

Contacto CONAMER JCR-ICE-AMMOC-AMB-B000213141

De: Microbiólogos de Alimentos <microbiologosdealimentos@gmail.com>
Enviado el: sábado, 30 de octubre de 2021 12:34 p. m.
Para: rfs@cofepris.gob.mx; Contacto CONAMER
Asunto: Comentarios al Proyecto de Modificación NOM-210 (2)
Datos adjuntos: Segundos Comentarios a la modificación de la NORMA-210.pdf

Con relación a la publicación del PROYECTO de modificación de los incisos 5.3, 6.7, 7.1, 7.2, 9.1 y 9.5; así como de diversos incisos de los apéndices normativos A, B, C, G, H, I y J, de la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

Nos permitimos compartir con ustedes NUEVOS comentarios.

En alcance a nuestro correo anterior reiteramos respetuosamente proporcione copia del documento "Propuestas para la Modificación NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos." Indicado como anexo al AIR mirs/52253 (<https://cofemersimir.gob.mx/mirs/52253>) pero no disponible en el Sistema de Manifestación de Impacto Regulatorio

Nos mantenemos atentos a su atención, y reiteramos nuestro interés en participar en las mesas de trabajo que sean necesarias para la implementación de las modificación a la NORMA.

Atentamente
Microbiólogos de análisis de alimentos.



Dice // Numeral	Comentario:
<p>9.1 Norma Internacional ISO 16649-3:2015. Microbiología de los alimentos y alimento de animales. Método horizontal para el recuento de E. coli -glucuronidasa positivo. Parte 3. Técnica utilizando 5-bromo-4-cloro-3-indol--D-glucuronido. Primera edición 2015.</p>	<p>Sin comentarios</p>
	<p>ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. — Part 1: Detection method</p> <p>Es necesario que utilicen referencias vigentes disponibles en el momento de modificación y actualización de la normatividad nacional.</p> <p>Dado que son diversos cambios, se propone el establecimiento de un grupo de trabajo con la participación de todas las partes interesadas.</p>
<p>9.5 Norma Internacional ISO 6888-1:1999. Microbiología de los alimentos y alimentos para animales-Método horizontal para la enumeración de estafilococos coagulasa positivo (S. aureus y otras especies)-Parte 1 Técnica usando Baird Parker Agar Medium (1999).</p>	<p>La norma vigentes es : ISO 6888-1:2021 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) — Part 1: Method using Baird-Parker agar medium</p> <p>Es necesario que utilicen referencias vigentes disponibles en el momento de modificación y actualización de la normatividad nacional.</p> <p>Dado que son diversos cambios, se propone el establecimiento de un grupo de trabajo con la participación de todas las partes interesadas.</p>
	<p>La norma vigentes es : ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella — Part 1: Detection of Salmonella spp.</p> <p>Es necesario que utilicen referencias vigentes disponibles en el momento de modificación y actualización de la normatividad nacional.</p>

