

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, publicada el 26 de junio de 2015.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- SALUD.- Secretaría de Salud.

ALEJANDRO ERNESTO SVARCH PÉREZ, Comisionado Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en lo dispuesto por los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4 de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 3o, fracciones XXII y XXIV, 13, apartado A, fracciones I y II, 17 bis, fracciones II y III, 194, fracción I, 195, párrafo primero, 197, 199, 201, 210 y 214 de la Ley General de Salud; 38, fracción II, 40, fracciones I, III, VII, XI y XIII, 47, fracción I y 51 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 28 y 33 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 4 y 15 del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios; 3, fracciones I, literal s y II, así como 10, fracciones IV y VIII del Reglamento de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, he tenido a bien ordenar la publicación en el Diario Oficial de la Federación, 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, PUBLICADA EN EL DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN EL 26 DE JUNIO DE 2015

El presente Proyecto de Modificación se publica a efecto de que los interesados dentro de los 60 días naturales siguientes al de su fecha de publicación en el Diario Oficial de la Federación, presenten sus comentarios por escrito, en medio magnético, en idioma español y con el sustento técnico correspondiente, ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, ubicado en Oklahoma número 14, planta baja, colonia Nápoles, Código Postal 03810, Ciudad de México, teléfono 5550805200, extensión 11333, correo electrónico rfs@cofepris.gob.mx.

Durante el plazo mencionado y de conformidad con lo dispuesto por los artículos 45 y 47, fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, los documentos que sirvieron de base para la elaboración del presente Proyecto de Modificación y el Análisis de Impacto Regulatorio, estarán a disposición del público en general, en el domicilio del mencionado Comité, para su consulta.

CONSIDERANDO

Que el 26 de junio de 2015, se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos;

Que dicha Norma entró en vigor a los 180 días naturales, contados a partir del día siguiente al de su publicación; salvo sus apéndices C y J; H e I; A, B y F, así como D, E y G, mismos que entraron en vigor a los 180, 270, 360 y 460 días naturales posteriores al inicio de su vigencia, respectivamente;

Que durante la implementación de los métodos previstos en la Norma, se han encontrado diferentes errores tipográficos en la descripción de las formulaciones de los medios de cultivo, que pueden generar problemas durante la implementación al no encontrar disponibilidad de los componentes que se señalan;

Que el 15 de mayo de 2015, a través del portal electrónico de la Organización Internacional de Estandarización (<https://www.iso.org/home.html>) se publicó la actualización de la Norma Internacional. ISO 16649-3:2015 Microbiología de los alimentos y alimento de animales. Método horizontal para el recuento de *E. coli* β -glucuronidasa positivo. Parte 3. Técnica utilizando 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -D-glucuronido. 2015 (<https://www.iso.org/standard/56824.html>), la cual se usa como referencia del apéndice J de esta Norma. La actualización hace el cambio del medio de cultivo TBGA a TBX, mismo que ya se encontraba descrito en la

Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos;

Que la referida Norma Internacional ISO 6888 ISO 6888-1:1999. Microbiología-Guía general para la enumeración de *S. aureus*-técnica de recuento de colonias, 1a. edición (05-1983), fue publicada en 1983, y que en 1999, se emitió una versión actualizada de la misma, publicada en la página de Internet <https://www.iso.org/standard/23036.html>, como Norma Internacional ISO 6888-1. 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 Agar Baird Parker (1999). Y que no presenta requisitos adicionales, pero si una explicación más clara de los cálculos que se requieren para la interpretación de los resultados y, por lo tanto, la inclusión de estas modificaciones a la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos, por lo que es necesaria la clarificación del cálculo ya descrito.

Que derivado de las publicaciones mencionadas anteriormente, es necesario realizar las modificaciones a los siguientes incisos 5.3, 6.7, 7.1, 7.2, 9.1 y 9.5, Apéndice A normativo, Apéndice B normativo, Apéndice C normativo, Apéndice G normativo, Apéndice H normativo, Apéndice I normativo y Apéndice J normativo.

ARTÍCULO ÚNICO.- Se **MODIFICAN** los incisos 5.3, 6.7, 7.1, 7.2, 9.1 y 9.5; A.6.2.7.1, A.10, A.10.2.4.2, A.10.6.1, A.10.6.2 del Apéndice A Normativo; B.2.6, B.5.4, B.6.4, B.6.5, B.6.6, B.6.8.1, B.7.2, B.7.3, B.7.4, B.7.5, B.7.7 y B.9.9 del Apéndice B Normativo; C.9.1.1, C.9.1.1.1, C.9.1.1.2, C.9.1.6, C.9.2.1, C.9.3.1.1, C.9.4.5.1, C.9.5.1, C.9.6.1 y C.9.7.2 del Apéndice C Normativo; G.7.1.2, G.7.3.1, G.7.4.1 y G.7.5.2 del Apéndice G Normativo; H.7.1.1.1, H.7.1.2, H.8.4.2, H.8.4.6, H.14.8 y H.14.8.1 del Apéndice H Normativo; I.1, I.4.2, I.4.3, I.4.4, I.4.5, I.6.1, I.6.14.1, I.7.1, I.7.2, I.7.3, I.8.1, I.8.3, I.8.4, I.13.1, I.13.1.1, I.13.2, I.13.2.1 e I.13.3 del Apéndice I Normativo; así como J.5.1.1 del Apéndice J Normativo; se **ADICIONAN** los incisos B.6.4.1, B.6.4.2, B.6.5.1, B.6.5.2, B.6.5.3, B.6.5.4, B.7.2.1, B.7.3.1, B.7.5.1, B.7.7.1 y B.7.7.2 del Apéndice B Normativo; así como I.4.6 e I.13.4 del Apéndice I Normativo, y se **ELIMINAN** dos párrafos del inciso A.10 del Apéndice A Normativo; así como los incisos H.7.1.4, H.8.4.7 y H.8.4.8 del Apéndice H Normativo de la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-210-SSA1-2014, PRODUCTOS Y SERVICIOS. MÉTODOS DE PRUEBA MICROBIOLÓGICOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS INDICADORES. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS, PUBLICADA EN EL DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN EL 26 DE JUNIO DE 2015, para quedar como sigue:

ÍNDICE

Apéndice I Normativo. Método aprobado para la estimación de la densidad de *E. coli* por la técnica del NMP.

