

Cuantificación de *Salmonella* en un solo turno en enjuagues de canales de pollo y carne de aves de corral molida (pollo y pavo) utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q-Cuantitativa de *Salmonella*

El Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria (FSIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) está considerando un marco normativo para una estrategia de control de *Salmonella* en productos avícolas y reducir más eficazmente las infecciones por *Salmonella* de origen alimentario relacionadas con estos productos. Una de las cuestiones transversales es disponer de métodos de laboratorio para determinar con la mayor precisión posible si un producto está contaminado con *Salmonella* a un nivel definido y/o con serotipos específicos de *Salmonella*, ya que ambos aspectos repercuten en la enfermedad humana (1).

El ensayo Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* es un método rápido de amplificación de ADN para la detección de *Salmonella* en los alimentos. Este método utiliza la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) y la bioluminiscencia para detectar el ADN objetivo de *Salmonella* con gran especificidad y sensibilidad. Un esquema/algoritmo de prueba que utiliza el Neogen Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella* (MDA2QSAL96) para cuantificar rápidamente varios niveles de *Salmonella* en enjuagues de canales y pollos no listos para el consumo.

1. Rendimiento en enjuagues recolectados en nBPW

Procedimiento general

Las canales de pollo inoculadas artificialmente con diversos niveles de *Salmonella* se enjuagaron con 400 mL de Agua Peptonada Tamponada con neutralizante Neogen® (nBPW) (2). Una parte del enjuague se utilizó para realizar la determinación del número más probable (NMP) de la Guía de Laboratorio de Microbiología (MLG) 2.05 del FSIS (3). Una segunda porción se analizó utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* (MDA2QSAL96). En las instrucciones de uso del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* figura un esquema detallado de las pruebas realizadas con esta matriz.

Resultados

La cuantificación de *Salmonella* se evaluó en tres niveles: 1 UFC/mL de enjuague (bajo), 10 UFC/mL de enjuague (medio) y 100 UFC/mL de enjuague (alto) (Tabla 1 y Figura 1). La comparación de la varianza de los métodos se determinó utilizando la prueba de Bonnett para la comparación entre varianzas y la prueba de Levene para comprobar la igualdad de varianzas. No se encontraron diferencias estadísticas en la varianza del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* en comparación con el método NMP en los niveles bajo, medio y alto (Tabla 2).

Tabla 1. Cuantificación de *Salmonella* a partir de enjuagues nBPW utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* comparada con NMP.

		USDA FSIS MLG MPN Método ^(1,3)					Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de <i>Salmonella</i>						
Nivel	Réplica	NMP/mL	Log 10 NMP/mL	Promedio Log 10 NMP/mL	SD	RSD %	MDS QSAL	Log 10 QSAL/mL	Media Log 10 QSAL/mL	SD	RSD %	Dif. Promedio	95% IC
Bajo	1	1.9	0.26	0.220	0.09	42	2.6	0.41	0.270	0.13	50	0.05	(-.25, 0.15)
	2	1.4	0.16				2.2	0.34					
	3	1.9	0.29				1.2	0.07					
	4	1.9	0.29				2.1	0.32					
	5	1.2	0.09				1.6	0.20					
Medio	1	6.3	0.80	0.914	0.13	14	24.0	1.38	1.249	0.17	13	0.33	(-0.68, 0.02)
	2	11.3	1.05				14.3	1.15					
	3	5.8	0.76				27.5	1.44					
	4	9.5	0.98				10.7	1.03					
	5	9.5	0.98				17.5	1.24					
Alto	1	150	2.18	2.053	0.42	21	84.3	1.93	1.752	0.20	11	-0.30	(-0.26, 0.86)
	2	93	1.97				89.0	1.95					
	3	240	2.38				60.4	1.78					
	4	240	2.38				31.3	1.50					
	5	23	1.36				40.5	1.61					

NMP: Número Más Probable
QSAL: Cuantificación de Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de *Salmonella*
SD: Desviación estándar; RSD: Desviación estándar residual; Dif. media: diferencia media logarítmica entre los dos métodos; IC: intervalo de confianza.