	<p>Dado que son diversos cambios, se propone el establecimiento de un grupo de trabajo con la participación de todas las partes interesadas.</p>
	<p>Se propone a la autoridad que considere la equivalencia con el estándar "Bacteriological Analytical Manual" publicado por la FDA de lo Estados Unidos, esto debido a los diversos acuerdos que se tienen en al región de norteamérica, la demanda de productores nacionales que exportan sus productos a Norteamérica y diversas empresas con plantas productivas en México que requieren cumplir con los estándares de sus corporativos situados en Norteamérica, que actualmente los apéndices normativos A, B y C han perdido la equivalencia con las normas internacionales, ya que los métodos de referencia han sido actualizados.</p>
<p>13. Apéndices Apéndice A Normativo. Método de referencia para el aislamiento de Salmonella spp. A.6.2.7.1 Huevo en cascarón. Eliminar cualquier material ajeno adherido a la superficie del cascarón. Desinfección del cascarón: Preparar la solución desinfectante (1:3) que consiste en adicionar tres partes de una solución de etanol o isopropanol al 70% a una parte de solución de yodo/yoduro de potasio. Preparar una solución de alcohol al 70% diluyendo 700mL de etanol al 100% hasta completar un volumen final de 1000mL de agua destilada estéril o bien diluir 700mL de alcohol al 95% con agua destilada estéril hasta completar un volumen final de 950mL. La solución de yodo/yoduro de potasio se prepara como sigue: Pesar 100g de yoduro de potasio y disolver en 200mL-300mL de agua destilada estéril. Adicionar 50g de yodo y calentar suavemente con agitación constante hasta disolver el yodo. Disolver esta solución hasta completar un volumen final de 1000mL de agua destilada estéril y almacenar en una botella ámbar con tapón de vidrio en la oscuridad. Sumergir los huevos en esta solución por al menos 10s, sacarlos y dejar secar al aire. La muestra de laboratorio consiste de 20 huevos, de una muestra de 50 huevos tomados en el punto de muestreo o punto de venta. Abrir los huevos en condiciones asépticas con guantes estériles y pasar a un recipiente estéril, cambiar guantes entre cada muestra. Evitar que fragmentos del cascarón caigan en el contenedor. Mezclar completamente las yemas y claras con una cuchara o cualquier otro instrumento estéril. Mantener las muestras a temperatura ambiente (20°C-24°C) por 96h ± 2h. Después de este tiempo, tomar 25mL o 25g de la mezcla anterior y 25mL de un CST de prueba (testigo) en un contenedor de 500mL y agregar 225mL de CST suplementado con sulfato ferroso (35mg de sulfato ferroso a 1000mL de CST). Mezclar bien por agitación. Dejar en reposo durante 60 min ± 5min a temperatura ambiente. Mezclar nuevamente por agitación y determinar pH con papel indicador. Ajustar el pH, si es necesario, a 6.8 ± 0.2. Incubar 24h ± 2h a 36°C ± 1°C. Continuar como se indica en el inciso A.7.2. de esta Norma.</p>	<p>El texto propuesto indican pasos o requisitos para el muestreo, sin embargo esta norma tiene por alcance describir sólo los métodos de prueba, los métodos de prueba se limitan a la manipulación del ítem de ensayo una vez recibida la muestra en el laboratorio de análisis.</p> <p>Por el alcance de la norma no se puede regular el tamaño de la muestra tomada en gallineros o puntos de venta.</p> <p>Dado que la norma es emitida por la Secretaría de Salud se debe ponderar si es competencia de esta describir el muestreo en Gallineros, o corresponde a la responsabilidad de otra secretaría.</p> <p>No se tiene una definición de gallinero en la sección de definiciones de la norma.</p> <p>La temperatura de incubación de 35°C ± 2 por 24 h ± 2 h Se propone según lo descrito por el BAM, o el ISO 6579 que indica un temperatura de 37 °C ± 2°C, en caso de no considerar esta temperatura favor de citar la referencia donde se justifica que la temperatura de incubación debe ser de 36°C ± 1°C, esta justificación es necesaria ya que impone un requisito de operación más estricto a los impuestos por normas internacionales.</p> <p>Las temperaturas de incubación de los enriquecimientos primarios de todo el apéndice A deben ser revisados ya que las actuales al ser diferentes a las descritas en las normas de referencia, perderían la equivalencia con las mismas.</p> <p>La medición de pH, según la preparación indicada en el BAM, no es requerida.</p> <p>Se propone la siguiente redacción:</p>

	<p>Cada unidad analítica deberá tomarse de veinte (20) huevos, los cuales deben colectarse asépticamente en una bolsa plástica estéril. Los huevos con cascarones astillados, fracturados o rotos no deben ser incluidos en la muestra. Retire cualquier material adherido a la superficie del cascarón del huevo. Desinfecte la superficie del cascarón con una solución de 3 partes de alcohol etílico o isopropílico al 70% y 1 parte de solución yodo/yoduro de potasio. Sumerja los huevos en la solución desinfectante durante al menos 10 segundos. Retire los huevos de la solución y permita secar al aire. Los huevos se parten asépticamente usando guantes estériles, con un cambio de guantes entre muestras (20 huevos). Mezcle suavemente las yemas y las claras utilizando un utensilio estéril (utilice guantes para esta actividad y cambielos entre muestra y muestra). Preenriquecer la muestra de 20 huevos adicionando 2 L de TSB (a temperatura ambiente) y mezcle bien con un utensilio esteril. Cierre el contenedor e incube a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ por $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$.</p>
	<p>Con base a los comentarios anteriores se proponen los siguientes textos basados en el BAM para reemplazar los numerales A.6.2.2 a A.6.2.30</p>
<p>Preparación de alimentos para Aislamiento de salmonella</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Los siguientes métodos de preparación de muestras se basan en el análisis de una unidad analítica de 25 g en una muestra / caldo en proporción de 1:9. 2. Dependiendo de la cantidad de muestra, agregue suficiente caldo para mantener esta proporción de 1:9 a menos que esté indicado de otra manera. Para muestras no analizadas en base al peso exacto, por ejemplo, ancas de rana, frutas, consulte el método de preparación específico, para las instrucciones. 3. <i>De preferencia, no descongele las muestras congeladas antes de su análisis. Si las muestras congeladas deben ser temperadas para obtener la porción de muestra , descongele una una porción apropiada tan rápidamente como sea posible para minimizar el incremento en el número de organismos competidores o para reducir el daño potencial a los organismos de Salmonella. Descongele por debajo de 45 grados centígrados por 15 minutos con agitación continua en un en un baño de agua controlado termostáticamente o descongele en un período de 18 horas a 2-5°C.</i> 4. Cuando se indique, se debe hacer el ajuste de pH a 6.8 +/- 0.2, usando NaOH 1 N o HCl 1 N estéril, el volumen no debe exceder el 1 % del volumen total de la preparación. El pH es medido usando tiras de papel pH adecuado, se debe tener cuidado en que las muestras coloridas pueden interferir en la interpretación. Antes de hacer la medición de pH tome precauciones de agitar la muestra. 	

dejar que la solapa del extremo abierto de la bolsa de plástico se "doble" para formar un cierre seguro, pero no hermético, durante la incubación.