5.3 Para aquellos casos en los que las personas físicas o morales que soliciten la validación de los métodos que utilicen para fines de control, inspección o programa específico, la COFEPRIS, los validará conforme a lo dispuesto en las "Guías para la aprobación de métodos alternativos", disponibles para su consulta en la página de internet <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/236920/CCAYAC-CR-02.pdf>

6.7 Los equipos de incubación deberán contar con termómetros con división mínima no mayor a la mitad de la variación requerida en el método de prueba, por ejemplo cuando se indique una variación de $\pm 1^\circ \text{C}$, el termómetro deberá tener una división mínima de 0.5°C .

7.1 Todos los medios de cultivo deberán usarse hasta haber aprobado el control de calidad adecuado para su uso, con excepción de los medios de cultivo que tengan como restricción el tiempo de uso, en esos casos los resultados del análisis no podrán ser emitidos hasta haber completado el control de calidad de los medios de cultivo. La caducidad de los medios de cultivo una vez preparados deberá ser demostrada en el laboratorio bajo las condiciones de almacenamiento particulares establecidas por el propio laboratorio.

7.2 Pueden utilizarse medios de cultivo preparados en el laboratorio por ingrediente, medios de cultivo preparado en polvo o listo para su uso, siempre que cumplan con la formulación descrita en el método. Las cantidades de los componentes, dependiendo de su origen, pueden diferir con lo especificado en esta Norma, en ese caso el fabricante, deberá justificar su equivalencia en la hoja técnica del medio de cultivo.

9.1 Norma Internacional ISO 16649-3:2015. Microbiología de los alimentos y alimento de animales. Método horizontal para el recuento de *E. coli* β -glucuronidasa positivo. Parte 3. Técnica utilizando 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -D-glucuronido. Primera edición 2015.

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).

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.

A.10 FORMULACIONES Y PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

A.10.2.4.2 Preparación: Agregar 1000mL de la solución A, 100mL de la solución B y 10mL de la solución C. Ajustar el pH, si es necesario, de tal manera que después de la esterilización sea de 5.2 ± 0.2. Antes de su uso, distribuir porciones de 10mL a cada tubo. Esterilizar a 115°C por 15 min. Almacenar el medio preparado a 3°C ± 2°C, utilizar el medio el mismo día de su preparación.

Nota: La composición final del medio completo será de: Digerido enzimático de soya, 4.5g/L; NaCl, 7.2g/L; KH₂PO₄ + K₂HPO₄, 1.44g/L; MgCl₂, 13.4g/L o MgCl₂·6H₂O, 28.6g/L; oxalato de verde malaquita, 0.036g/L. Siempre que sea posible, este medio debe prepararse por sus componentes individuales. Cuando se usen medios formulados comercialmente, los usuarios deben observar que hay formulaciones y condiciones de incubación diferentes a las descritas en esta Norma. Se deberá considerar que el uso de medios de cultivo con formulaciones diferentes y/o condiciones de incubación diferentes a las descritas en esta Norma serán considerados como métodos alternativos a los establecidos en esta Norma, por lo tanto deberán cumplir con lo indicado en el inciso 5.3 de esta Norma.

A.10.6.1 Fórmulas.

Fórmula 1

Extracto de carne	3.0g
Extracto de levadura	3.0g
Peptona	20.0g
NaCl	5.0g
Lactosa	10.0g
Sacarosa	10.0g
Glucosa	1.0g
Citrato de fierro (III)	0.3g
Tiosulfato de sodio	0.3g
Rojo de fenol	0.024g
Agar	9g a 18g
Agua	1000mL

pH final 7.4 ± 0.2

Fórmula 2

Extracto de carne	3.0g
Extracto de levadura	3.0g
Peptona	15.0g
Proteosa peptona	5.0g
NaCl	5.0g
Lactosa	10.0g
Sacarosa	10.0g
Glucosa	1.0g
FeSO ₄	0.3g
Tiosulfato de sodio	0.3g
Rojo de fenol	0.024g
Agar	12.0g
Agua	1000mL

pH final 7.3 ± 0.2

Fórmula 3

Extracto de carne	3.0g
Extracto de levadura	3.0g
Peptona de caseína	15.0g
Proteosa peptona	5.0g
NaCl	5.0g
Lactosa	10.0g
Sacarosa	10.0g
Glucosa	1.0g
FeSO ₄	0.2g
Tiosulfato de sodio	0.3g
Rojo de fenol	0.024g
Agar	12.0g
Agua	1000mL

pH final 7.4 ± 0.2

A.10.6.2. De cualquiera de las 3 fórmulas disolver los ingredientes o seguir las instrucciones de preparación del fabricante.

Apéndice B Normativo.

Método de referencia para la estimación de la cuenta de *S. aureus*.

B.2.6 Baño de agua capaz de operar a 36°C ± 1°C.

