

RESOLUCIÓN OIV-OENO 6620-2023

MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECUENTO DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVOS

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 6888-2:2021, relativa al método de recuento de estafilococos coagulasa positivos, disponible en el sitio web de la ISO^[1],

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 ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVOS

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.

Los procedimientos utilizados para desarrollar este documento y aquellos previstos para su mantenimiento posterior se describen en la Parte 1 de las Directivas ISO/CEI. En particular, cabe señalar los diferentes criterios de aprobación necesarios para los distintos tipos de documentos ISO. El presente documento se ha redactado de acuerdo con las reglas de redacción establecidas en la Parte 2 de las Directivas ISO/CEI (v. www.iso.org/directives).

Se llama la atención sobre la posibilidad de que algunos de los elementos de este documento puedan estar sujetos a derechos de patente. La ISO no asume la responsabilidad por la identificación de ningún derecho de patente. Los detalles sobre cualquier derecho de patente identificado durante el desarrollo de este documento se indicarán en la introducción y/o en la lista ISO de declaraciones de patente recibidas (v. www.iso.org/patents).

Cualquier nombre comercial utilizado en este documento es información que se proporciona para comodidad del usuario y no constituye una recomendación.

Para una explicación de la naturaleza voluntaria de las normas, el significado de los términos y expresiones específicos de la ISO relacionados con la evaluación de la conformidad, así como la información acerca de la adhesión de la ISO a los principios de la Organización Mundial del Comercio (OMC) respecto a los Obstáculos Técnicos al Comercio (OTC), véase www.iso.org/iso/foreword.html.

El presente documento ha sido preparado por el Comité Técnico ISO/TC 34, Productos alimenticios, Subcomité SC 9, Microbiología, en colaboración con el Comité Técnico CEN/TC 463, Microbiología de la cadena alimentaria, del Comité Europeo de Normalización (CEN), de conformidad con el acuerdo de cooperación técnica entre la ISO y el CEN (Acuerdo de Viena).

Esta segunda edición anula y sustituye a la primera edición (ISO 6888-2:1999), sometida a una revisión técnica. También se ha incorporado la modificación ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003. Estos son los principales cambios respecto de la versión anterior:

- se ha modificado el título para hacer referencia a la cadena alimentaria,
- se ha aclarado el estado de la ISO 6888-1 y del presente documento,
- se ha armonizado el documento con la Norma ISO 7218:2007 (se indica que hay que verter el medio de agar fundido a una temperatura de entre 44 °C y 47 °C),
- se ha cambiado “35 °C o 37 °C” por “entre 34 °C y 38 °C” en todos los casos en los que procedía,

- se ha cambiado el período de incubación de “18 h a 24 h” por “24 h ± 2 h” en todos los casos en los que procedía,
- se ha añadido la obligatoriedad de utilizar la Norma ISO 11133,
- se han actualizado todas las normas disponibles relacionadas con las técnicas de toma de muestras;
- se ha actualizado el diagrama de flujo del Anexo A,
- se han añadido medios de cultivo y reactivos con ensayos de eficacia y se han desplazado al Anexo B;
- se han añadido los ensayos de eficacia del medio de agar, plasma de conejo y fibrinógeno (RPFA),
- se han actualizado los resultados del estudio interlaboratorios (según los datos de precisión de la ISO 6888-2:1999/Amendment 1:2003),
- se ha actualizado la bibliografía.

La lista de todas las partes de la serie ISO 6888 se puede consultar en el sitio web de la ISO.

Los comentarios y preguntas sobre el presente documento se deben remitir al organismo nacional de normalización del país del usuario. Puede consultar la lista completa de dichos organismos en la siguiente dirección:www.iso.org/members.html.

Introducción

En la ISO 6888-1, el presente documento y la Norma ISO 6888-3 se describen tres métodos horizontales para la detección y el recuento de estafilococos coagulasa positivos, entre los que se hallan cepas enterotoxigénicas. Se trata principalmente de *Staphylococcus aureus*, pero también de *S. intermedius* y ciertas cepas de *S. hyicus*.

A los efectos del presente documento, la caracterización de los estafilococos se basa en una reacción coagulasa positiva, pero se sabe que algunas cepas de *Staphylococcus aureus* producen una reacción coagulasa positiva débil. Estas cepas pueden confundirse con otras bacterias, pero es posible distinguirlas mediante otros ensayos no incluidos en el presente documento, como las pruebas de sensibilidad a la lisostafina y de producción de hemolisina, de termonucleasa y de ácido a partir de manitol (v. la Norma ISO 7218 y la referencia [13]).

Los principales cambios técnicos respecto de la edición anterior, enumerados en el

prólogo, se consideran menores (v. la Norma ISO 17468). Influyen poco en los criterios de eficacia del método.

Los resultados del estudio interlaboratorios y las muestras analizadas se detallan en el Anexo C.

ATENCIÓN: Para salvaguardar la salud del personal de laboratorio, es fundamental que los ensayos de recuento de estafilococos se lleven a cabo solo en laboratorios debidamente equipados, bajo la supervisión de un microbiólogo especializado y prestando especial atención a la eliminación de los materiales incubados. Los usuarios de este documento deben estar familiarizados con las prácticas habituales de laboratorio. En el presente documento no se pretende abordar todos los aspectos de seguridad que puedan derivarse de su uso. Es responsabilidad del usuario adoptar las debidas medidas sanitarias y de seguridad.