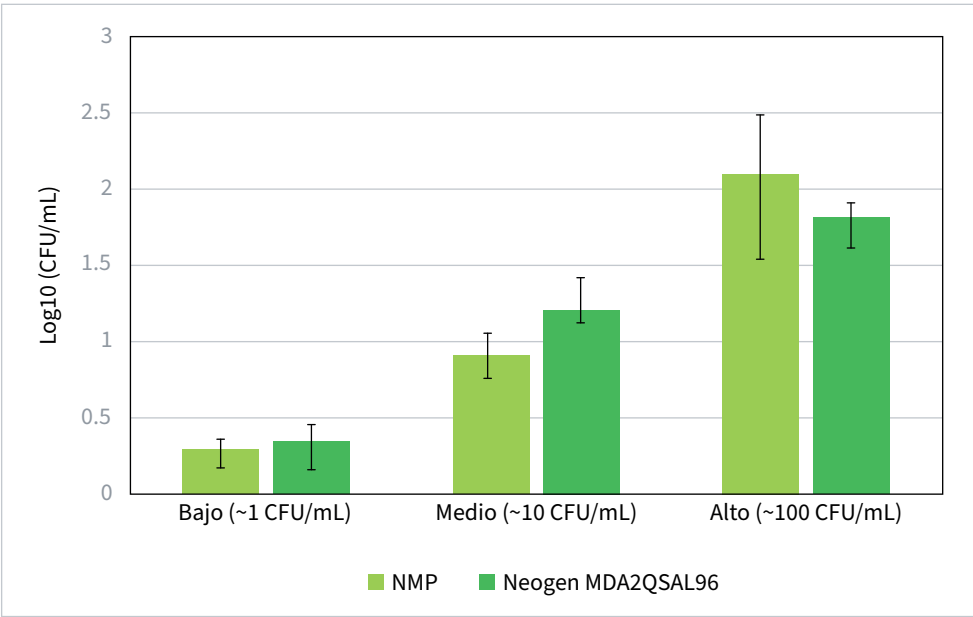


Figura 1. Cuantificación de *Salmonella* a partir de enjuagues nBPW utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* comparada con NMP.

Tabla 2. Prueba de varianzas para enjuagues en nBPW: NMP comparado con el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella*.

Prueba de varianzas	Nivel Bajo (~1 UFC/mL)	Nivel Medio (~10 UFC/mL)	Nivel Medio (~100 UFC/mL)
Valor de p Prueba de Bonnett	0.399	0.173	0.789
Valor de p Prueba de Levene	0.146	0.333	0.847

También se evaluó la comparación del desempeño entre dos operadores durante dos días consecutivos en la cuantificación de *Salmonella* (Tabla 3). No se determinó ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) en la concentración de *Salmonella* utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* para la cuantificación entre operadores.

Tabla 3. Comparación de la cuantificación de *Salmonella* a partir de enjuagues nBPW utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* realizado por dos operadores diferentes y en días de prueba distintos.

Nivel	Mean log 10 (UFC/mL) Operador 1 N=5	Mean log 10 (UFC/mL) Operador 2 N=5	Diferencia de Medias log (Valor Absoluto)	Valor P
Día 1				
Alto	1.75	1.7	0.05	0.64
Medio	1.25	1.08	0.13	0.06
Bajo	0.27	-0.09	0.36	0.07
Día 2				
Alto	1.96	2.06	0.62	0.16
Medio	1.40	1.11	0.29	0.12
Bajo	0.44	0.53	0.09	0.63

La construcción de un gráfico de línea binaria ajustada demostró que el límite de cuantificación del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* se estima en 0,3 UFC/mL para el enjuague nBPW utilizando una regresión binomial con un 95% de confianza.

2. Desempeño en carne molida de pollo

Procedimiento general

Se regularizaron Porciones de muestra de carne de pollo molida se homogenizaron con 400 mL de Neogen® BPW ISO. Una porción de la mezcla generada se utilizó para realizar el Número Más Probable (NMP) de acuerdo con la Guía de Laboratorio de Microbiología (MLG) del FSIS (3,4). Una segunda porción se utilizó para el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* para la cuantificación. En las instrucciones del producto Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* puede encontrarse un esquema detallado de la prueba.