B.5.4 Productos de la pesca

Dependiendo de la muestra seguir lo indicado en el inciso I.6 de esta Norma.

B.6.4. Invertir las placas e incubar por 24h ± 2h a 36°C ± 1°C, marcar en la base de la placa la posición de las colonias típicas y atípicas, re-incubar por 24h ± 2h 36°C ± 1°C, marcar en la base de la placa la posición de las nuevas colonias típicas y atípicas.

B.6.4.1 Colonias Típicas: Son colonias negras o grises, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1mm a 1.5 mm a las 24h de incubación y 1.5 mm a 2.5 mm después de 48h de incubación, rodeadas por una zona clara que puede ser parcialmente opaca. Después de 24h de incubación, en esa zona clara, se puede observar un halo opalescente en la periferia de las colonias.

B.6.4.2 Colonias Atípicas: Son colonias de las mismas dimensiones de las colonias típicas, pueden ser negras brillantes con o sin un pequeño borde blanco, la zona clara es muy pequeña o no visible, y el halo opalescente no está presente o es apenas visible. También son colonias atípicas las colonias grises sin zona clara, del mismo tamaño que las colonias típicas. Hay bacterias de géneros distintos al *Staphylococcus*, que pueden dar la morfología colonial típica o atípica, por lo que la observación microscópica usando una tinción de Gram puede ayudar en la distinción del género.

B.6.5 Seleccionar la dilución adecuada

B.6.5.1 En la mayoría de los casos seleccionar las placas que tengan menos de 300 colonias en total y menos de 150 colonias sospechosas (típicas y atípicas) de *S. aureus*; si no es posible, seleccionar las placas de las diluciones más altas no obstante tengan más de las colonias indicadas. Seleccionar por placa un número de colonias para confirmar. (Si solo están presentes colonias típicas en general seleccionar 5 colonias típicas "ts". Si solo están presentes colonias atípicas en general seleccionar 5 colonias atípicas "as". Si hay de ambos tipos de colonias seleccionar colonias tanto típicas "ts" como atípicas "as", por lo general seleccionar solo 5 colonias en total). Realizar la tinción de Gram, en el caso de no observar cocos Gram positivos, la colonia se tomará como negativa para *S. aureus*, por lo contrario si se observan cocos se seguirá con su confirmación.

B.6.5.2 Cuando en la primera dilución se cuenten menos de 15 colonias sospechosas por placa. Seleccionar por cada placa 5 colonias típicas, 5 colonias atípicas o todas las colonias típicas y todas las colonias atípicas, lo que sea menor. A las colonias seleccionadas realizar tinción de Gram, en el caso de observar una morfología diferente a cocos Gram positivos, la colonia se tomará como negativa para *S. aureus*, si se observan cocos Gram positivos se seguirá con su confirmación.

B.6.5.3. Si hay menos de 15 colonias típicas o atípicas en la dilución más baja seleccionar: 5 colonias típicas o todas las existentes en la placa, lo que sea menor y 5 colonias atípicas o todas las existentes en la placa, lo que sea menor. A las colonias seleccionadas realizar tinción de Gram, en el caso de observar una morfología diferente a cocos Gram positivos, la colonia se tomará como negativa para *S. aureus*, si se observan cocos Gram positivos se seguirá con su confirmación y seguir para el cálculo lo indicado en el inciso B.7.5 de esta Norma.

B.6.5.4 Cuando se siembre un 1mL dividido en 3 placas (0.3mL, 0.3mL y 0.4mL), considerar las tres placas como una sola placa. Si la cuenta es mayor que 15 UFC seleccionar 5 colonias sospechosas entre las 3 placas, es decir, cuando solo existan colonias típicas, seleccionar 5 colonias típicas, cuando solo existan colonias atípicas, seleccionar 5 colonias atípicas, cuando existan colonias típicas y atípicas seleccionar en total 5 colonias incluyendo típicas y atípicas. A las colonias seleccionadas realizar tinción de Gram, en el caso de observar una morfología diferente a cocos Gram positivos, la colonia se tomará como negativa para *S. aureus*, si se observan cocos Gram positivos se seguirá con su confirmación. Si la cuenta de las 3 placas es menor que 15 UFC considerar las tres placas como una sola y seguir lo indicado en el inciso B.6.5.2, de esta Norma.

B.6.6 Cuando las placas de la dilución más baja tengan menos de 15 colonias sospechosas (típicas y/o atípicas) se debe agregar la nota de "valor estimado" al reporte de los resultados.

B.6.8.1 Prueba de coagulasa. Seguir las instrucciones del proveedor del plasma. En general, sembrar cada colonia seleccionada (coco Gram positivo) en tubos con 0.5mL de BHI y en tubos con AST. Utilizar simultáneamente un control positivo de *S. aureus* y un control negativo de *S. epidermidis*. Incubar a 36°C ± 1°C, durante 20h a 24h. Mantener los cultivos en AST a no más de 27°C para pruebas posteriores. Mezclar 0.1mL del cultivo en BHI con 0.3mL de plasma de conejo con EDTA. Incubar a 36°C ± 1°C y observar periódicamente a intervalos de 1h durante las primeras 4h a 6h; si no hay formación de coágulo, observar hasta las 24h. Considerar la prueba positiva cuando el coágulo se forma completamente y es firme al invertir el tubo. Cuando los resultados de la coagulasa o la termonucleasa no permitan concluir la confirmación de *S. aureus*, se deberán realizar las pruebas auxiliares, descritas en el inciso B.6.9, de esta Norma.

B.7.2 Cálculo del número "a" de *S. aureus* confirmado por placa.

