1% es un dato alarmante, debido a que el queso crudo es consumido por una alta proporción de la población colombiana, la cual desconoce los riesgos presentes en este tipo de alimentos y su alta patogenicidad²⁷. Este es un enteropatógeno que sobrevive en el suelo, medio ambiente y agua estancada, donde la vaca al alimentarse puede contaminarse, además puede formar parte de la flora microbiana de la ubre de la vaca y en ocasiones producir

mastitis²⁸, condiciones que no son tenidas en cuenta por los productores de queso artesanal debido a su desconocimiento²⁹. La presencia de este microorganismo no es frecuente, no obstante, algunos estudios han informado prevalencias de 1.0%, 1.3%, 4.8% y 19,8% en queso tipo artesanal^{24,30,31,32} similar con lo encontrado en esta investigación. Al igual que *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, es un microorganismo altamente patógeno asociado a ETA en todo el mundo. Su presencia en esta investigación es comparable con la realizada por Martins y colaboradores en queso minas³³. Sin embargo, otros estudios han reportado la ausencia de este microorganismo^{30,34}; tal es el caso de Albarracín y colaboradores, quienes no encontraron *Salmonella sp* en muestras de quesos frescos (queso de hoja, cuajada) y queso doble crema en Pamplona (Colombia), justificando que la ausencia puede estar enmascarada debido a factores como pH ácido, baja disponibilidad de azúcares para su desarrollo y competencia con otros microorganismos³⁵.

Se identificaron microorganismos como *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*, que no hacen parte de la microbiota normal del queso y son microorganismos causantes de ETA. Se destacó la presencia de *Klebsiella pneumoniae* con una prevalencia de 17.2% en las muestras analizadas, posiblemente adquirida por la colonización y sobreinfección de la ubre de la vaca en el momento del ordeño³⁶. Otros microorganismos identificados fueron: *Lactococcus lactis ssp. Lactis*, *Lactococcus raffinolactis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* entre otros, derivados de la leche y que están presentes en el queso para contribuir con el sabor, textura, biopreservación y calidad nutritiva³⁷.

CONCLUSIÓN

Apenas el 6% de las muestras analizadas fueron aptas para consumo humano, tanto el queso campesino descremado como el queso de hoja mostraron índices elevados de contaminación, resaltando la presencia de *L. monocytogenes* y *Salmonella typhi*. Lo anterior, indica la existencia de fallencias en los procesos de manipulación de producto y la posible obtención de materia prima en condiciones microbiológicas inadecuadas. Sin embargo, para establecer con exactitud la fuente de contaminación se debe hacer un análisis de todos los puntos críticos de control de procesamiento, almacenamiento y transporte.

Se resaltan las diferencias entre los dos tipos de quesos, encontrándose que para quesos artesanales tipo hoja el recuento de coliformes totales fue mayor, mientras que en queso campesino descremado la prevalencia de *L. monocytogenes* fue superior, así como los recuentos de mohos y levaduras y *S. aureus*.

Recomendación

Se recomienda implementar estrategias, que contribuyan a la transferencia de tecnologías para la población productora de quesos artesanales, así mismo crear conciencia en la importancia de realizar un manejo higiénico en el ordeño,