Resultados

La cuantificación de *Salmonella* se evaluó en tres niveles: 1 UFC/g (bajo), 10 UFC/g (medio) y 100 UFC/g (alto) (Tabla 4 y Figura 2). La comparación de varianzas de los métodos se determinó utilizando la prueba de Bonnett para la comparación entre varianzas y la prueba de Levene para comprobar la igualdad de varianzas. No se encontró ninguna diferencia estadística en la varianza del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* cuando se comparó con el método NMP en los niveles bajo, medio y alto (Tabla 5).

Tabla 4. Cuantificación de *Salmonella* en carne molida de pollo utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* comparada con NMP.

		USDA FSIS MLG Método NMP ^(1,3)					Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de <i>Salmonella</i>						
Nivel	Réplica	NMP/mL	Log 10 NMP/mL	Media Log 10 NMP/mL	SD	RSD %	MDS QSAL	Log 10 QSAL/mL	Media Log 10 QSAL/mL	SD	RSD %	Dif. Promedio	95% IC
Bajo	1	1	-0.02	0.180	0.35	194	3	0.48	0.464	0.12	50	0.28	(-0.81, 0.24)
	2	1	-0.07				2	0.39					
	3	2	0.32				4	0.57					
	4	1	-0.07				4	0.57					
	5	5	0.73				2	0.31					
Medio	1	21	1.32	1.453	0.41	28	85	1.93	1.764	0.17	0.20	0.29	(-0.76, 0.17)
	2	100	2.00				79	1.90					
	3	17	1.23				26	1.42					
	4	10	0.98				54	1.73					
	5	54	1.73				56	1.75					
Alto	1	33	1.52	1.798	0.31	17	150	2.17	2.010	0.20	0.12	0.21	(-0.68, 0.26)
	2	210	2.32				86	1.93					
	3	52	1.72				78	1.89					
	4	52	1.72				132	2.09					
	5	52	1.72				92	1.97					

NMP: Número Más Probable

QSAL: Cuantificación de Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de *Salmonella*

SD: Desviación estándar; RSD: Desviación estándar residual; Dif. media: diferencia media logarítmica entre los dos métodos; IC: intervalo de confianza.

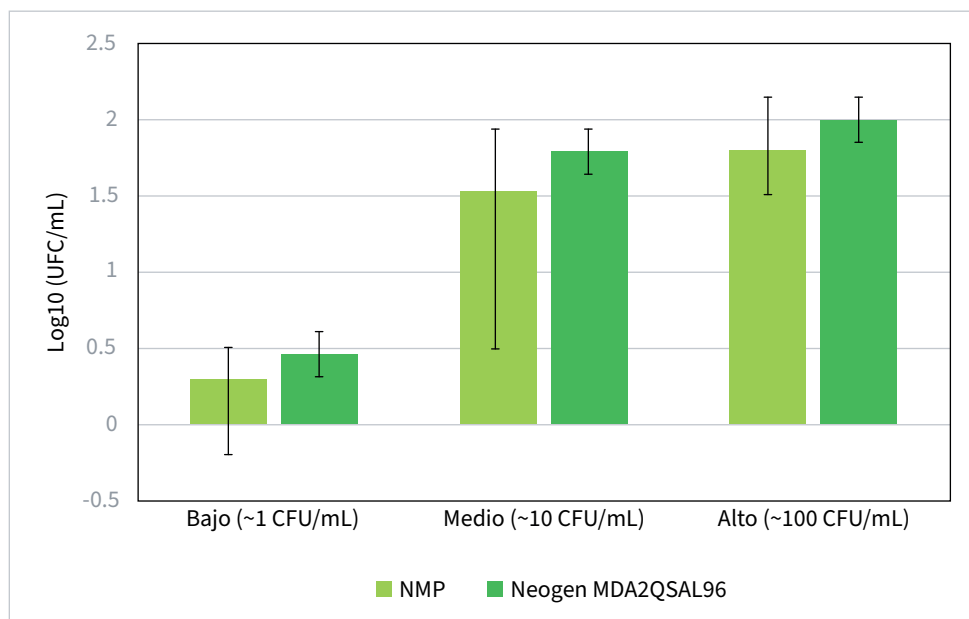


Figura 2. Cuantificación de *Salmonella* en carne de pollo molida usando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella*

Tabla 5. Prueba de varianzas para carne molida de pollo: NMP comparado con el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella*.