En general las muestras deben ser incubadas dejando las tapas o los cierres de los contenedores parcialmente abiertos.

Tipo de matriz	Método de preparación
<p>Yema de huevo en polvo, clara de huevo en polvo, huevo entero en polvo.</p> <p>Leche líquida (leche descremada, leche con 2% de grasa leche entera y suero de leche)</p> <p>Mezclas de polvos preparados (pasteles, galletas, donas, bizcochos y pan). que contengan huevo y no contengan huevo.</p> <p>Fórmulas infantiles y alimentación oral o parenteral que contenga huevo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra <ul style="list-style-type: none"> ○ Para muestras que no están en polvo, agregue 225 mL de caldo de lactosado ○ Para muestras en polvo agregue aproximadamente de 15 mL de caldo lactosado y agite con una varilla de vidrio estéril cuchara o abatelenguas para facilitar la suspensión. Añada tres porciones adicionales de caldo lactosado de 10 mL, 10 mL y 190 mL para un total de 225 mL. Homogenice bien hasta que la muestra se suspenda sin grumos. ● Homogeneizar por enjuague. ● Dejar reposar por 60 +/- 5 minutos. ● Medir y ajustar el pH a 6.8 +/- 0.2 si es necesario. (ver 4) ● Incubar por 24 h a 35 °C +/- 2°C.
<p>Huevo en cascarón.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Seleccionar aleatoriamente veinte (20) huevos, los cuales deben colectarse asépticamente en una bolsa plástica

	<p>estéril. <i>Los huevos con cascarones astillados, fracturados o rotos no deben ser incluidos en la muestra.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Retirar cualquier material adherido a la superficie del cascarón del huevo. ● Desinfectar la superficie del cascarón con una solución de 3 partes de alcohol etílico o isopropílico al 70% y 1 parte de solución yodo/yoduro de potasio. ● Sumergir los huevos en la solución desinfectante durante al menos 10 segundos. ● Retirar los huevos de la solución y permitir secar al aire. ● Partir los huevos asépticamente usando guantes estériles, con un cambio de guantes entre muestras (20 huevos). ● Mezclar suavemente las yemas y las claras utilizando un utensilio estéril (utilizar guantes para esta actividad y cambiarlos entre muestra y muestra). ● Pre Enriquecer la muestra de 20 huevos adicionando 2 L de CST (a temperatura ambiente) y mezcle bien con un utensilio esteril. ● Cerrar el contenedor ● Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ por $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$
<p>Huevos enteros líquidos (homogeneizados).</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Combinar quince (15) porciones de prueba de 25 mL para obtener una muestra compuesta de 375 mL. ● Mantener la muestra compuesta a temperatura ambiente ($20\text{-}24^{\circ}\text{C}$) durante $96 \pm 2 \text{ h}$. ● Después de $96 \pm 2 \text{ h}$, agregar 3375 mL de CST con FeSO_4 ● Homogeneizar por agitación. ● Dejar reposar por $60 \pm 5 \text{ min}$ a temperatura ambiente. ● Determinar el pH y ajustar a 6.8 ± 0.2 si es necesario. ● Incubar $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

<p>Huevos duros o cocidos (pollo, pato y otros).</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Si los cascarones de huevo aún están intactos, desinfectar las cascarones como se describió anteriormente y separar asépticamente los cascarones de los huevos. ● Homogeneizar los huevos asépticamente y pesar 25 g ● Agregue 225 mL de CST (sin sulfato ferroso) y mezcle bien agitando. ● Deje reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. ● Mezcle bien y determine el pH con papel de prueba. Ajuste el pH, si es necesario, a $6,8 \pm 0,2$. Incubar 24 ± 2 h a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$
<p>Leche en polvo sin grasa (instantánea). Leche en polvo sin grasa (no instantánea) Leche entera en polvo</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra. ● Transfiera lentamente los 25 g de muestra a 225 mL de agua estéril, evitando la formación de grumos hasta disolución total. ● Adicionar 0.45 mL de disolución verde brillante al 1 %. <p><i>Alternativamente en lugar del agua estéril se puede preparar el agua con verde brillante añadiendo 2 mL de solución verde brillante al 1% a 1000 ml de agua estéril destilada.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Deje reposar, sin mover por 60 ± 5 min. ● Incubar, sin mezclar o ajustar el pH, por 24 ± 2 h a 35°C.
<p>Caseína de leche</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra. ● Transfiera lentamente a 225 mL de caldo universal, evite la formación de grumos y disuelva completamente ● Dejar reposar, sin mover por 60 ± 5 min.