1. **Ámbito de aplicación**

En este documento se define un método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positivos basado en el recuento de colonias en un medio sólido (agar, plasma de conejo y fibrinógeno) tras incubación aeróbica a entre 34°C y 38°C (v. la referencia [10]).

Este documento se aplica a:

- productos destinados al consumo humano,
- productos destinados a la alimentación animal,
- muestras ambientales recogidas en zonas de producción y manipulación de alimentos y piensos,
- muestras procedentes de la etapa de producción primaria.

Este método horizontal se desarrolló en un principio para el análisis de todas las muestras de la cadena alimentaria.

Dada la gran diversidad de productos de la cadena alimentaria, este método horizontal puede no ser del todo adecuado para determinados productos. No obstante, se espera que las modificaciones requeridas se reduzcan al máximo para no desviarse significativamente de este método horizontal.

Según la información disponible en el momento de la publicación de este documento, este método no se considera (totalmente) adecuado para el análisis de productos fermentados u otros productos que contengan una flora tecnológica basada en

Staphylococcus spp. (por ejemplo, *S. xylosus*) (como quesos elaborados con leche cruda y ciertos productos cárnicos crudos) que puedan estar contaminados con:

- estafilococos que forman colonias atípicas en el medio de agar Baird-Parker,
- flora basal que pueda enmascarar las colonias buscadas.

En cualquier caso, tanto este documento como la Norma ISO 6888-1 tienen un estatus equivalente.

2. Referencias normativas

En el texto se hace referencia a los siguientes documentos de manera que parte o la totalidad de su contenido constituyen requisitos de este documento. En el caso de las referencias fechadas, solo se aplica la edición citada. En el caso de las referencias no fechadas, se aplica la última edición del documento referenciado (con sus eventuales modificaciones).

- ISO 6887 (todas las partes), Microbiología de la cadena alimentaria. Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para examen microbiológico.
- ISO 7218, Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Requisitos generales y guía para el examen microbiológico.
- ISO 11133, Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo.

3. Términos y definiciones

Para los fines de este documento, son aplicables los siguientes términos y definiciones.

La ISO y la CEI mantienen bases de datos terminológicas para su utilización en normalización:

- Plataforma de búsqueda en línea de la ISO: disponible en <https://www.iso.org/obp/>
- Electropedia de la IEC: disponible en <http://www.electropedia.org/>

3.1. Estafilococos coagulasa positivos

Bacterias que forman colonias características en un medio de cultivo selectivo (agar, plasma de conejo y fibrinógeno)

Nota a la entrada 1: La descripción de las colonias características figura en el apartado 9.3.

3.2. Recuento de estafilococos coagulasa positivos

Determinación del número de estafilococos coagulasa positivos (3.1) por gramo, por mililitro, por centímetro cuadrado o por dispositivo de toma de muestras/zona de toma de muestras.

Nota a la entrada 1: Una zona de toma de muestras es una zona no definida por una magnitud numérica, como, por ejemplo, un grifo o el pomo de una puerta.

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] ISO 707, Leche y productos lácteos. Directrices para la toma de muestras.
- [2] ISO 6888-1, Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus* y otras especies). Parte 1: Método que utiliza un medio de agar Baird-Parker
- [3] ISO 6888-3, Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa-positivos (*Staphylococcus aureus* y otras especies). Parte 3: Detección y técnica NMP para números bajos
- [4] ISO 13307, Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Etapa de producción primaria. Técnicas de muestreo.
- [5] ISO 16140:2003, Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Protocolo de validación de métodos alternativos.
- [6] ISO 17604, Microbiología de la cadena alimentaria. Toma de muestras de canales para el análisis microbiológico.
- [7] ISO 17468, Microbiología de la cadena alimentaria. Requisitos técnicos y recomendaciones para el desarrollo o la revisión de métodos de referencia

normalizados.

- [8] ISO/TS 17728, Microbiología de la cadena alimentaria. Técnicas de muestreo para el análisis microbiológico de muestras de alimentos y piensos
- [9] ISO 18593, Microbiología de la cadena alimentaria. Métodos horizontales para toma de muestras de superficies.
- [10] IDF 145A:1997, Leche y productos lácteos. Recuento de estafilococos coagulasa positivos. Técnica del recuento de colonias.
- [11] Boothby, J.; Genigeorgis, C., y Fanelli, M.J.: "Tandem coagulase/thermonuclease agar method for the detection of *Staphylococcus aureus*", *Appl. and Environmental Microbiology*, 1979, vol. 37, pp. 298-302.
- [12] De Buyser, M. L.; Lombard, B.; Schulten, S. M.; In't Veld, P. H.; Scotter, S. L.; Rollier, P., y Lahellec, C.: "Validation of EN ISO standard methods 6888 Part 1 and Part 2:1999. Enumeration of coagulase-positive staphylococci in foods", *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, 83(2), pp. 185-194.
- [13] Kloos, W. E.: "Systematics and the natural history of staphylococci", en *Staphylococci*, *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.*, 1990, 69, pp. 25S-37S, y *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2.^a edición, vol. 3, 2009, pp. 372-421.

^[1] <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6888:-2:ed-2:v1:en>