Prueba de varianzas	Nivel Bajo (~1 UFC/mL)	Nivel Medio (~10 UFC/mL)	Nivel Medio (~100 UFC/mL)
Valor de p Prueba de Bonnett	0.376	0.40	0.583
Valor de p Prueba de Levene	0.594	0.275	0.594

También se evaluó la comparación del desempeño entre dos operadores durante dos días consecutivos en la cuantificación de *Salmonella* (Tabla 6). No se determinó ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) en la concentración de *Salmonella* utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* para la cuantificación entre operadores.

Tabla 6. Comparación de la cuantificación de *Salmonella* a partir de carne de pollo molido utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* realizado por dos operadores diferentes y en días de prueba distintos.

Nivel	Media Log 10 (UFC/mL) Operador 1 N=5	Media log 10 (UFC/mL) Operador 2 N=5	Diferencias de medias Log (Valor Absoluto)	Valor P
Día 1				
Alto	0.33	0.46	-0.13	0.09
Medio	1.48	1.75	-0.27	0.09
Bajo	1.75	2.01	-0.25	0.26
Día 2				
Alto	1.98	2.06	0.05	0.675
Medio	1.40	1.11	0.07	0.347
Bajo	0.44	0.53	0.08	0.456

La construcción de un gráfico de línea binaria ajustada demostró que el límite de cuantificación del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* se estima en 0,66 UFC/g para carne de pollo molida utilizando una regresión binomial con una confianza del 95%.

3. Desempeño en aguas de enjuagues recolectados en BPW

Procedimiento general

Las canales de pollo inoculadas artificialmente con diversos niveles de *Salmonella* se enjuagaron con 400 mL de Agua Peptonada Tamponada (BPW). Se utilizó una porción del enjuague para realizar el Número Más Probable (NMP) de acuerdo con las Directrices de la Guía de Laboratorio de Microbiología (MLG) 2.05 del FSIS (3). Una segunda porción se utilizó para realizar pruebas con el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* (MDA2QSAL96). En las instrucciones de uso del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* puede encontrarse un esquema detallado de análisis para esta matriz.

Resultados

Se evaluó la cuantificación de *Salmonella* en tres niveles: 1 UFC/mL (bajo), 10 UFC/mL (medio) y 100 UFC/mL (alto) (Tabla 7 y Figura 3). La comparación de las varianzas de los métodos se determinó mediante la prueba de Bonnett. No se encontraron diferencias estadísticas en la varianza del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* cuando se comparó con el método NMP en los niveles medio y alto (Tabla 8). Se halló una diferencia significativa en la varianza para el nivel bajo, que se asocia a una mayor variabilidad en los resultados log UFC/mL. La prueba t-pareada del estudio no mostró diferencias significativas entre el método alternativo y el de referencia ($p=0,277$).

Tabla 7. Cuantificación de *Salmonella* a partir de enjuagues de BPW utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de *Salmonella* comparada con NMP.

USDA FSIS MLG Método NMP ^(1,3)							Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de <i>Salmonella</i>						
Nivel	Réplica	NMP/mL	Log 10 NMP/mL	Media Log 10 NMP/mL	SD	RSD %	MDS QSAL	Log 10 QSAL/mL	Media Log10 QSAL/mL	SD	RSD %	Dif. Promedio	95% IC
Bajo	1	1.10	-0.041	-0.396	0.256	64.8	1.04	0.016	0.090	0.092	102	0.485	0.240, 0.731
	2	0.34	-0.469				1.55	0.191					
	3	0.34	-0.469				1.02	0.010					
	4	0.36	-0.444				1.54	0.189					
	5	0.23	0.638				1.10	0.043					
Medio	1	3.60	0.556	0.640	0.117	18.2	5.06	0.704	0.721	0.143	19.8	0.081	-0.115, 0.276
	2	5.50	0.740				4.99	0.698					
	3	6.20	0.792				7.25	0.860					
	4	3.60	0.556				3.18	0.503					
	5	3.60	0.556				6.90	0.839					
Alto	1	62.00	1.792	1.684	0.323	19.1	21.01	1.322	1.464	0.120	8.2	0.221	-0.616, 0.175
	2	62.00	1.792				24.60	1.391					
	3	23.00	1.362				26.83	1.429					
	4	23.00	1.362				39.75	1.599					
	5	130	2.114				37.75	1.577					

NMP: Número Más Probable

QSAL: Cuantificación de Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de *Salmonella*

SD: Desviación estándar; RSD: Desviación estándar residual; Dif. media: diferencia media logarítmica entre los dos métodos; IC: intervalo de confianza.