	<ul style="list-style-type: none"> ● Incubar sin mezclar o ajustar el pH por 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
<p>Caseína Rennet</p> <p>Harina de soya.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Con ayuda de embudo estéril de papel o de vidrio verter lentamente la unidad analítica a 225 ml de CL ● Dejar reposar el recipiente sin moverlo por 60 ± 5 min. ● Incubar sin mezclar o ajustar el pH por 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ <p>NOTA: NO realizar muestras compuestas para harina de soya.</p>
Caseinato de sodio.	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Añadir 225 ml de CL ● Homogeneizar ● Dejar reposar 60 min a temperatura ambiente ● Medir y ajustar el pH a 6.8 ± 0.2, si es necesario. ● Incubar a 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
<p>Productos que contienen huevo (noodles, rollos de huevo, macaroni, spaghetti),</p> <p>Queso, dough,</p> <p>Ensaladas preparadas (jamón, huevo, pollo, atún, pavo),</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Añadir 225 ml de CL ● Mezclar. ● Dejar reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente ● Medir y ajustar el pH a 6.8 ± 0.2, si es necesario. ● Incubar a 24 ± 2 h a 35°C

<p>Frutas, crustáceos (camarón, cangrejo, crayfish, langostinos, langosta), y Pescado.</p>	
<p>Nueces</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Añadir 225 ml de CU ● Mezclar por agitación ● Incubar a 24 ± 2 h a 35°C
<p>Mantequilla de nuez</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Añadir 225 ml de CU ● Homogeneizar ● Incubar a 24 ± 2 h a 35°C
<p>Vegetales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Añadir 225 mL de CU ● Mezclar por agitación ● Incubar 24 ± 2 h a 35°C.
<p>Levadura en polvo (levadura activa e inactiva).</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Añadir 225 ml de CST. ● Mezcle suavemente para obtener una suspensión. ● Dejar reposar a temperatura ambiente durante 60 ± 5 min a temperatura ambiente.

	<ul style="list-style-type: none"> • Determinar el pH con papel pH. Ajustar el pH si es necesario a 6.8 ± 0.2, • Incubar a 24 ± 2 h a 35°C.
<u>Crema y coberturas mixtas</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Pesar asépticamente 25 g • Añadir 225 ml de caldo nutritivo y mezclar bien. • Cerrar el frasco y dejar reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente, • Mezclar mediante agitación y • Determinar el pH con papel de prueba. Ajustar el pH si es necesario a 6.8 ± 0.2. • Incubar 24 ± 2 h a 35°C
<p>Espicias</p> <p>Pimienta negra, pimienta blanca, semillas u hojuelas de apio, chile en polvo, cominos, paprika, perejil en hojuelas, romero, semillas de sésamo, tomillo, verduras en hojuelas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Pesar 25 g de muestra • Adicionar 225 mL de caldo soya tripticaseína (TSB) y mezcle bien. • Cerrar el recipiente y deje a temperatura ambiente por 60 ± 5 min. • Mezclar bien por agitación • Determinar el pH con papel de prueba, ajuste el pH si es necesario a 6.8 ± 0.2. • Incubar por 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
Cebolla en hojuelas, cebolla en polvo, ajo en hojuelas.	<ul style="list-style-type: none"> • Pesar 25 g de muestra. • Adicionar 225 ml caldo soya tripticaseína (TSB) con K_2SO_3 (5 g K_2SO_3 por 1000 mL de caldo soya tripticaseína, dando como resultado una concentración final de 0.5% de K_2SO_3) Añadir el K_2SO_3 al caldo antes de esterilizar a 121°C por

	<p>15 minutos. Después de esterilizar, determinar asépticamente y, si es necesario, ajustar el volumen final a 225 ml.</p> <ul style="list-style-type: none">● mezclar y determine el pH con papel de prueba, ajuste el pH si es necesario a 6.8 ± 0.2.● Incubar $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a 35°C.
<p>Pimienta gorda, canela, clavo, y orégano</p>	<p>No hay métodos conocidos para neutralizar la toxicidad de estas 4 especies (en polvo o completas) en este momento.</p> <p>Diluya las especies más allá de sus niveles tóxicos para realizar los análisis en busca de Salmonella.</p> <p>Analice la pimienta gorda, canela y orégano en proporción 1:100 muestra/caldo y el clavo en proporción 1:1000 muestra/caldo.</p> <p>Si utiliza contenedores de tapa de rosca cierre el envase hasta el tope y regrese $\frac{1}{4}$ de vuelta de la tapa. Si utiliza bolsas, estas deberán ser de tamaño suficiente, de modo que se evite que exploten por la acumulación de gases.</p> <p>Incube por $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a 35°C.</p> <p>Para las especias enteras canela, clavo y orégano (entero, trozos, piezas, hojas), asépticamente pese 25g de muestra en una bolsa estéril con filtro, adicione 225 mL de TSB y agite vigorosamente por 60 segundos. Transfiera el agua de enjuague inmediatamente a una bolsa estéril. Es muy importante adicionar el TSB a la muestra inmediatamente antes de agitar y transferir inmediatamente el agua de enjuague a la bolsa estéril, después de agitar.</p>

