

EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Enterobacter* COMO CULTIVOS INICIADORES PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO TIPO PALMITA VENEZOLANO CON LECHE PASTEURIZADA

Evaluation of *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* and *Enterobacter* strains as starters for the elaboration of Palmita-type cheese with pasteurized milk

Lilibeth Cabrera de Petit
Alexis Ferrer Ocando

Laboratorio de Alimentos, Departamento de Química
Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

Microorganismos no patógenos aislados del queso tipo Palmita comercial pertenecientes a los géneros *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Enterobacter*, se utilizaron en cultivos iniciadores simples y mixtos, con el fin de seleccionar los más adecuados para elaborar queso tipo Palmita con leche pasteurizada. Se elaboraron quesos con leche pasteurizada inoculados con las cepas bacterianas en cultivos iniciadores simples y quesos con leche cruda como control. A dichos quesos se les hicieron determinaciones de pH, acidez titulable y análisis sensorial. Como resultado de esto, se hizo una preselección de las cepas. Estas cepas preseleccionadas se utilizaron posteriormente en cultivos mixtos en la elaboración de queso con leche pasteurizada. A los quesos elaborados se les determinó pH, acidez titulable y el grado de aceptabilidad, resultando dos mezclas constituidas por *Enterococcus faecalis* y *Enterobacter cloacae*, y *Lactobacillus casei* y *Enterobacter cloacae*, como las más adecuadas para producir las características de sabor, color, textura y "ojos" típicos del queso tipo Palmita.

Palabras claves: cultivos iniciadores, leche pasteurizada, queso palmita.

ABSTRACT

Non-pathogenic microorganisms isolated from Venezuelan Palmita-type cheese belonging to the genera *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* and *Enterobacter*, were used as single and mixed starters in order to select the most suitable to manufacture Palmita-type cheese with pasteurized milk. Cheeses were made with pasteurized milk inoculated with single starters. Cheeses made with raw milk were used as control. Titratable acidity, pH and sensory analysis were carried out to the cheese samples. As a result, a strain preselection was made. The preselected strains were subsequently used as mixed starters for cheese manufacture with pasteurized milk. Determinations of pH, titratable acidity, and degree of acceptability were made to the cheeses, resulting two mixtures, constituted by *Enterococcus faecalis* and *Enterobacter cloacae*, and *Lactobacillus casei* and *Enterobacter cloacae*, as the most suitable to produce the characteristics of taste, color, texture and "eyes", typical of Palmita-type cheese.

Key words: Starters, pasteurized milk, palmita-type cheese.

INTRODUCCIÓN

El queso tipo Palmita es un queso fresco que se elabora con leche de vaca cruda caliente tanto en industrias como en algunas haciendas. Se utiliza renina para la coagulación de la leche y una vez despicado el coágulo, la cuajada resultante es cortada en cubos de 3 cm de lado para su salado en sal-

muera a temperatura de 25°C. Posteriormente se introducen los cubos en moldes de 10-12 kg, se presan por algunas horas y se incuban a temperatura ambiente durante 2-3 días para la formación de sus características sensoriales. En general, los quesos que se consiguen en el mercado son de calidad organoléptica variable. Presentan las siguientes características físico-químicas: 5,3 de pH, 0,95% de ácido láctico, 2,79% de cloruros (base seca), 45,14% de humedad y 0,958 de actividad de agua [16].

Los quesos elaborados en las industrias utilizan leche de aceptable calidad físico-químicas y microbiológica según estándares venezolanos [7] y las operaciones de manufactura se realizan en condiciones sanitarias adecuadas. Sin embargo, los quesos elaborados presentan contajes de *Escherichia coli* y de *Staphylococcus aureus* coagulasa-positiva [16] superiores a los aceptados por las normas internacionales [13,22] haciendo del queso un producto de cierta peligrosidad para la salud pública, debido al riesgo de intoxicación por dichas bacterias, como ha ocurrido en otros quesos [1, 2, 18, 20, 21, 25, 32]. Como en Venezuela no existen normas para el control de calidad de quesos frescos, el riesgo es aún mayor.