B.7.2.1 Calcule el número de colonias confirmadas de *S. aureus* por placa "a" utilizando la fórmula siguiente:

$$a = \frac{tc}{ts} \times t + \frac{ac}{as} \times a$$

ts es el número de colonias típicas seleccionadas a confirmar

as es el número de colonias atípicas seleccionadas a confirmar

tc es el número de colonias típicas confirmadas

ac es el número de colonias atípicas confirmadas

t es el número de colonias típicas contadas en la placa

a es el número de colonias atípicas contadas en la placa

Redondear los resultados a un número entero.

B.7.3 Cálculo del número de *S. aureus* confirmado por muestra "N".

B.7.3.1 Para las placas con menos de 300 colonias, de las cuales existan menos de 150 colonias típicas y/o atípicas en dos diluciones consecutivas, calcular el número de *S. aureus* por placa como se indica en el inciso B.7.2 de esta Norma y calcular el número N como una media ponderada de las dos diluciones sucesivas, usando la ecuación siguiente:

$$N = \frac{\sum a}{V(n_1 + 0,1 n_2)d}$$

$\sum a$ es la suma de las cuentas encontradas en las placas.

V es el número de mL en cada placa, en mL.

n₁ es el número de placas seleccionado en la primer dilución.

n₂ es el número de placas seleccionado en la segunda dilución.

d es el factor de dilución seleccionado en la primer dilución.

Redondear los resultados utilizando dos cifras significativas.

B.7.4 Reportar los resultados como el número de *S. aureus* por mL o g de producto.

B.7.5 Estimación del cuentas bajas “Ne”.

B.7.5.1 Si las dos placas de la muestra directa o de la primera dilución contiene menos de 15 colonias, reportar los resultados como sigue:

a) Para productos líquidos, estime el número de *S. aureus* por mL.

$$N_e = \frac{\sum a}{V \times 2}$$

Ne es el número estimado de colonias confirmadas de *S. aureus*.

Σa es el número de colonias confirmadas en las dos placas.

V es el volumen inoculado en las placas.

b) Para otros productos, estime el número de *S. aureus* por g.

$$N_e = \frac{\sum a}{V \times 2 \times d}$$

Ne es el número estimado de colonias confirmadas de *S. aureus*.

Σa es el número de colonias confirmadas en las dos placas.

V es el volumen inoculado en las placas.

d es el factor de dilución en la primer dilución.

B.7.7 Ejemplos para el cálculo de *S. aureus*.

B.7.7.1 Se analizaron 25g de una muestra, se realizaron 3 diluciones decimales.

De cada dilución se inoculó 0.1mL por duplicado.

Después de la incubación se cuentan las siguientes colonias por placa:

	Total de colonias	Colonias Típicas	Colonias Atípicas
Dilución 10 ⁻¹	Incontable	No aplica	No aplica
Dilución 10 ⁻²	201 / 198	68 / 85	35 / 56
Dilución 10 ⁻³	20 / 22	6 / 4	3 / 4

En general se seleccionan 5 colonias por placa para confirmar y se obtienen los siguientes resultados:

Dilución seleccionada		Total de colonias sospechosas	Colonias seleccionadas	Colonias confirmadas
10 ⁻²	Típicas	65 / 85	2 / 3	2 / 1
	Atípicas	35 / 56	3 / 2	1 / 0
10 ⁻³	Típicas	3 / 7	3 / 5	3 / 5
	Atípicas	0 / 0	No aplica	No aplica

Se calcula el total de colonias en cada placa.

Dilución seleccionada		Cálculo	Colonias confirmadas por placa. “a”	Redondear a números enteros
10 ⁻²	Placa 1	(2/2*68)+(1/3*35)=	79.67	80
	Placa 2	(1/3*85)+(0/2*56)=	28.33	28
10 ⁻³	Placa 1	(3/3*3)=	3	3
	Placa 2	(5/5*7)=	7	7

Entonces

$$N=(80+28+3+7) / 0.1 (2+ 0.1 (2)) 10^{-2}$$

N=118 / 0.0022

N=53 636.36

El resultado después del redondeo a dos cifras significativas quedaría como: 5.4×10^4 UFC/g

B.7.7.2 Se analizaron 25g de una muestra, se realizaron 3 diluciones decimales.

De cada dilución se inoculó 0.1mL por duplicado

Después de la incubación se cuentan las siguientes colonias por placa:

		Total de colonias	Colonias Contadas Típicas / Atípicas	Colonias seleccionadas Típicas / Atípicas	Colonias confirmadas Típicas / Atípicas
Dilución 10^{-1}	Placa 1	209	10 / 4	5 / 4	4 / 3
	Placa 2	208	12 / 2	5 / 2	2 / 2
Dilución 10^{-2}	Placa 1	22	1 / 2	1/2	1/1
	Placa 2	24	1 / 1	1/1	0/0
Dilución 10^{-3}	Placa 1	1 / 2	No aplica	No aplica	No aplica
	Placa 2	0 / 0	No aplica	No aplica	No aplica

Se calcula el total de colonias en cada placa.

Dilución seleccionada		Cálculo	Colonias confirmadas por placa. "a"	Redondear a números enteros
10^{-1}	Placa 1	$(4/5*10)+(3/4*4) =$	11	11
	Placa 2	$(2/5*12)+(2/2*2) =$	6.8	7
10^{-2}	Placa 1	$(1/1*1)+(1/2*2) =$	2	2
	Placa 2	$(0/1*1)+ (0/1*1) =$	0	0

Entonces

$$N_e = (11+7+2+0) / 0.1 (2+0.1(2)) 10^{-1}$$

$$N = 20 / 0.022$$

$$N = 909.09$$

El resultado después del redondeo a dos cifras significativas quedaría como: 910 UFC/g Valor estimado.