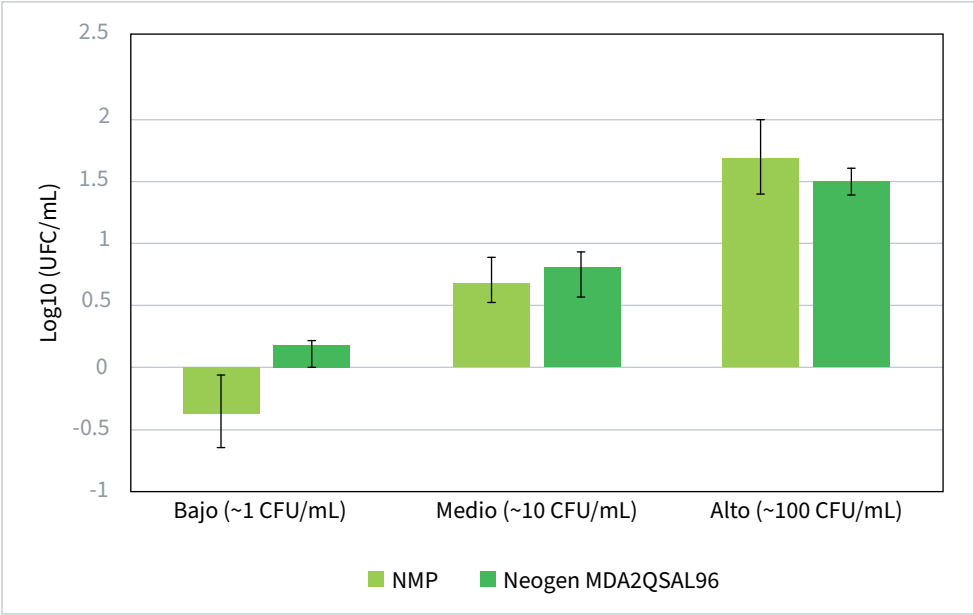


Figura 2. Cuantificación de *Salmonella* a partir de enjuagues en BPW utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* comparado con NMP

Tabla 8. Prueba de varianzas para enjuagues BPW: NMP y predicción de NMP utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella*.

Prueba de varianzas	Nivel Bajo (~1 UFC/mL)	Nivel Medio (~10 UFC/mL)	Nivel Medio (~100 UFC/mL)
Valor de p Prueba de Bonnett	0.037	0.760	0.779
Valor de p Prueba de Levene	0.045	0.731	0.604

También se evaluó la comparación del desempeño entre dos operadores durante dos días consecutivos en la cuantificación de *Salmonella* (Tabla 6). No se determinó ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) en la concentración de *Salmonella* utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* para la cuantificación entre operadores.

Tabla 9. Comparación de la cuantificación de *Salmonella* a partir de enjuagues de BPW utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* cuando fue realizado por dos operadores diferentes y en días de prueba distintos.

Nivel	Media Log 10 (UFC/mL) Operador 1 N=5	Media log 10 (UFC/mL) Operador 2 N=5	Diferencias Log Medias (Valor Absoluto)	Valor P
Día 1				
Alto	-0.115	-0.151	0.036	0.937
Medio	0.678	0.893	0.251	
Bajo	1.120	1.014	0.105	

* Debido a los materiales disponibles, la comparación entre operadores sólo se realizó para un día de pruebas.

La construcción de un gráfico de línea binaria ajustada demostró que el límite de cuantificación del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* se estima en 0,3 UFC/mL para el enjuague de BPW utilizando una regresión binominal con una confianza del 95%.

4. Desempeño en carne molida de pavo

Procedimiento general

Se inoculó artificialmente carne molida de pavo (porción de prueba de 325 g) con diversos niveles de *Salmonella* y se homogenizó con 400 mL de Agua Peptonada Tamponada (BPW). Se utilizó una porción del regularizado para realizar el Número Más Probable (NMP) de acuerdo con las Directrices de la Guía de Laboratorio de Microbiología (MLG) 2.05 del FSIS (3). Una segunda porción se utilizó para realizar pruebas con el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* (MDA2QSAL96). En las instrucciones de uso del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* puede encontrarse un esquema detallado de las pruebas realizadas con esta matriz.