	<p>Para muestras secas (como el orégano) que absorben el medio de cultivo pese 25 g de muestra y adicione 475 mL de caldo TSB. Cierre el recipiente y deje a temperatura ambiente por 60 +/- 5 minutos. Mezcle bien por agitación y determine el pH con papel de prueba, ajuste el pH si es necesario a 6.8 +/- 0.2</p> <p>Si utiliza contenedores de tapa de rosca cierre el envase hasta el tope y regrese ¼ de vuelta de la tapa. Si utiliza bolsas, estas deberán ser de tamaño suficiente, de modo que se evite que exploten por la acumulación de gases.</p> <p>Incube por 24 h ± 2 h a 35°C.</p>
<p>Dulces, dulces cubiertos (incluyendo chocolate)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Adicionar 225 mL de leche sin grasa o baja en grasa y homogenice. ● Cerrar el recipiente y dejarlo a temperatura ambiente por 60 ± 5 min. ● Mezclar bien por agitación ● Determinar el pH con papel de prueba, ajuste el pH si es necesario a 6.8± 0.2. ● Adicionar 0.45 mL de una solución acuosa de verde brillante al 1%. ● Incubar por 24 ± 2h a 35°C ± 2 °C.
<p>Coco.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Adicionar 225 mL de caldo lactosado y homogenice. ● Cerrar el recipiente y dejarlo a temperatura ambiente por 60 ± 5 min. ● Mezclar.

	<ul style="list-style-type: none"> ● Determinar el pH con papel de prueba, ajuste el pH si es necesario a 6.8 ± 0.2. ● Adicionar 0.45 mL de una solución acuosa de verde brillante al 1%. ● Añadir hasta 2.25 mL de Tergitol Anionico 7 (esterilizado a vapor fluyente por 15 min) y mezclar bien. Alternativamente, utilice Triton X-100 al (esterilizado al vapor fluyente por 15 min). Otros tensoactivos como el tween pueden ser utilizados, la concentración y cantidad de este debe ser verificada por el laboratorio usando un protocolo aceptado y demostrando la recuperación del microorganismo de interés. Limite el uso de estos tensoactivos a la cantidad mínima necesaria para iniciar la formación de espuma. Para Triton X-100 esta cantidad puede ser tan poco como 2 o 3 gotas. ● Incubar por $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.
<p>9. Colorantes y sustancias colorantes para alimentos:</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● En el caso de colorantes con pH mayor a 6.0 (suspensiones acuosas al 10%), aplicar el método descrito para huevo entero deshidratado. ● Para colorantes (lacas) con pH inferior a 6.0, pesar 25 g de muestra en un frasco estéril apropiado. ● Agregar 225 mL de caldo de tetrionato sin verde brillante. ● Mezclar bien y dejar reposar $60 \pm 5 \text{ min}$ a temperatura ambiente. ● Con el medidor de pH, ajuste el pH a 6.8 ± 0.2. ● Añadir 2.25 mL solución al 0.1% de verde brillante mezcle con agitación. ● Incubar por $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

Gelatina.	<ul style="list-style-type: none">● Pesar 25 g● Añadir 225 ml de caldo lactosado esteril y 5 ml de solución acuosa al 5% de papaína y mezcle bien.● Incubar a 35°C por 60 ± 5 min.● Mezclar bien mediante agitación y determine el pH con papel pH. Ajuste el pH si es necesario a 6.8 ± 0.2.● Incubar a 24 ± 2 h a 35°C ± 2°C.
Carnes, sustitutos de carne, productos cárnicos, sustancias de origen animal, productos glandulares y harinas (pescado, carne, huesos).	<ul style="list-style-type: none">● Pesar 25 g de muestra en un vaso de licuadora estéril o procesador de alimentos. Agregue 225 mL de caldo lactosado estéril y homogenice por 2 min.● Transferir asépticamente la mezcla homogeneizada y dejar reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. Si la mezcla es en polvo o está triturada, se puede omitir la homogeneización. Para las muestras que no requieren homogeneización, agregue caldo lactosado y mezcle bien; déjelo reposar durante 60 ± 5 minutos a temperatura ambiente con el frasco bien cerrado.● Mezcle bien y determine el pH con papel de prueba. Ajuste el pH, si es necesario, a 6.8 ± 0.2.● Añada hasta 2.25 mL de Tergitol aniónico 7 (esterilizado en vapor fluyente por 15 min) y mezcle bien. Alternativamente, se puede usar Triton X-100 (esterilizado en vapor fluyente por 15 min). Limite el uso de estos tensioactivos a la cantidad mínima necesaria para iniciar la formación de espuma. La cantidad real dependerá de la composición del material de prueba. No se necesitan tensioactivos en el análisis de productos glandulares en polvo.● Incubar a 24 ± 2 h a 35°C ± 2°C