B.9.9 Caldo para fermentación de carbohidratos

Seguir las instrucciones de preparación conforme se describe en el inciso C.9.8 de esta Norma, sustituyendo ramnosa o xilosa por manitol o glucosa, según se requiera.

Apéndice C Normativo.

Método de referencia para el aislamiento de *L. monocytogenes*.

C.9.1.1 Medio Base.

C.9.1.1.1 Fórmula.

Peptona de Carne	5.0g
Triptona	5.0g
Extracto de Carne de Res	5.0g
Extracto de Levadura	5.0g
Cloruro de Sodio	20.0g
Fosfato dibásico de sodio dihidratado	12.0g
Fosfato dihidrogenado de potasio	1.35g
Esculina	1.0g
Agua	1000mL

C.9.1.1.2 Preparación: Disolver los componentes de la base en agua, calentando si es necesario. Ajustar el pH, si se requiere para que después de la esterilización el pH se encuentre entre 7.2 ± 0.2 a 25°C . Distribuir la base en matraces con capacidad apropiada para la prueba. Esterilizar por 15 min en la autoclave a 121°C .

C.9.1.6 Medio Completo.

C.9.2.1 Medio Base.

C.9.3.1.1 Fórmula.

Peptonas	23.0g
Almidón	1.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Agar	De 9 a 18g ⁽¹⁾
Esculina	1.0g
Citrato de amonio, hierro III	0.5g
Cloruro de Litio	15.0g
Agua	960mL

⁽¹⁾ Dependiendo de la fuerza gel del agar.

C.9.4.5.1 Fórmula.

Base Agar PALCAM	960mL
Solución de Sulfato de Polimixina B	10mL
Solución de Clorhidrato de acriflavina	10mL
Solución de Ceftazidima sódica pentahidratada	20mL

C.9.5.1 Fórmula.

Extracto de levadura	6.0g
Agar	de 9 a 18g ⁽²⁾
Agua	1000mL
Triptona	17.0g
Peptona de Soya	3.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Fosfato dipotásico	2.5g
Glucosa	2.5g

⁽²⁾ Dependiendo de la fuerza del agar

C.9.6.1 Fórmula.

Extracto de levadura	6.0g
Agua	1000mL
Triptona	17.0g
Peptona de Soya	3.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Fosfato dipotásico	2.5g
Glucosa	2.5g

C.9.7.2 Preparación: Disuelva los componentes en agua hirviendo con excepción de la sangre. Ajustar el pH si es necesario a modo que después de la esterilización sea de 7.2 ± 0.2 a 25°C , vierta el medio en matraces de capacidad apropiada, para las pruebas. Esterilice por 15 min en autoclave a 121°C . Agregue 5-7 mL de sangre de carnero desfibrinada por cada 100mL del medio base previamente atemperada a 47°C , mezclar bien. Vierta el medio en cajas Petri en proporciones adecuadas para las pruebas, permita solidificar. Existen presentaciones listas para su uso, éstas deberán estar elaboradas con un medio nutritivo y suplementadas con sangre de cordero desfibrinada.

Apéndice G Normativo.**Método aprobado para el monitoreo de Enterococos fecales recomendado para el monitoreo de aguas para uso recreativo.**

G.7.1.2 Preparación: Disolver los ingredientes o 37.0g del medio deshidratado en un matraz con 1L de agua destilada, distribuir volúmenes de 10mL en tubos de ensaye con tapón de rosca. Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 min. El pH final del medio deberá ser de 7.4 ± 0.2 . Si el medio no se va a utilizar el mismo día de su preparación y esterilización, justo antes de la inoculación se deberá calentar en baño de agua a ebullición por varios minutos para eliminar el oxígeno absorbido y enfriar rápidamente.

G.7.3.1 Fórmula: El agar BHI contiene los mismos ingredientes que el caldo BHI pero adicionando 15 g de agar por cada L de medio.

G.7.4.1 Fórmula.

Extracto de carne	3.0g
Peptona	5.0g
Sales biliares	40.0g
Esculina	1.0g
Citrato férrico	0.5g
Agar	15.0g
Agua destilada	1.0L

G.7.5.2 Preparación: Reactivos que se agregan después de esterilizar: Mezclar 0.24g de ácido nalidixico en 5mL de agua destilada, agregar unas gotas de NaOH 0.1N hasta disolución y agregar al medio mEI y mezclar. Agregar 0.02g de cloruro de trifenil tetrazolio (TTC).

Alternativamente se pueden agregar las siguientes soluciones:

a) Ácido nalidixico. Agregar 0.48g de ácido nalidixico y 0.4mL de NaOH 10N a 10mL de agua destilada y mezclar. Esterilizar la solución por filtración y adicione 5.2mL por cada L de medio.

b) Cloruro de trifeniltetrazolium (TTC): Agregar 0.1g de TTC a 10mL de agua destilada y calentar para disolver. Esterilizar la solución por filtración y adicione 2mL por cada L de medio.

c) Vaciar en cajas de 9mm x 50mm aproximadamente de 4mL a 6mL y dejar solidificar. El pH final del medio deberá estar entre 7.1 ± 0.2 . Conservar en refrigeración.

