

## RESOLUCIÓN OIV-OENO 662N-2023

### MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE *Escherichia coli* $\beta$ -GLUCURONIDASA POSITIVO

LA ASAMBLEA GENERAL,

VISTO el artículo 2, párrafo iv del Acuerdo del 3 de abril de 2001 por el que se crea la Organización Internacional de la Viña y el Vino,

CONSIDERANDO los trabajos de la Subcomisión “Métodos de Análisis” sobre el desarrollo de métodos de análisis para los zumos de uva, zumos de uva concentrados, zumos de uva reconstituidos y néctares de uva,

CONSIDERANDO la Norma ISO 16649-2:2001, relativa al método de recuento de *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidasa positivo, disponible en el sitio web de la ISO ,

CONSIDERANDO el trabajo del Grupo de expertos “Microbiología” de la OIV y el dictamen del Comité Científico y Técnico de la OIV, favorable a que se haga referencia a dicha Norma ISO a sabiendas de que parte de su contenido puede estar protegido por derechos de propiedad intelectual,

A PROPUESTA de la Comisión “Enología”,

DECIDE adoptar el siguiente método de análisis microbiológico para los zumos de uva, zumos de uva concentrados, zumos de uva reconstituidos y néctares de uva:

### MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE *Escherichia coli* $\beta$ -GLUCURONIDASA POSITIVO

#### Prólogo

La ISO (Organización Internacional de Normalización) es una federación mundial de organismos nacionales de normalización (organismos miembros de la ISO). El trabajo de preparación de las normas internacionales normalmente se realiza a través de los comités técnicos de la ISO. Cada organismo miembro interesado en una materia para la cual se haya establecido un comité técnico tiene derecho a estar representado en dicho comité. Las organizaciones internacionales, públicas y privadas, en coordinación con la ISO, también participan en el trabajo. La ISO colabora estrechamente con la Comisión Electrotécnica Internacional (CEI) en lo relativo a la normalización electrotécnica.

Las normas internacionales se redactan de acuerdo con las reglas establecidas en la Parte 3 de las Directivas ISO/CEI.

Los proyectos de normas internacionales adoptados por los comités técnicos se envían a los organismos miembros para su votación. La publicación como norma internacional requiere la aprobación por al menos el 75% de los organismos miembros con derecho a voto.

Se llama la atención sobre la posibilidad de que algunos de los elementos de esta parte de la Norma ISO 16649 puedan estar sujetos a derechos de patente. La ISO no asume la responsabilidad por la identificación de ningún derecho de patente.

La Norma Internacional ISO 16649-2 ha sido preparada por el Comité Técnico ISO/TC 34, Productos alimenticios, Subcomité SC 9, Microbiología.

La Norma ISO 16649, Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para la enumeración de *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidasa positivo, consta de las siguientes partes:

- Parte 1: Técnica de recuento de colonias a 44 °C utilizando membranas y 5-bromo-4-cloro-3-indolil  $\beta$ -D-glucurónido
- Parte 2: Técnica de recuento de colonias a 44 °C utilizando 5-bromo-4-cloro-3-indolil  $\beta$ -D-glucurónido
- Parte 3: Técnica del número más probable

## **Parte 2: Técnica de recuento de colonias a 44°C utilizando 5-bromo-4-cloro-3-indolil $\beta$ -D-glucurónido**

### **Introducción**

Dada la gran variedad de productos alimenticios destinados al consumo humano y animal, este método horizontal puede no ser del todo adecuado para determinados productos. Dado el caso, pueden emplearse distintos métodos, específicos para dichos productos, cuando sea imprescindible por motivos técnicos justificados. No obstante, se debe intentar aplicar este método horizontal en la medida de lo posible.

En la próxima revisión de esta parte de la Norma ISO 16649, se tendrá en cuenta toda la información disponible sobre el grado de aplicación de este método horizontal y los motivos que justifican las desviaciones respecto de este método en el caso de determinados productos.

La armonización de los métodos de ensayo no es inmediata, por lo que es posible que, para ciertos grupos de productos, existan normas nacionales o internacionales que no se ajusten a este método horizontal. Cuando se revisen dichas normas, convendría ajustarlas a esta parte de la Norma ISO 16649 y descartar todas las desviaciones respecto de este método horizontal, salvo aquellas que sean indispensables por motivos técnicos justificados.

En la presente Norma Internacional se describen dos métodos horizontales (ISO 16649-1 y ISO 16649-2) para el recuento de *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidasa positivo.

El usuario puede elegir una u otra parte (ISO 16649-1 o ISO 16649-2). Ambas son de aplicación general. No obstante, se recomienda utilizar la ISO 16649-1 para alimentos que puedan contener bacterias sometidas a condiciones extremas.