transporte de la leche y la elaboración del producto, con el fin de lograr los niveles de calidad emitidos por la norma NTC 750 y de esta manera, disminuir los riesgos de ETA. A pesar de que la norma no contempla el estudio de *Klebsiella* sp, se recomienda que este tipo de análisis sea obligatorio debido a su alta patogenicidad, conferida por la resistencia a antibióticos y la alta prevalencia encontrada en este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- Montel M, Buchin S, Mallet A, Delbes-Paus C, Vuitton D, Desmasures N, Berthier F. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *Int. J. Food. Microbiol* 2014; 177: 136-154.
- Pappa EC, Bontinis TG, Tasioula-Margari M, Samelis J. Microbial Quality of and Biochemical Changes in Fresh Soft, Acid-Curd Xinotyri Cheese Made from Raw or Pasteurized Goat's Milk. *Food Technol Biotechnol*. 2017; 55(4): 496.
- Galinari É, Nóbrega JE, Andrade NJ, Ferreira CL. Microbiological aspects of the biofilm on wooden utensils used to make a Brazilian artisanal cheese. *BJM*. 2014; 45(2): 713-720.
- Yoon Y, Lee S, Choi KH. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control* 2016 1; 63: 201-215.
- Pacheco J, Sandoval B, Medellín M, Corredor D. Microbiological quality in fresh artisanal cheeses distributed in market squares of Tunja, Colombia. *Cuban Journal of Hygiene and Epidemiology* 2016; (3): 53.
- Escobar-Zepeda A, Sanchez-Flores A, Baruch MQ. Metagenomic analysis of a Mexican ripened cheese reveals a unique complex microbiota. *Food microbiology* 2016; 1:57, 116-127.
- Chams, L., Hernández, C., Gracia, L., Curi-Regino, K., Olivero-Verbel, R. Antimicrobial effect of edible films on pathogenic and deteriorating microorganisms of coastal cheese. *Agron. colomb*. 2016; S1458-S1461.
- Castrillón D. Report: Dairy basins, engines of production [Internet]. 2018 [May 3, 2018]; Available at: <http://www.fedegan.org.co/noticias/informe-cuencas-lecheras-motores-de-la-produccion-nacional>
- Lancheros A. Report on the epidemiological behavior of the events of the foodborne diseases component, Boyacá, sixth epidemiological period of 2016. Tunja Boyacá. 2016. <https://www.boyaca.gov.co/SecSalud/component/easyfolderlistingpro/?>
- Colombian Institute of Technical Standards and Certification (ICONTEC). Colombian Technical Standard (NTC) 750: dairy products cheeses. Bogotá, Colombia: ICONTEC; 2000. <https://es.scribd.com/doc/145758324/NTC-750-Queso>
- Castillo L, Ramos S. Analysis of health situation with the model of social determinants of health, Tunja - Boyacá 2016. Tunja Boyacá: mayor of Tunja secretary of social protection; 2016. <https://www.boyaca.gov.co/SecSalud/images/Documentos/asis2016/asis-municipal-2016-tunja.pdf>
- Aguilar C, Rossi O, Vidal A, Ribeiro L, Rossi G. Microbial quality of industrial and retail market grated parmesan cheese in the State of São Paulo, Brazil. *Cienc. Rural*, 2016; 46(12): 2257-2263.
- Mourad G, Bettache G; Omrane T. Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Rural Traditional Cheese (Jben) of Djelfa Province. *Int J Microbiol Res*, 2015; (6): 175-187.
- Thabet H, Nogaim Q, Alazaze T, Alabadli Y, & Aon S. Microbiological characteristics and mineral content of local smoked cheese produced in Yemen. *JFNS*, 2013; 1(4): 65-71.
- Levkov V, Sbrinovska, S, Gjorgovska N. Microbiological and chemical characteristics of traditional ewe's milk cheese from Mariovo region. *Mljekarstvo*, 2014; 64.
- Leon Y, Delmonte M, Fernandez P, Silva R, Salcedo, A. Molds and yeasts in semi-hard artisan cheese sold in the city of Maracaibo, Zulia state, Venezuela. *Science*, 2015; 22 (4).
- Ruiz R, Meneo N, Chams L. Microbiological evaluation of artisan coastal cheese and hygienic-locative evaluation of small shops in Córdoba, Colombia. *Rev. Salud Pública* 2017; 19(3): 311-317. (34)
- Vásquez N, Duran L, Sánchez C, Acevedo I. Evaluation of the physicochemical and microbiological characteristics of white cheese at distributors' level, Lara State, Zootec. *trop*. 2012; (30): 217-223.
- Herrera A, Santos B. Enterotoxigenic Genes in strains of *Staphylococcus* spp., isolated from cheese made in Pamplona-Colombia. *Rev.MVZ Córdoba*. 2015; 20(1): 4472-4481.
- Giselda B, Victoria B, Karina P, Julio C, Desk S. Coagulase positive enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* count in paraguay semi-hard cheese. *SDRP-JFST*.2016; 1(4).
- National Institute of Health. Vigilance in health public situation national, Colombia 2017. <https://www.ins.gov.co/buscadoreventos/BoletinEpidemiologico/2017%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2028.pdf>
- Jafar, S. M., Zohreh, H. S. The Determination of Contamination Rate of Traditional White Cheese in Behbahan Markets to Coliforms and Pathogenic *Escherichia Coli*. *WASET*. 2015; 2(7).
- Trmčić, A., Chauhan, K., Kent, D. J., Ralyea, R. D., Martin, N. H., Boor, K. J., Wiedmann, M. Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. *JDS*. 2016; 99(8): 6105-6120.
- Martinez-Rios, V., Dalgaard, P. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in European cheeses: A systematic review and meta-analysis. *Food Control* 2018; 84: 205-214.
- Moraes PM, Vicoso GN, Yamazi AK, Ortolani MB, Nero LA. Foodborne pathogens and microbiological characteristics of raw milk soft cheese produced and on retail sale in Brazil. *Foodborne Pathog. Dis* 2009; 1;6(2): 245-249.
- Freitas R, Brito MA, Nero LA, de Carvalho AF. Microbiological safety of Minas Frescal Cheese (MFC) and tracking the contamination of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in MFC processing. *Foodborne Pathog. Dis* 2013; 1;10(11): 951-955.
- Colagiorgi A, Bruini I, Di Ciccio PA, Zanardi E, Ghidini S, Ianieri A. *Listeria monocytogenes* Biofilms in the Wonderland of Food Industry. *Pathogens* 2017; 4; 6(3): 41.
- Condoleo R, Mezher Z, Marozzi S, Guzzon A, Fischetti R, Senese M, Sette S, Bucchini L. Risk Assessment of Human Listeriosis from Semisoft Cheeses Made from Raw Sheep's Milk in Lazio and Tuscany (Italy). *SRA* 2017; 1;37(4): 661-676.
- Urbano E, Aguilera A, Jaimes C. Determination of the antibiotic susceptibility profile of *Listeria* sp. isolated from raw cow's milk in Tunja. *Health Research Journal University of Boyacá*. 2017; 24; 4(1): 38-52.
- Cabedo L., L. Picart i Barrot, A. Teixido i Canelles. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in ready-to-eat food in Catalonia, Spain. *J. Food Prot* 2008; 71: 855-859.
- Colak, H., H. Hampikyan, E. B. Bingol, B. Ulusoy. Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp., in Tulum cheese. *Food Contr* 2007; 18: 576-579.
- Esho F. K., B. Enkhtuya, A. Kusumoto, K. Kawamoto. Microbial assessment and prevalence of foodborne pathogens in natural