Se ha propuesto la pasteurización de la leche para eliminar el riesgo de la presencia de gérmenes patógenos en la leche cruda. Sin embargo, para obtener un queso con leche pasteurizada cuyas características organolépticas sean similares a las del queso Palmita, es necesario agregarle cultivos seleccionados de bacterias. Ferrer y col. [17], sugirieron probar bacterias coliformes, enterococos y lactobacilos como cultivos iniciadores, dados los altos contajes respectivos encontrados en dicho queso.

El presente trabajo tiene como objetivo realizar una evaluación preliminar de microorganismos no patógenos aislados del queso tipo Palmita comercial, como estreptococos, algunos enterococos, lactobacilos y ciertos coliformes con el fin de utilizarlos como cultivos iniciadores para la elaboración de queso con leche pasteurizada que presente características organolépticas similares a las del queso tipo Palmita.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación de las cepas bacterianas en leche Litmus, su selección e identificación

Las cepas utilizadas se aislaron del queso Palmita comercial [16]. Se seleccionaron cepas no patógenas y de elevada incidencia en dicho queso. Los microorganismos se sembraron previamente en tubos con medio leche Litmus (Difco) y se incubaron durante 4 días a 35°C, observándose diariamente con el fin de seleccionar aquellos microorganismos acidificantes, coagulantes de la leche y/o productores de gas. Se estudiaron 33 cepas del género *Enterococcus*, 3 cepas del género *Streptococcus*, 20 cepas del género *Lactobacillus* y 5 cepas del género *Enterobacter*. Las cepas de *Enterococcus* se identi-

ficaron según Mundt [28], las de *Streptococcus* según Hardie [19], las cepas de *Lactobacillus* se identificaron según Kandler y Weiss [24], y las de *Enterobacter* según Edwards y Ewing [11] y Farmer y col. [14].

Preparación de los cultivos iniciadores

Las cepas seleccionadas en la prueba de leche Litmus se mantuvieron en sus medios de cultivos selectivos: agar K.F. *Streptococcus* (KFSA) para *Enterococcus*, agar Infusión Cerebro Corazón (BHA) para *Streptococcus*, agar Man Rogosa Sharpe (MRS) para *Lactobacillus*, y agar Bilis Rojo Violeta (BRVA) para *Enterobacter*. De estos medios se transfirieron a tubos con 10 ml de leche descremada (Karla) al 10% (v/v) estéril. A partir de estos cultivos se obtienen los llamados cultivos iniciadores activos en porcentajes de inóculo del 4% para las cepas de *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillus*, y en porcentajes del 4%, 2%, 0.001% y 0.002% para las cepas de *Enterobacter*. Estas variaciones de porcentaje son con la finalidad de lograr menor crecimiento de las cepas de *Enterobacter* y por lo tanto pocos y espaciados huecos u "ojos" en el queso. Los cultivos fueron incubados durante 24 horas a una temperatura dependiente del microorganismo; 32°C para los lactobacilos y 35°C para el resto de los microorganismos.

Control de calidad de la leche

La leche utilizada para la elaboración de los quesos se obtuvo cruda en una industria pasteurizadora de la región, y se sometió en todos los casos a los siguientes análisis: pH y acidez titulable de acuerdo a los métodos descritos por la A.O.A.C.* [3], y Reductasa por el método descrito por Demeter y Elberhagen [9].

Manufactura del queso

La tecnología usada para la fabricación del queso es la propuesta por Ferrer [15]. Se pasteurizan 5 litros de leche cruda a 65°C por 30 minutos y se enfrían hasta 35°C. A esta temperatura se adiciona el fermento seleccionado una vez que presenta una acidez titulable en un rango entre 40 y 60 grados. Se incuba por 45 minutos. Se agrega entonces cuajo (0,04 g/1) y cloruro de calcio (0,17 g/1). La coagulación dura aproximadamente 30 minutos. Luego, se corta finamente el coágulo y se deja que las partículas de cuajada sedimenten por gravedad durante 15 minutos. Se corta la cuajada en cubos de 3 cm de lado, los cuales se introducen en salmuera (12% de sal) a temperatura ambiente (25°C) por 15 minutos. Los cubos salados se introducen en moldes de madera de dimensiones 12 cm x 12 cm x 30 cm. Los quesos así formados se someten a prensado (0,014 kg/cm²) por 30 minutos, y luego se incuban en una estufa a 35°C (dentro de los moldes) durante 30 horas. La leche empleada para fabricar los quesos de control con leche cruda también se incubó durante 45 minutos a 35°C hasta el momento de la adición del cuajo.