## 1. **Ámbito de aplicación**

En esta parte de la Norma ISO 16649 se define un método horizontal para el recuento de *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidasa positivo en productos destinados al consumo humano o a la alimentación animal. Se emplea una técnica de recuento de colonias a 44°C en un medio sólido que contiene un ingrediente cromogénico para detectar la enzima  $\beta$ -glucuronidasa.

**ATENCIÓN: Este método no permite detectar ciertas cepas de *Escherichia coli* que no crecen a 44°C, en particular las  $\beta$ -glucuronidasa negativas, como *Escherichia coli* O157.**

## 2. **Referencias normativas**

Las normas enumeradas a continuación contienen disposiciones que, citadas en el texto, constituyen disposiciones válidas para esta parte de la Norma ISO 16649. En el caso de las referencias fechadas, no son aplicables las modificaciones o revisiones ulteriores. No obstante, se recomienda a las partes que basen sus acuerdos en esta parte de la Norma ISO 16649 estudiar la posibilidad de aplicar las ediciones más recientes de las normas enumeradas a continuación. En el caso de las referencias no fechadas, se aplica la última edición de la norma referenciada. Los miembros de la ISO y la CEI disponen de listas con las normas internacionales en vigor.

- ISO 6887-1, Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para examen microbiológico. Parte 1: Reglas generales para la preparación de la suspensión inicial y las diluciones decimales.

- ISO 7218, Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Reglas generales para los exámenes microbiológicos.

### 3. Términos y definiciones

Para los fines de esta parte de la Norma ISO 16649, son aplicables los siguientes términos y definiciones.

#### 3.1. Escherichia coli $\beta$ -glucuronidasa positivo

Bacterias que, a 44°C, forman colonias azules características en medio triptona-bilis-glucurónico (TBX) en las condiciones especificadas en esta parte de la Norma ISO 16649.

#### 3.2. Recuento de Escherichia coli $\beta$ -glucuronidasa positivo

Determinación del número de unidades formadoras de colonias (UFC) de Escherichia coli  $\beta$ -glucuronidasa positivo, por mililitro o por gramo de muestra, según el ensayo y los cálculos de esta parte de la Norma ISO 16649.

**Solo son públicos los apartados informativos de las normas. Para visualizar todo el contenido, es necesario adquirir la Norma haciendo clic en “Comprar”.**

#### Bibliografía

- [1] BLAZKO, N.: “Evaluation of the  $\beta$ -glucuronidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide in a 24 hour direct plating method for Escherichia coli”, J. Food Protection, 51, p. 402.
- [2] DAMARE, J. M.; CAMPBELL, D. F., y JOHNSON, R. W.: “Simplified direct plating method for enhanced recovery of Escherichia coli in food”, Journal of Food Science, 50, 1985, pp. 1736-1737, 1746.
- [3] DELISLE, G. L. y LEY, A.: “Rapid detection of Escherichia coli in urine samples by a new chromogenic  $\beta$ -glucuronidase assay”, J. Clin. Microbiol., 27, 1989, pp. 778-779.
- [4] KILIAN, M. y BULOW, P.: “Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. Detection of bacterial glycosidases”, Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B, 84, 1976, pp. 245-251.
- [5] KILIAN, M. y BULOW, P.: “Rapid identification of Enterobacteriaceae. Use of a  $\beta$ -glucuronidase detecting agar medium (PGUA agar) for the identification of

Escherichia coli in primary cultures of urine samples”, *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B*, 87, 1979, pp. 271-276.

- [6] LEY, A. N.; BOWERS, R. J., y WOLFE, S.: “Indoxyl- $\beta$ -D-glucuronide, a novel chromogenic reagent for the specific detection and enumeration of Escherichia coli in environmental sample”, *Canadian Journal of Microbiology*, 34, 1988, pp. 690-693.
- [7] MANAFI, M. y KNEIFEL, W.: “A combined chromogenic-fluorogenic medium for the simultaneous detection of total coliforms and E. coli in water”, *Zentralbl. Hyg.*, 189, 1989, pp. 225-234.
- [8] OGDEN, I. D. y WATT, A. J.: “An evaluation of fluorogenic and chromogenic assays for the direct enumeration of Escherichia coli”, *Letters in Applied Microbiology*, 13, 1991, pp. 212-215.
- [9] RESTAINO, L.; FRAMPTON, E. W., y LYON, R. H.: “Use of chromogenic substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide (X-GLUC) for enumeration of Escherichia coli on 24 hours from ground beef”, *J. Food Protection*, 53 (6), 1990, pp. 508-510.
- [10] WATKINS, W. D.; RIPPEY, S. C.; CLAVET, C. R.; KELLY-REITZ, D. J.; y BURKHARDT, W.: “Novel compound for identifying Escherichia coli”, *Applied Environmental Microbiology*, 54, 1988, pp. 1874-1875.