Resultados

Se evaluó la cuantificación de *Salmonella* en tres niveles: 1 UFC/g (bajo), 10 UFC/g (medio) y 100 UFC/g (alto) (Tabla 10 y Figura 4). La comparación de las varianzas de los métodos se determinó mediante la prueba de Bonnett. No se encontraron diferencias estadísticas en la varianza del ensayo de detección molecular Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* cuando se comparó con el método NMP en los niveles bajo, medio y alto (Tabla 11).

Tabla 10. Cuantificación de *Salmonella* en muestras de carne molida de pavo utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* en comparación con el NMP.

		USDA FSIS MLG Método NMP ^(1,3)					Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de <i>Salmonella</i>						
Nivel	Réplica	NMP/mL	Log 10 NMP/mL	Media Log 10 NMP/mL	SD	RSD %	MDS QSAL	Log 10 QSAL/mL	Media Log10 QSAL/mL	SD	RSD %	Dif. Promedio	95% IC
Bajo	1	2.9	0.462	0.149	0.276	184	3.8	0.582	0.488	0.166	33.8	0.339	-0.691, 0.012
	2	2.6	0.415				2.8	0.444					
	3	1.2	0.079				3.1	0.498					
	4	0.8	-0.092				4.8	0.680					
	5	0.8	-0.119				1.7	0.239					
Medio	1	8.1	0.908	0.827	0.236	28	9.3	0.967	0.814	0.191	23.4	0.013	-0.308, 0.333
	2	8.1	0.908				8.5	0.931					
	3	12.0	1.079				5.7	0.756					
	4	2.8	0.447				8.2	0.913					
	5	6.2	0.792				3.2	0.505					
Alto	1	81.0	1.908	1.609	0.374	21.5	18.6	1.271	1.345	0.208	15.5	0.264	-0.707, 0.178
	2	52.0	1.716				11.9	1.075					
	3	25.0	1.398				20.1	1.304					
	4	13.0	1.114				27.4	1.438					
	5	81.0	1.908				43.1	1.635					

NMP: Número Más Probable

QSAL: Cuantificación de Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q- Cuantitativo de *Salmonella*

SD: Desviación estándar; RSD: Desviación estándar residual; Dif. media: diferencia media logarítmica entre los dos métodos; IC: intervalo de confianza.

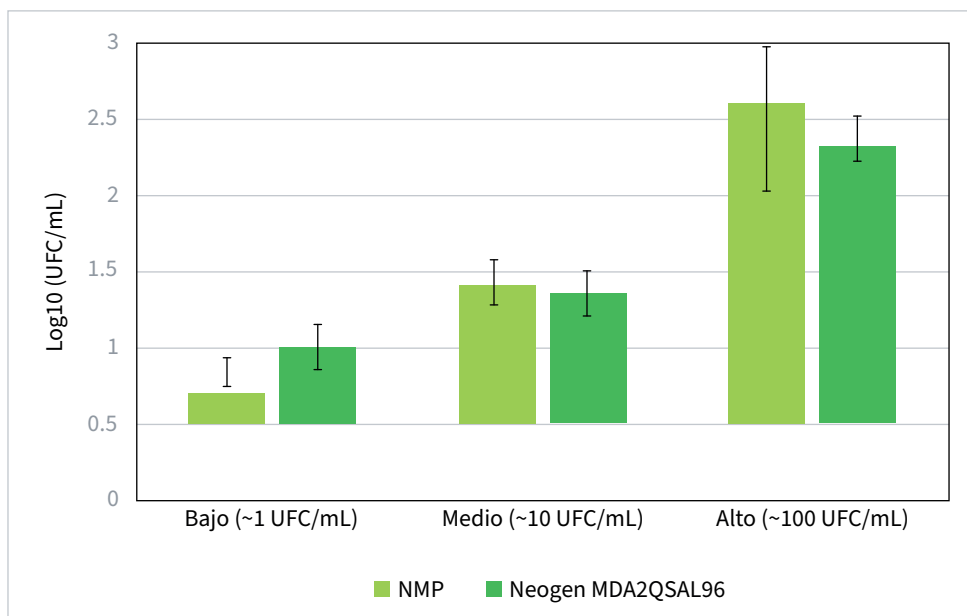


Figura 2. Cuantificación de *Salmonella* en carne molida de pavo utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* comparado con NMP

Tabla 8. Prueba para muestras de carne molida de pavo: NMP y predicción de NMP utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella*.