Apéndice H Normativo.**Método aprobado para la estimación de la densidad de Coliformes totales, fecales y *E. coli* por la técnica del NMP presentes en muestras de alimentos para consumo humano y agua.**

H.7.1.1.1 Agua para uso y consumo humano y envasada. Transferir 5 porciones de 20mL, 10 porciones de 10 mL o una porción de 100mL. Consultar la tabla H.14.2.2, de esta Norma, para seleccionar las diferentes concentraciones de caldo lauril de acuerdo a los diferentes volúmenes de muestra a inocular.

H.7.1.2 Prueba confirmativa. De cada tubo que muestre formación de gas, tomar una asada y sembrar en un número igual de tubos de EC (Coliformes Fecales) o Caldo verde brillante (Coliformes Totales) para la prueba confirmativa; inocular en tubos de EC un control positivo de *E. coli* cuantificado a < 30 UFC y un control negativo de *Enterobacter aerogenes* e incubar con las muestras.

H.7.1.4. Se elimina

H.8.4.2 Tabla 2. NMP para 100 g o mL de muestra cuando se usan 5 tubos o porciones en cada una de tres diluciones con series geométricas.

No. de Tubos positivos				No. de Tubos positivos				No. de Tubos positivos				No. de Tubos positivos				No. de Tubos positivos				No. de Tubos positivos			
10 mL	1 mL	0.1 mL	NMP	10 mL	1 mL	0.1 mL	NMP	10 mL	1 mL	0.1 mL	NMP	10 mL	1 mL	0.1 mL	NMP	10 mL	1 mL	0.1 mL	NMP	10 mL	1 mL	0.1 mL	NMP
0	0	0	<1.8	1	0	0	2.0	2	0	0	4.5	3	0	0	7.8	4	0	0	13	5	0	0	23
0	0	1	1.8	1	0	1	4.0	2	0	1	6.8	3	0	1	11	4	0	1	17	5	0	1	31
0	0	2	3.6	1	0	2	6.0	2	0	2	9.1	3	0	2	13	4	0	2	21	5	0	2	43
0	0	3	5.4	1	0	3	8.0	2	0	3	12	3	0	3	16	4	0	3	25	5	0	3	58

0	0	4	7.2	1	0	4	10	2	0	4	14	3	0	4	20	4	0	4	30	5	0	4	76
0	0	5	9.0	1	0	5	12	2	0	5	16	3	0	5	23	4	0	5	36	5	0	5	95
0	1	0	1.8	1	1	0	4.0	2	1	0	6.8	3	1	0	11	4	1	0	17	5	1	0	33
0	1	1	3.6	1	1	1	6.1	2	1	1	9.2	3	1	1	14	4	1	1	21	5	1	1	46
0	1	2	5.5	1	1	2	8.1	2	1	2	12	3	1	2	17	4	1	2	26	5	1	2	63
0	1	3	7.3	1	1	3	10	2	1	3	14	3	1	3	20	4	1	3	31	5	1	3	84
0	1	4	9.1	1	1	4	12	2	1	4	17	3	1	4	23	4	1	4	36	5	1	4	110
0	1	5	11	1	1	5	14	2	1	5	19	3	1	5	27	4	1	5	42	5	1	5	130
0	2	0	3.7	1	2	0	6.1	2	2	0	9.3	3	2	0	14	4	2	0	22	5	2	0	49
0	2	1	5.5	1	2	1	8.2	2	2	1	12	3	2	1	17	4	2	1	26	5	2	1	70
0	2	2	7.4	1	2	2	10	2	2	2	14	3	2	2	20	4	2	2	32	5	2	2	94
0	2	3	9.2	1	2	3	12	2	2	3	17	3	2	3	24	4	2	3	38	5	2	3	120

0	2	4	11	1	2	4	15	2	2	4	19	3	2	4	27	4	2	4	44	5	2	4	150
0	2	5	13	1	2	5	17	2	2	5	22	3	2	5	31	4	2	5	50	5	2	5	180
0	3	0	5.6	1	3	0	8.3	2	3	0	12	3	3	0	17	4	3	0	27	5	3	0	79
0	3	1	7.4	1	3	1	10	2	3	1	14	3	3	1	21	4	3	1	33	5	3	1	110
0	3	2	9.3	1	3	2	13	2	3	2	17	3	3	2	24	4	3	2	39	5	3	2	140
0	3	3	11	1	3	3	15	2	3	3	20	3	3	3	28	4	3	3	45	5	3	3	180
0	3	4	13	1	3	4	17	2	3	4	22	3	3	4	31	4	3	4	52	5	3	4	210
0	3	5	15	1	3	5	19	2	3	5	25	3	3	5	35	4	3	5	59	5	3	5	250
0	4	0	7.5	1	4	0	11	2	4	0	15	3	4	0	21	4	4	0	34	5	4	0	130
0	4	1	9.4	1	4	1	13	2	4	1	17	3	4	1	24	4	4	1	40	5	4	1	170
0	4	2	11	1	4	2	15	2	4	2	20	3	4	2	28	4	4	2	47	5	4	2	220
0	4	3	13	1	4	3	17	2	4	3	23	3	4	3	32	4	4	3	54	5	4	3	280
0	4	4	15	1	4	4	19	2	4	4	25	3	4	4	36	4	4	4	62	5	4	4	350
0	4	5	17	1	4	5	22	2	4	5	28	3	4	5	40	4	4	5	69	5	4	5	430
0	5	0	9.4	1	5	0	13	2	5	0	17	3	5	0	25	4	5	0	41	5	5	0	240
0	5	1	11	1	5	1	15	2	5	1	20	3	5	1	29	4	5	1	48	5	5	1	350
0	5	2	13	1	5	2	17	2	5	2	23	3	5	2	32	4	5	2	56	5	5	2	540
0	5	3	15	1	5	3	19	2	5	3	26	3	5	3	37	4	5	3	64	5	5	3	920
0	5	4	17	1	5	4	22	2	5	4	29	3	5	4	41	4	5	4	72	5	5	4	1600
0	5	5	19	1	5	5	24	2	5	5	32	3	5	5	45	4	5	5	81	5	5	5	>1600

Referencia: Recommended Procedures for the examination of sea water and shellfish. 4th. Ed. 1970. APHA

H.8.4.6 Tabla 6. NMP por g de muestra e intervalos de confianza del 95%, utilizando cinco tubos con 0.1g, 0.01g y 0.001g de muestra.