* Association of Official Analytical Chemist.

TABLA I

CARACTERISTICAS EN LECHE LITMUS DE CADA UNA DE LAS CEPAS SELECCIONADAS

Período de Incubación (h)	Cepas Bacterianas					
	S ₁	S ₂	S ₃	L ₁	L ₂	E
36	R	RC	R	-	-	A
48	R	RC	R	R	-	AG
72	AC	AC	RC	R	R	AG
96	AC	AC	AC	A	AC	RCpG

S₁: *E. faecalis* subsp. *faecalis*S₂: *E. faecalis* subsp. *zymogenes*S₃: *S. thermophilus*L₁: *L. casei*L₂: *L. casei*E: *E. cloacae*

R: Reducción

A: Acidificación

C: Coagulación total

Cp: Coagulación parcial

G: Gas

Elaboración de quesos con cultivos iniciadores simples

Esta prueba consistió en elaborar quesos distribuidos en seis (6) series correspondientes al uso de cultivos iniciadores simples. En cada serie se elaboraron dos quesos con leche cruda, y dos quesos con leche pasteurizada y cultivo iniciador. Los cultivos iniciadores utilizados estuvieron constituidos por las cepas seleccionadas en la prueba de leche Litmus: S₁, S₂, S₃, L₁, L₂ y E, en volúmenes de 200 ml (4%) cada uno. Las cepas de *Enterobacter*, se utilizaron además en volúmenes de inóculo de 200 ml, 100 ml, 0,01 ml y 0,05 ml.

Elaboración de quesos con leche pasteurizada y cultivos iniciadores mixtos

Se elaboraron dos quesos con la mezcla binaria S₁E y dos quesos con la mezcla binaria L₂E. A su vez cada mezcla se hizo con dos volúmenes diferentes de inóculo, con el fin de evaluar la proporción más adecuada en el desarrollo de las características sensoriales del queso tipo Palmita. Los volúmenes de inóculos utilizados aparecen en la TABLA IV. Los fermentos S₂, S₃ y L₁ no se utilizaron porque los resultados de la prueba sensorial en cultivos simples los descartó completamente.

Análisis químico de los cultivos iniciadores y de los quesos

Cultivos Iniciadores: Los cultivos iniciadores se observaron microscópicamente en frotis teñidos con azul de metileno con el objeto de asegurar su pureza, así como también se les hizo determinaciones de pH y acidez titulable [3].

Quesos: Los quesos se sometieron a los siguientes análisis químicos: pH y acidez titulable [3]. La acidez titulable se reporta en grados de acidez, equivalentes a ml de NaOH 0,1 N/25 g de queso, multiplicado por 10.

Análisis Sensorial

Se llevó a cabo en todos los quesos correspondientes a las 8 experiencias, donde se evaluaron las siguientes características: color, sabor, textura y presencia de ojos. Para ello se utilizó un papel de 12 personas que consumen frecuentemente queso tipo Palmita de la región. El análisis consistió en evaluar el grado de aceptabilidad en una escala de cero a cinco para cada uno de los parámetros, siendo cinco el de mayor calidad [5]. El resultado se reporta como promedio. Quesos superiores a 3, se consideran similares al queso tipo Palmita.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se observan las reacciones en leche Litmus de las cepas bacterianas seleccionadas, a lo largo de un período de incubación de 96 horas a 35°C. Las cepas muestra-

ron diferentes comportamientos. En aquellos casos donde se acidifica el medio, aparece el cambio del color del indicador (violeta a rosado) desde la superficie del medio y progresa con el tiempo hacia el fondo del tubo. Las cepas de estreptococos mostraron diferente acción en la leche Litmus y causaron más acidificación que los lactobacilos. Ya a las 72 horas se observó cambio del color del indicador por parte de los estreptococos. La cepa S₁ coaguló el medio por acidificación, mientras que S₂ y S₃ coagularon el medio por acción enzimática. La poca acidificación causada por S₃ pudo ser debida a la incubación a una temperatura por debajo de su óptima.