<p>Ancas de rana</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Poner 15 pares de ancas de rana dentro de una bolsa de plástico estéril y cubrir con caldo lactosado estéril en proporción 1:9 (muestra:caldo g/g). Si el peso de un anca individual es de 25 g o más, analice una sola anca. ● Colocar la bolsa en un vaso plástico grande o en un contenedor adecuado. Mezcle bien y deje reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. ● Mezcle bien por agitación y determine el pH con papel de prueba. Ajuste el pH si es necesario a 6.8 ± 0.2. ● Poner la bolsa plástica conteniendo las ancas de rana y el caldo lactosado en un contenedor adecuado. ● Incubar a 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
<p>Canales de conejo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● (Este método se utiliza para todas las canales de conejo). ● Coloque la canal de conejo en una bolsa de plástico estéril. Coloque la bolsa en un vaso de precipitados u otro recipiente adecuado y registre el peso. ● Agregue caldo lactosado estéril en una proporción de 1:9 (muestra:caldo, g/g) de 1:9 para cubrir la canal ● Mezclar bien y dejar reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. ● Determine el pH con papel de prueba . Ajuste el pH, si es necesario, a 6.8 ± 0.2. ● Incubar $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a 35°C.
<p>Goma guar</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra ● Prepare una solución de celulosa al 1.0% (agregue 1 g de celulosa a 99 mL de agua destilada estéril). Dispensar en botellas de 150 ml. (La solución de celulosa se puede almacenar a $2-5^{\circ} \text{C}$ hasta por 2 semanas). ● Añadir 225 mL de Caldo lactosado estéril y 2,25 ml de solución de celulosa estéril al 1% en un frasco estéril de boca ancha con tapa de rosca (500 mL) u otro recipiente apropiado.

	<ul style="list-style-type: none"> • Mientras agita vigorosamente el caldo de celulosa / lactosado vierta 25 g de unidad analítica rápidamente a través de un embudo de vidrio estéril en el caldo de celulosa / lactosa. • Tape bien el frasco y déjelo reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. Incubar sin ajustar el pH, durante 24 ± 2 h a 35°C.
<p>Jugo de naranja (pasteurizado y no pasteurizado), sidra de manzana (pasteurizada y no pasteurizada) y jugo de manzana (pasteurizado).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transferir 25 mL o g de muestra a 225 mL de caldo de preenriquecimiento universal (UP) • Agite minuciosamente. Tape bien el frasco y déjelo reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. • No ajuste el pH. • Incubar durante 24 ± 2 a 35°C.
<p>Orejas de cerdo y otros tipos de piezas para masticar para perros.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Coloque 1 pieza o 2 a 3 piezas si son de tamaño más pequeño) de cada unidad de muestra en una bolsa de plástico estéril. Coloque la bolsa en un vaso de precipitados grande u otro recipiente adecuado. Agregue caldo lactosado estéril en una proporción de muestra a caldo (g / g) de 1: 9 para cubrir las piezas. • Mezclar bien y dejar reposar 60 ± 5 minutos a temperatura ambiente. • Mezcle bien determine el pH con papel de prueba. Ajuste el pH, si es necesario, a $6,8 \pm 0,2$. • Agregue Tergitol Anionico 7 (esterilizado en vapor fluente por 15 min) o Triton X-100 (esterilizado en vapor fluente por 15 min) hasta una concentración del 1%. Por ejemplo, si se añaden 225 ml de caldo de lactosado, el volumen máximo de tensioactivo añadido es 2,25 ml. • Limite el uso de estos tensioactivos a una cantidad mínima para iniciar la formación de espuma. • Incubar 24 ± 2 h a 35°C.

Melones.

Frutas trituradas o cortadas,

- Pesar 25 g
- Agregar 225 ml de caldo de preenriquecimiento universal (UP)
- Mezclar durante 2 min.
- Dejar reposar durante 60 ± 5 min a temperatura ambiente
- No ajustar el pH.

Melones enteros, no enjuagar incluso si hay suciedad visible.

Examinar los melones "tal cual".