Tubos Positivos			NMP/g	Intervalo de confianza		Tubos Positivos			NMP/g	Intervalo de confianza	
0.1	0.01	0.001		Bajo	Alto	0.1	0.01	0.001		Bajo	Alto
0	0	0	<1.8	—	6.8	4	0	2	21	6.8	40
0	0	1	1.8	0.09	6.8	4	0	3	25	9.8	70
0	1	0	1.8	0.09	6.9	4	1	0	17	6	40
0	1	1	3.6	0.7	10	4	1	1	21	6.8	42
0	2	0	3.7	0.7	10	4	1	2	26	9.8	70
0	2	1	5.5	1.8	15	4	1	3	31	10	70
0	3	0	5.6	1.8	15	4	2	0	22	6.8	50
1	0	0	2	0.1	10	4	2	1	26	9.8	70
1	0	1	4	0.7	10	4	2	2	32	10	70

1	0	2	6	1.8	15	4	2	3	38	14	100
1	1	0	4	0.7	12	4	3	0	27	9.9	70
1	1	1	6.1	1.8	15	4	3	1	33	10	70
1	1	2	8.1	3.4	22	4	3	2	39	14	100
1	2	0	6.1	1.8	15	4	4	0	34	14	100
1	2	1	8.2	3.4	22	4	4	1	40	14	100
1	3	0	8.3	3.4	22	4	4	2	47	15	120
1	3	1	10	3.5	22	4	5	0	41	14	100
1	4	0	11	3.5	22	4	5	1	48	15	120
2	0	0	4.5	0.79	15	5	0	0	23	6.8	70
2	0	1	6.8	1.8	15	5	0	1	31	10	70
2	0	2	9.1	3.4	22	5	0	2	43	14	100
2	1	0	6.8	1.8	17	5	0	3	58	22	150
2	1	1	9.2	3.4	22	5	1	0	33	10	100
2	1	2	12	4.1	26	5	1	1	46	14	120

2	2	0	9.3	3.4	22	5	1	2	63	22	150
2	2	1	12	4.1	26	5	1	3	84	34	220
2	2	2	14	5.9	36	5	2	0	49	15	150
2	3	0	12	4.1	26	5	2	1	70	22	170
2	3	1	14	5.9	36	5	2	2	94	34	230
2	4	0	15	5.9	36	5	2	3	120	36	250
3	0	0	7.8	2.1	22	5	2	4	150	58	400
3	0	1	11	3.5	23	5	3	0	79	22	220
3	0	2	13	5.6	35	5	3	1	110	34	250
3	1	0	11	3.5	26	5	3	2	140	52	400
3	1	1	14	5.6	36	5	3	3	180	70	400
3	1	2	17	6	36	5	3	4	210	70	400
3	2	0	14	5.7	36	5	4	0	130	36	400
3	2	1	17	6.8	40	5	4	1	170	58	400
3	2	2	20	6.8	40	5	4	2	220	70	440
3	3	0	17	6.8	40	5	4	3	280	100	710
3	3	1	21	6.8	40	5	4	4	350	100	710
3	3	2	24	9.8	70	5	4	5	430	150	1,100
3	4	0	21	6.8	40	5	5	0	240	70	710
3	4	1	24	9.8	70	5	5	1	350	100	1100
3	5	0	25	9.8	70	5	5	2	540	150	1700
4	0	0	13	4.1	35	5	5	3	920	220	2600
4	0	1	17	5.9	36	5	5	4	1600	400	4600

						5	5	5	>1600	700	-
--	--	--	--	--	--	---	---	---	-------	-----	---

Referencia Bacteriological analytical manual . FDA 8va. Ed actualización 2015.

H.8.4.7 Se elimina.**H.8.4.8** Se elimina.**H.14.8 Citrato de Simmons.****H.14.8.1 Fórmula.**

NH ₄ HPO ₄ 4H ₂ O	1.0g a 1.5g
K ₂ HPO ₄	1.0g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2g
Citrato de sódio 2H ₂ O	2.0g a 3.0g
NaCl	5.0g
Agar	13g-15g

Azul de bromotimol	0.08g
Agua destilada	1000 mL

H.14.14.2 Iodo**Apéndice I normativo.****Método aprobado para la estimación de la densidad de *E. coli* por la técnica del NMP.**

I.1 Este método consta de dos etapas. La primera es un enriquecimiento mediante la inoculación de la muestra previamente homogeneizada y diluida en cinco tubos por dilución, en caldo glutamato con minerales modificado e incubado a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24h. La segunda es la confirmación de la presencia de *E. coli* mediante la resiembra de tubos en los que se observe producción de ácido en agar que contenga 5-bromo-4-cloro-3-indol-beta-D glucuronido y detectar la actividad de beta-glucuronidasa incubado a $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 22h ± 2 h.

I.4.2 Solución Peptona Salina;

I.4.3 MMGB;

I.4.4 TBX;

I.4.5 Tween 80, y

I.4.6 Agua peptonada amortiguada.