Las cepas de lactobacilos acidificaron la leche muy lentamente. Las cepas L₁ y L₂ a pesar de ser ambas *L. casei*, mostraron diferencias en la velocidad de reducción y acidificación del medio leche Litmus.

La cepa de *Enterobacter* acidificó el medio rápidamente, con producción de gas, y se observó coagulación parcial de la leche a las 96 horas.

En base a sus características fisiológicas las bacterias seleccionadas resultaron identificadas como: *Enterococcus faecalis* subsp. *faecalis* (S₁), *Enterococcus faecalis* subsp. *zymogenes* (S₂), *Streptococcus thermophilus* (S₃), *Lactobacillus casei* (L₁,L₂) y *Enterobacter cloacae* (E).

Los resultados de los análisis de control de calidad de la leche utilizada para elaborar el queso aparecen en la TABLA II. La leche fue de calidad "regular" a "buena" de acuerdo con el criterio del tiempo promedio de reducción del azul de metileno [7]. El pH y la acidez titulable fueron normales y con

TABLA II

ANÁLISIS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE

	pH	Acidez ml de NaOH 0,1 N/100 ml	Reductasa (min)
\bar{X}	6,5	17,3	192
s	0,08	1,6	70,3
C.V.%	1,3	9,5	36,7
Rango	6,4-6,7	15,0-20,0	125-350

\bar{X} : Media
s: Desviación estándar
C.V.%: Coeficiente de variación

excepción de la reductasa, los coeficientes de variación son aceptables para un producto comprado a nivel de planta [8].

En la TABLA III se muestra la acidez de quesos elaborados con leche cruda y con leche pasteurizada más cultivos iniciadores simples en las 6 primeras series de experiencias. Los quesos elaborados con leche cruda fueron los que presentaron significativamente valores más altos de acidez, promedio de

TABLA III

VALORES DE ACIDEZ DE QUESOS ELABORADOS CON LECHE CRUDA Y LECHE PASTEURIZADA CON CULTIVO INICIADOR SIMPLE

Cultivo Iniciador ¹	Acidez ²	
	QLC	QLPI
S ₁	28,0	15,5
S ₂	25,0	19,0
S ₃	25,0	7,0
L ₁	25,0	8,5
L ₂	29,5	8,7
E	25,0	4,5
\bar{X}	26,3 _a	10,9 _b
s	2,0	5,1
C.V. %	7,6	46,6

S₁: *E. faecalis* subsp. *faecalis*

S₂: *E. faecalis* subsp. *zymogenes*

S₃: *S. thermophilus*

L₁: *L. casei*

L₂: *L. casei*

E: *E. cloacae*

1: El volumen de inóculo es igual a 200 ml (4%) para todos

2: La acidez está expresada como ml NaOH 0,1N/100ml

QLC: Quesos elaborados con leche cruda

QLPI: Quesos elaborados con leche pasteurizada y cultivo iniciador simple

a,b: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0,01$)

\bar{X} : Media

s: Desviación estándar

C.V.%: Coeficiente de variación

26,3. El promedio de acidez en quesos con leche pasteurizada fue muy bajo (acidez = 10,9), mostrando que la presencia de un fermento constituido por un sólo tipo de microorganismo no proporciona una acidez comparable con aquella aportada por los numerosos microorganismos presentes en la leche cruda. Sin embargo, en quesos elaborados con leche pasteurizada e inoculados con S₁ o S₂, se obtuvo valores de acidez relativamente altos (15,5 y 19,0 acidez, respectivamente) comparado con el resto de las cepas. Llama la atención, la baja acidez en quesos elaborados con leche pasteurizada y lactobacilos, aún cuando se reconoce que ellos son más acidificantes que los estreptococos [9]. No obstante, Jensen y col. [23] reportan que la capacidad relativa de acidificación de los microorganismos depende del medio donde se encuentren y que los quesos, debido a la gran variabilidad en las condiciones de elaboración y características físico-químicas, presentan resultados muy variables.