- Colocar el melón en una bolsa de plástico estéril.
- Agregar suficiente caldo UP para permitir que el melón flote. El volumen de caldo UP puede ser 1,5 veces el peso de los melones. Por ejemplo, los melones que pesan 1500 g probablemente necesitarán un volumen de aproximadamente 2250 ml de caldo UP para flotar.
- Agregar más caldo, si es necesario.
- Colocar la bolsa de plástico, con los melones y el caldo UP, en recipiente apropiado, para que sirva de apoyo durante la incubación.
- **dejar que la solapa del extremo abierto de la bolsa de plástico se "doble" para formar un cierre seguro, pero no hermético, durante la incubación.**
- Deje reposar durante 60 ± 5 min a temperatura ambiente. No ajustar el pH.
- Incubar la bolsa ligeramente abierta, que contiene melón, durante 24 ± 2 h a 35°C .

Mangos.	<ul style="list-style-type: none">• Para frutas trituradas o cortadas, pesar 25 g de muestra• Agregue 225 ml de agua de peptonada amortiguada estéril y mezcle 2 min.• Déjelo reposar a 60 min.• Mezcle bien girando• Incubar 24 ± 2 h a 35 °C.• Para mangos enteros, no enjuague incluso si hay suciedad visible. Examine los mangos como están, coloque el mango en una bolsa de plástico estéril, agregue suficiente agua peptonada amortiguada para permitir que el mango flote. el volumen de agua peptona amortiguada puede ser 1 vez el peso de los mangos. Por ejemplo, los mangos que pesan 500 g probablemente necesitarán un volumen de aproximadamente 500 mL de agua peptonada amortiguada para flotar. Agregue más agua peptonada tamponada, si es necesario. Coloque la bolsa de plástico con los mangos y agua peptonada amortiguada, en un vaso de precipitados, u otro recipiente apropiado, para su incubación.• Deje reposar durante más de 60 minutos a temperatura ambiente.• Incubar la bolsa ligeramente abierta durante 24 ± 2 h a 35 °C.
Tomates	<ul style="list-style-type: none">• Para frutas trituradas o cortadas, pesar 25 g de muestra• Agregar 225 ml de caldo de preenriquecimiento universal (UP) y mezcle 2 min.• Déjelo reposar durante 60 ± 5 min a temperatura ambiente con el frasco bien tapado.• No ajuste el pH.• Incubar 24 ± 2 ha 35 ° C.

	<ul style="list-style-type: none"> ● Para tomates enteros, no enjuague incluso si hay suciedad visible. Examine los tomates "tal cual". ● Coloque el tomate en una bolsa de plástico esterilizada u otro recipiente adecuado (se puede usar un vaso de precipitados cubierto con papel de aluminio esterilizado). Agregue suficiente caldo UP para permitir que el tomate flote. El volumen de caldo UP puede ser 1.0 veces el peso del tomate. Por ejemplo, los tomates que pesan 300 g probablemente necesitarán un volumen de aproximadamente 300 ml de caldo UP para flotar. Agregue más, si es necesario. Coloque la bolsa de plástico (si se usa), con el tomate y el caldo UP, en un vaso de precipitados estéril (el tamaño del vaso de precipitados depende del tamaño del tomate) u otro recipiente apropiado, como soporte durante la incubación. Deje que la solapa del extremo abierto de la bolsa de plástico se "doble" para formar un cierre seguro, pero no hermético, durante la incubación. ● Deje reposar durante 60 ± 5 min a temperatura ambiente. No ajuste el pH. ● Incubar la bolsa ligeramente abierta durante 24 ± 2 ha 35° C.
Muestras ambientales.	<ul style="list-style-type: none"> ● Tome las muestras de las superficies ambientales con hisopos o esponjas estériles ● Coloque el hisopo / esponja en una bolsa estéril o equivalente, que contenga suficiente caldo Dey-Engley (DE) para cubrir el hisopo / esponja, en caso de que estas se encuentren deshidratadas. (Existen presentaciones

	<p>comerciales que tiene medios de transporte que pueden ser usados en sustitución del DE)</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Transportar los hisopos / esponjas en una hielera separada con geles refrigerantes congelados, para mantener las muestras frías, pero no congeladas. Si las muestras no se pueden procesar inmediatamente, mantenerlas en temperatura de refrigeración. Las muestras deben ser analizadas antes de 50 h posteriores a la recolección. ● Coloque el hisopo / esponja en 225 ml de caldo lactosado ● Agite ● Déjelo reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. ● Mezcle bien y determine el pH con papel de prueba. Ajuste el pH, si es necesario, a 6.8 ± 0,2. ● Incubar 24 ± 2 h a 35 ° C +/- 2°C.
Semillas de alfalfa y frijol mungo	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar 25 g de muestra y adicionar 225 mL de Caldo Lactosado. ● Homogeneizar por enjuague. ● Dejar reposar por 60 +/- 5 minutos. ● Ajustar el pH, si es necesario a 6.8 +/- 0.2. ● Incube por 24 h a 35 °C +/- 2°C.
Pulpa de mamey	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar asépticamente 25 g ● Agregue 225 mL de caldo de pre enriquecimiento universal (UP) estéril. ● Mezcle girando y deje reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente ● No ajuste el pH. ● Incubar 24 ± 2 h a 35 ° C +/- 2°C. ● Cuando se realice o se solicite la búsqueda intencionada S. Typhi pesar 25 g de la muestra. Agregue 225 mL de