I.6.1 Procedimientos generales. Todas las preparaciones de las muestras deben llevarse a cabo en condiciones asépticas con materiales estériles y evitar contaminaciones de fuentes externas. Como medio de dilución puede utilizarse, Solución Peptona Salina o Agua peptonada amortiguada.

I.6.14.1 Bivalvos. Lavar y cepillar cada concha con agua potable corriente, especialmente del músculo abductor o bisagra. Colocar los bivalvos en una charola con un papel absorbente. Con un cuchillo desconchador estéril, insertar la punta entre las valvas y hacer palanca para cortar el músculo abductor y abrir la concha. Penetrar sobre la concha superior y drenar el licor y la carne en un vaso de precipitados estéril. Adicionar una parte de carne y licor (agua intervalvar) y dos partes de diluyente y homogeneizar en homogeneizador rotatorio por 30s a 2 min. De esta manera se obtiene una suspensión 1 de muestra + 2 de diluyente, puede adicionarse la cantidad necesaria para obtener una dilución 1 porción de muestra + 9 porciones de diluyente.

I.7.1 Solución de peptona salina;

I.7.2 MMGB, y

I.7.3 TBX.

I.8.1 En caso general inocular tres tubos por cada dilución. Para moluscos vivos, u otros productos especiales y/o cuando sea necesario obtener resultados más exactos es necesario inocular series de cinco tubos por dilución. Tomar tres tubos de medios de enriquecimiento selectivo. Con una pipeta estéril transferir 10mL de la muestra líquida o 10mL de la suspensión original en caso de otros productos a tubos con MMGA doble concentración. Tomar tres tubos de concentración simple de medios de enriquecimiento selectivo, usando otra pipeta estéril, transferir a cada uno de estos tubos 1mL de la muestra líquida o 1mL de la suspensión en caso de otros productos. Realizar diluciones decimales y repetir los incisos anteriores para cada dilución. Mezclar cuidadosamente el inóculo y el medio.

I.8.3 Para cada tubo inoculado que muestre presencia coloración amarilla estriar con un asa a una placa de TBX para obtener colonias aisladas.

I.8.4 Incubar las placas a $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 22h ± 2 h.

I.13.1 Solución Peptona Salina.

Digerido enzimático de caseína	1.0g
Cloruro de sodio	8.5g
Agua deionizada	1L
pH	7.0 \pm 0.2

I.13.1.1 Preparación: Suspender los ingredientes en 1L de agua destilada. Dejar en reposo durante 5 min a 10 min. Mezclar bien, agitando frecuentemente, hasta completar la disolución. Si es necesario ajustar el pH, para que después de la esterilización sea de 7.2 ± 0.2 a 25°C , esterilizar 15 min/ 121°C .

I.13.2 MMGB.

Ingredientes	Doble concentración	Concentración simple
Glutamato de sodio	12.7g	6.35g

Lactosa	20.0g	10.0g
Formato de sodio	0.5g	0.25g
L-Cisteína	0.04g	0.02g
L(-) Acido aspártico	0.048g	0.024g
L(+)-Arginina	0.04g	0.02g
Tiamina	0.002g	0.001g
Ácido nicotínico	0.002g	0.001g
Ácido pantogénico	0.002g	0.001g
Sulfato de magnesio septahidratado	0.2g	0.1g
Citrato de fierro III	0.02g	0.01g
Cloruro de calcio dihidratado	0.02g	0.01g
Fosfato dipotásico	1.8g	0.9g
Púrpura de bromocresol	0.02g	0.01g
Cloruro de amonio	5.0g	2.5g
Agua destilada	1000mL	1000mL

I.13.2.1 Preparación: Disolver el cloruro de amonio en agua. Adicionar el resto de los componentes hasta su completa disolución y calentar si es necesario. Para mejorar la estabilidad del almacenamiento del medio. Adicionar el glutamato de sodio por separado. Ajustar el pH si es necesario, así como después de la esterilización el cual debe de ser de 6.7 ± 0.1 a 25°C . Distribuir el medio en volúmenes de 10mL en caso de concentración simple y tubos de 22mm x 175mm para el caso de concentración doble de medio. Esterilizar en autoclave a 116°C por 10 min (si se utilizan fórmulas preparadas seguir las indicaciones del fabricante).

I.13.3 TBX.

Para la preparación de este medio de cultivo seguir lo indicado en el inciso J.8.1.0

I.13.4 Agua Peptonada amortiguada.

Para la preparación de esta solución seguir lo indicado en el inciso A.10.1

Apéndice J Normativo.

Método para la Enumeración de *E. coli* β -glucuronidasa a 44°C utilizando 5-Bromo-4-cloro-3-Indol β -D-Glucurónido.

J.5.1.1 Tomar diferentes porciones del alimento, transferir 25g o mL a frascos de dilución conteniendo 225mL de diluyente. Realizar diluciones seriadas si es necesario. En una situación atípica y justificada, si la porción de muestra utilizada en el ensayo es distinta a 25g o mL, se deberá utilizar la cantidad necesaria de diluyente para obtener una dilución 1:10. (Como medio de dilución puede utilizarse Solución Peptona Salina o Agua peptonada amortiguada.)

TRANSITORIOS

PRIMERO.- La presente Modificación entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

SEGUNDO.- Con la entrada en vigor de la presente Modificación se dejará sin efecto el inciso A.8. Determinación de *Salmonella* en alimentos, de la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013. Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 28 de marzo de 2014.

Ciudad de México, a 25 de agosto de 2021.- El Comisionado Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **Alejandro** Ernesto Svarch Pérez.- Rúbrica.