En la TABLA IV se observa que los quesos elaborados con S₁ resultaron con características de sabor, color y textura similares al queso Tipo Palmita comercial, aun cuando no resultaron determinantes de la formación de ojos típicos. Cabe resaltar que esta misma cepa produjo valores altos de acidez, TABLA III. Los quesos elaborados con L₂, aceptables en cuanto a color y textura, resultaron inferiores en sabor con respecto a los quesos elaborados con S₁. Sin embargo, dado su nivel elevado en el queso Palmita comercial [16], se consideró conveniente incluirlo dentro de las cepas ensayadas en cultivos mixtos, al igual que S₁.

Los quesos elaborados con S₂, S₃ y L₁, resultaron descartados por no presentar características típicas del queso tipo Palmita comercial.

Por lo antes dicho, se puede considerar que el uso de especies bacterianas en cultivos simples, no produce características organolépticas típicas del queso tipo Palmita, al igual que ocurre con otros quesos [26].

TABLA IV

CARACTERÍSTICAS DE SABOR, COLOR, TEXTURA Y PRESENCIA DE OJOS EN QUESOS ELABORADOS CON LECHE PASTEURIZADA Y CULTIVO INICIADOR SIMPLE

Cultivo Simple	Sabor	Color	Textura	Ojos
S ₁	Acido	Blanco	Firme	Ausentes
S ₂	Amargo	Blanco	Cremoso	Ausentes
S ₃	Acido	Crema	Gomoso	Ausentes
L ₁	Poco ácido	Crema	Gomoso	Ausentes
L ₂	Acido	Blanco	Firme	Ausentes

S₁: *E. faecalis* subsp. *faecalis*

S₂: *E. faecalis* subsp. *zymogenes*

S₃: *S. thermophilus*

L₁: *L. casei*

L₂: *L. casei*

En la TABLA V se observa que la presencia de ojos grandes y aislados, los cuales son típicos del queso tipo Palmita, se obtuvieron cuando se usó la cepa de *E. cloacae* en volúmenes de inóculos de 0,05 ml y 0,1 ml. Sin embargo, el sabor no resultó aceptable. A mayores concentraciones, el sabor resultó desagradable (muy amargo) y la apariencia atípica.

TABLA V

VALORES DE ACIDEZ, APARIENCIA Y CARACTERÍSTICAS DE SABOR DE QUESOS CON DIFERENTES VOLÚMENES DE INOCULOS DE *E. cloacae*

Volumen de Inóculo de E (ml)	Acidez ¹	Apariencia	Sabor
200	4,5	Ojos pequeños y abundantes	Muy amargo
100	12,0	Ojos pequeños y abundantes	Muy amargo
0,01	16,0	Ojos grandes y abundantes	Amargo
0,05	13,0	Ojos grandes y abundantes	Amargo

1: La acidez está expresada como ml NaOH 0,1N/100 ml

En base a los resultados obtenidos en las pruebas con cultivos iniciadores simples, se seleccionaron las cepas S₁ y L₂ junto con E como constituyentes de cultivos mixtos, en dos tipos de mezclas: S₁E y L₂E. La TABLA VI muestra que las dos combinaciones mencionadas produjeron quesos con todas las características sensoriales del queso tipo Palmita. Sin embargo, los quesos elaborados con la mezcla S₁E presentaron un grado de aceptabilidad mayor, aún cuando tuvieron menor acidez comparado con la mezcla L₂E. En este último caso, la acidez de los quesos resultó mayor que la aportada por cada especie en cultivos simples, demostrando con ello una interacción positiva de especies con respecto a la acidez en quesos elaborados con leche pasteurizada. Casos como éste han sido reportados en la literatura, entre *Lactobacillus* y *Streptococcus*

TABLA VI

VALORES DE ACIDEZ, pH Y GRADO DE ACEPTABILIDAD DE QUESOS ELABORADOS CON LECHE PASTEURIZADA Y CULTIVO INICIADOR MIXTO

Cultivo Iniciador	Volumen del Inóculo (ml)	Acidez ¹	pH	Grado de Aceptabilidad
S ₁ E	100 + 0,01	11,5	5,8	4,4
	200 + 0,05	13,6	5,8	4,4
L ₂ E	100 + 0,01	22,0	5,3	4,0
	200 + 0,05	26,0	5,3	4,0