	<p>Caldo de Preenriquecimiento universal (UP) sin citrato de amonio férrico.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Mezclar y dejarlo reposar 60 ± 5 min a temperatura ambiente. ● No ajuste el pH. ● Incubar 24 ± 2 h a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. ● Trata como un alimento de baja carga microbiana.
<p>Verduras frescas de hoja verde, hierbas y brotes (espinacas tiernas, repollo, lechuga iceberg, lechuga romana, mezcla de primavera, albahaca, cilantro, eneldo, perejil rizado, cilantro cimarrón, perejil italiano, berros, alfalfa, frijol mungo, trébol, rábano y brotes de brócoli).</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Pesar asépticamente 25 g ● Agregue 225 ml de caldo de preenriquecimiento universal (UP) (para repollo, agregue 225 ml de agua de peptona tamponada modificada) y empape completamente el contenido sin homogeneizarlo. ● Incubar 24 ± 2 ha $35 \text{ }^\circ\text{C}$.
<p>Agua usada para riego de brotes de variedades de alfalfa, frijol mungo o verde, y brócoli.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Añada asépticamente 375 mL de muestra a 1125 mL de caldo de preenriquecimiento universal (UP) en un recipiente estéril apropiado. ● Mezclar bien girando ● Incubar 24 ± 2 h a $35 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. (Trátelo como un alimento con alta carga microbiana).

A.10 FORMULACIONES Y PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

Eliminar el texto del A.10

“Alternativamente pueden utilizarse medios comerciales con excepción del medio RVS ya que en punto A.10.2.1.2 se indica que debe prepararse por ingredientes

*La caducidad de los medios de cultivo una vez preparado deberá ser demostrada en el laboratorio bajo las condiciones de almacenamiento particulares con excepción del medio RVS y que en el punto **A.10.2.4.2 indica que debe ser usado el día de su preparación, el Caldo MKTTn para el que se indica en el punto A.10.3.4.2 que el medio deben usarse el mismo día de su preparación, el medio XLS para el que se indica que no debe usarse por más de 5 días.”***

Este texto debe de eliminarse ya que contradice la propuesta de modificación en el numeral 7.1 y 7.2

Según el BAM el medio RVS puede ser almacenado por 1 mes

BAM: “...Dispense 10 ml volumes of complete medium into 16 × 150 mm test tubes. Autoclave 15 min at 115°C. Final pH, 5.5 ± 0.2. **Store in refrigerator and use within 1 month.**”

<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-media-m132-rappaport-vassiliadis-medium>

Según el ISO 6579 el medio RVS puede ser almacenado por : 3 meses

B.3.4.2 Preparation

Add to 1 000 ml of solution A, 100 ml of solution B, and 10 ml of solution C.

Adjust the pH, if necessary, so that after sterilization it is 5,2 ± 0,2 at 20 °C to 25 °C.

Dispense the medium into tubes or flasks (6.12) of suitable capacity to obtain the portions necessary

for the test, e.g. 10 ml quantities dispensed into tubes.

Sterilize for 15 min in the autoclave (6.1) set at 115 °C.

Store the complete medium in closed tubes or flasks at 5 °C (6.8) for up to three months.

Según el ISO 6579 el MKTTn puede ser almacenado a 5 °C hasta siempre que su pH no sea menor de 7.0

B.5.4.2 Preparation

Aseptically, add 5 ml of the novobiocin solution (B.5.3) to 1 000 ml of base medium (B.5.1). Mix, then add 20 ml of the iodine-iodide solution (B.5.2). Mix well. The final concentration of novobiocin in the complete medium is 40 mg/l. Dispense the medium aseptically into containers (6.12) of suitable capacity to obtain the portions necessary for the test, e.g. 10 ml quantities dispensed into tubes. After preparation, the pH of complete MKTTn broth will be approximately 8,0. **If the complete medium is not used immediately, store it in the dark at 5 °C (6.8).** The pH may drop during storage due to chemical reactions. **Do not use the complete medium if the pH drops below 7,0.**

No existe ningún medio XLS.

Según el ISO 6579

El medio XLD puede ser almacenado por 4 semanas

B.6.3 Preparation of the agar plates

Cool the medium to 47 °C to 50 °C in a water bath (6.5), mix, and pour into sterile Petri dishes (6.14). Allow to solidify. Immediately before use, dry the agar plates carefully (preferably with the lids off and the agar surfacedownwards) in the oven (6.2) set between 25 °C and 50 °C until the surface of the agar is dry. **Store the poured plates protected from drying, at 5 °C (6.8) for up to four weeks.**