- cheeses in Japan. *Biomed Res* 2013; 20.
33. Martins JM, Galinari É, Pimentel-Filho NJ, Ribeiro Jr JI, Furtado MM, Ferreira CL. Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. *BJM*. 2015; 46 (1): 219-230.
34. Kim NH, Lee NY, Kim HW, Cho TJ, Joo IS, Heo EJ, Rhee MS. Microbiological criteria and ecology of commercially available processed cheeses according to the product specification and physicochemical characteristics. *Food Res Int*. 2018; 10.
35. Albarracin F, Sarmiento P, Carrascal K, Market M. Estimation of the proportion of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp in fresh cheeses (leaf cheese, curd) and Double Cream cheese produced and marketed in the Municipality of Pamplona, Norte de Santander. *Bistua* 2007; 4 (2): 30-41.
36. Tabla R, Gómez A, Simancas A, Rebollo J, Molina F, Roa I. "Enterobacteriaceae species during manufacturing and ripening of semi-hard and soft raw ewe's milk cheese: Gas production capacity." *Small Ruminant Research* 2016; 145: 123-129.
37. de Lima ED, de Moura Fernandes J, Cardarelli HR. Optimized fermentation of goat cheese whey with *Lactococcus lactis* for production of antilisterial bacteriocin-like substances. *LWT-Food Science and Technology*. 2017 Oct 1; 84: 710-716.