1: La acidez está expresada como ml NaOH 0,1N/100 ml
S₁E: *E. faecalis* subsp. *faecalis* y *E. cloacae*
L₂E: *L. casei* y *E. cloacae*

en yogurt [10] y entre *Lactobacillus* y *Propionibacterium* en queso Suizo [30]. En general, los niveles de aceptabilidad de quesos elaborados con las dos mezclas constituidas por *E. faecalis* y *E. cloacae*, y *L. casei* y *E. cloacae*, justifican su uso en la elaboración de queso tipo Palmita con leche pasteurizada. Sin embargo, como la puntuación más baja se obtuvo en el sabor, se piensa caracterizar el mismo junto con el aroma tanto en el queso tipo Palmita comercial, como en las cepas en estudio, para seleccionar las más adecuadas.

Es posible que hayan objeciones por el uso de cepas de *Enterobacter* sobre todo *E. cloacae* en la elaboración de queso con leche pasteurizada. No obstante, su uso es determinante de la formación de ojos típicos del queso tipo Palmita. En general, las especies del género *Enterobacter* no se consideran patógenas para el hombre [23], sin embargo, habría que asegurarse de la inocuidad de la cepa seleccionada. En el queso tipo Palmita comercial los ojos del queso son formados además por cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae*, lo cual es evidentemente un riesgo elevado desde el punto de vista sanitario.

En la elaboración de quesos con leche pasteurizada no hay problemas con el uso de *L. casei* ya que juega un papel tecnológico importante en ciertos quesos como el Cheddar, Suizo y Manchego [4,27,31]. Lo mismo sucede con el *E. faecalis* [6,9,12,23,26,29,33].

AGRADECIMIENTO

A la Empresa Luis Jiménez Segura y Asociados, Ingenieros Consultores, C.A., Maracaibo, Venezuela, por el financiamiento del trabajo, el cual se realizó en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de dicha empresa y, a la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia por su permanente apoyo a esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Ahmed, A.; Moustafa, M.K. and Marth. E. Growth and survival of *S. aureus* in Egyptian Domiat Cheese. J. Food Prot. 46: 412-415. 1983.
- [2] Arispe, I. and Westhoff, D. Venezuelan white cheese: Composition and quality. J. Food Prot. 47: 27-35. 1979.
- [3] A.O.A.C. Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. William Horwitz. Washington, D.C.. 1980.
- [4] Barneto, R. y Ordóñez, J.A. Preparación de un "starter" para la fabricación de queso Manchego. Alimentaria 107: 39-43. 1979.
- [5] Biede, S.L. and Hammond, E.G. Swiss Cheese Flavor II: organoleptic analysis. J. Dairy Sci. 62: 238-241. 1979.
- [6] Burgos, J. et Ordóñez, J.A. Etude de la variété de