Prueba de varianzas	Nivel Bajo (~1 UFC/mL)	Nivel Medio (~10 UFC/mL)	Nivel Medio (~100 UFC/mL)
Valor de p Prueba de Bonnett	0.955	0.952	0.112
Valor de p Prueba de Levene	0.316	0.707	0.129

También se evaluó la comparación del desempeño entre dos operadores en la cuantificación de *Salmonella* (Tabla 12). No se determinó ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) en la concentración de *Salmonella* utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* entre los operadores.

Tabla 12. Comparación de la cuantificación de *Salmonella* a partir de muestras de carne molida de pavo utilizando el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* cuando se realiza con dos operadores diferentes y diferentes días de análisis.

Nivel	Media Log 10 (UFC/mL) Operador 1 N=5	Media log 10 (UFC/mL) Operador 2 N=5	Diferencias Log Medias (Valor Absoluto)	Análisis de medias (Efecto del operador)
Día 1				
Alto	-0.655	-0.450	0.384	0.443
Medio	0.863	0.835	0.027	
Bajo	1.422	1.492	-0.070	
Día 2				
Alto	0.423	0.217	0.205	0.782
Medio	0.908	1.032	0.123	
Bajo	1.405	1.571	0.166	

La construcción de un gráfico de línea binaria ajustada demostró que el límite de cuantificación del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* se estima en 0,68 UFC/g para carne molida de pavo utilizando una regresión binominal con una confianza del 95%.

Notas Adicionales

Para todas las matrices probadas en este estudio, se realizaron análisis adicionales para demostrar que la cuantificación no era significativamente diferente entre lotes comerciales de kits de prueba del Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella*, entre múltiples días de prueba y entre diferentes equipos de Detección Molecular de Neogen® probados.

Conclusiones

El Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella*, predijo la concentración de *Salmonella* en enjuagues de canales recogidos en nBPW y BPW así como para muestras de carne de ave molida (pollo y pavo) con una diferencia media logarítmica inferior a 0,5 y sin diferencia en la varianza del método en comparación con la varianza de NMP.

- Este método mostró repetibilidad entre operadores y diferentes días de prueba.
- Este método es robusto a varias condiciones de ensayo incluyendo lote a lote de kits de reactivos.

Así, el Neogen Ensayo de Detección Molecular 2Q - Cuantitativo de *Salmonella* permite un método más rápido y menos laborioso que el tradicional Número Más Probable para determinar la concentración de *Salmonella* en enjuagues de pollo y carne molida de ave (pollo y pavo). Esto puede permitir a los productores avícolas evaluar el efecto de las intervenciones para controlar la *Salmonella* y/o implementar una intervención temprana para minimizar el riesgo de *Salmonella* en el producto.

Nota: Los datos presentados en este resumen de resultados se recopilieron internamente.

Referencias

- (1) USDA FSIS. (2024) . Marco normativo propuesto para reducir las enfermedades por *Salmonella* atribuibles a las aves de corral. Proposed Regulatory Framework to Reduce Salmonella Illnesses Attributable to Poultry (usda.gov) Consultado el 22.6.24.
- (2) USDA FSIS (2021). Instrucciones de muestreo: Programa de verificación de *Salmonella* y *Campylobacter* para productos avícolas crudos. Directiva 10.250.1 del FSIS. Rev 1. FSIS Directive 10,250.1 Rev 1 Sampling Instructions Salmonella and Campylobacter Verification Program for Raw Poultry Products (usda.gov). Consultado el 22.6.24.
- (3) USDA FSIS. (2023). Isolation and Identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, siluriformes (Fish) products and carcasses and environmental sponges. MLG 4.14 Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, Siluriforms (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges (usda.gov). Consultado el 23.6.24.
- (4) USDA FSIS. (2014). Procedimiento y tablas del número más probable. Guía del laboratorio de microbiología. MLG Apéndice 2.05. Procedimiento y tablas del número más probable. (usda.gov) . Consultado el 22.6.24