- fromage "Ulloa" II: Preparation d' un levain pour sa fabrication a partir de lait pasteurize. Le Lait 57: 278-286. 1977.
- [7] COVENIN. Norma Leche y Productos Derivados. Métodos de ensayo. Reducción del Azul de metileno. No. 939-76. 1976.
- [8] COVENIN. Norma Leche Cruda. Requisitos. No. 903-77. 1977.
- [9] Demeter, K.J. y Elberhagen, H. Elementos de Microbiología Lactológica. Acribia. Barcelona, España. 1971.
- [10] Driessen, F.M.; Kingma, F. and Stadhouders, J. Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yogurt is stimulated by carbon dioxide produced by *Streptococcus thermophilus*. Neth. Milk. Dairy J. 36: 135-144. 1982.
- [11] Edwards, P.R. and Ewing, W.H. Identification of Enterobacteriaceae. Burgess Publishing Co. Minneapolis. p. 301-307. 1972.
- [12] Efthymiou, C.J.; Baccash, P.; Labombardi, V.J. and Epstein, D.S. Improved isolation and differentiation of enterococci in cheese. Appl. Microbiol. 28: 417-422. 1974.
- [13] Elliot, J.A. Microbial Standards for cheese. J. Dairy Sci. 61: 1.122-1.195. 1978.
- [14] Farmer, J.J.; Davis, B.R.; Hickman-Brenner, D.F.W.; McWhorter, A.; Huntley-Carter, G.P.; Asbury, M.A.; Riddle, C.; Wathen-Grady, H.G.; Elias, C.; Fanning, G.R.; Stelgerwalt, A.G.; O'Hara, C.M.; Morris, G.K., Smith, P.B. and Brenner, D.J. Biochemical Identification of New Species and Biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 21: 46-76. 1985.
- [15] Ferrer O., A. Proyecto Técnico-Económico de la Industria VITAL, S.A. Luis Jiménez Segura y Asociados. Ingenieros Consultores. Maracaibo, Venezuela. 1982.
- [16] Ferrer O., A.; Urdaneta, G.D. y Rincón, Z. Evaluación Físico-química y microbiológica del queso tipo Palmita Venezolano. Rev. Ciencias 4: 133-147. 1987.
- [17] Ferrer O., A.; Urdaneta G., D.; Rincón, Z.; Cabrera S., L. and Basanta, Y. Microflora isolated from Venezuelan Palmita Type Cheese. J. Food Prot. 54: 856-860. 1991.
- [18] Frank, J.F. and Marth, E. Survey of soft and semisoft cheese for presence of fecal coliforms and serotypes of enteropathogenic *E. coli*. J. Food Prot. 41: 189-200. 1977.
- [19] Hardie, J.M. Other Streptococci In: P.H.A. Sneath (ed.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. p. 1068-1970. Leicester, England. 1986.
- [20] Ibrahim, G.F.; Radford, D.R.; Baldock, A.K. and Ireland, L.B. Inhibition of growth of *S. aureus* and enterotoxin production in Cheddar cheese produced with starter failure. J. Food Prot. 44: 189-193. 1981.
- [21] I.N.H. Informe técnico sobre intoxicaciones producidas por estafilococos en Venezuela. Caracas, Venezuela. 1987.
- [22] I.C.M.S.F. Microorganisms in Foods 1: their significance and methods of enumeration. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. University of Toronto Press, U.S.A. 1978.
- [23] Jensen, J.P.; Reinbold, G.W.; Washam, C.J. and Vedamuthu, E.R. Role of enterococci in Cheddar cheese: proteolytic activity and lactic acid development. J. Milk Food Technol. 38: 3-7. 1975.
- [24] Kandler, O. and Weiss, N. Genus *Lactobacillus* In: P.H.A. Sneath (ed). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. p. 1209-1234. Leicester, England. 1986.
- [25] Kornacki, J.L. and Marth, E. Foodborne illness caused by *E. coli*: A review. J. Food Prot. 45: 1051-1067. 1982.
- [26] Kosikowski, F. Cheese and Fermented Milk Foods In: F. Kosikowski (ed). Cultures and Starters, p. 16-26. Kosikowski & Associates, New York. 1987.
- [27] Langsrud, T. and Reinbold, G.W. Flavor development and microbiology of Swiss cheese: A review. J. Milk Food Technol. 36: 593-609. 1973.
- [28] Mundt, J.O. Enterococci. In: P.H.A. Sneath (ed) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. p. 1063-1064. Leicester, England. 1986.
- [29] Ordóñez, J.A.; Barneto, R. y Mármol, M.P. Identificación de la flora que participa en la maduración del queso Manchego. Anal. Bromatol. 30: 361-373. 1978.
- [30] Parker, J.A. and Moon, N. Interactions of *Lactobacillus* and *Propionibacterium* in mixed culture. J. Food Prot. 45: 326-330. 1982.
- [31] Perry, K.D. and Sharpe, M.E. Lactobacilli in raw milk and in Cheddar cheese, J. Dairy Res. 27: 267-275. 1960.
- [32] Tatini, S.R.; Wesala, W.D.; Jezesky, J.J. and Morris, J.A. Production of staphylococcal enterotoxin A in Blue, Brick, Mozzarella and Swiss cheeses. J. Dairy Sci. 56: 429-435. 1973.
- [33] Yanai, Y.; Rosen, B. and Pinski, A. The microbiology of pickled cheese during manufacture and maturation. J. Dairy Res. 44: 149-153. 1977.