


<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de <i>estafilococos</i> coagulasa positivos según ISO 6888-1</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

## **Procedimiento para el recuento de *estafilococos* coagulasa positivos según ISO 6888-1:2021**

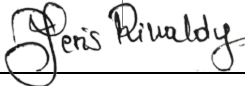
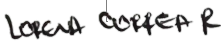

**AOXLAB S.A.S.**

	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

## DOCUMENTO CONTROLADO


### PROC-TC-232 Procedimiento para el recuento de *estafilococos* coagulasa positivos según ISO 6888-1:2021

Copia controlada No.: **1**

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
<b>Elaboró:</b>	Yeris Mercedes Rinaldy Mojica	Líder microbiología		2025-06-27
<b>Revisó:</b>	Lorena Correa Restrepo	Líder de laboratorio		2025-06-27
<b>Aprobó:</b>	Jonatan Zárate A.	Director técnico		2025-06-27
<b>Localización del documento:</b>	Plataforma SGC			

## Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2025-06-27	1	Ninguno (versión original).	YMRM	YELP	APPP


	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

## ÍNDICE

<b>1.</b>	<b>OBJETIVO Y ALCANCE</b> .....	5
1.1	Objetivo.....	5
1.2	Alcance.....	5
<b>2.</b>	<b>DEFINICIONES Y NOTACIONES.</b> .....	5
2.1	Definiciones. ....	5
2.2	Notaciones.....	5
<b>3.</b>	<b>REFERENCIAS.</b> .....	5
<b>4.</b>	<b>DESARROLLO</b> .....	7
4.1	Actividades previas .....	7
4.1.1	Inspección de la muestra.....	7
4.1.2	Estabilización.....	7
4.1.2	Verificación de equipos y áreas de ensayo .....	8
4.1.3	Manejo de la muestra .....	8
4.1.4	Medidas de seguridad .....	8
4.2	Patrones y equipos de medición. ....	9
4.3	Materiales y consumibles .....	9
4.4	Reactivos y/o soluciones:.....	9
4.5	Preparación de soluciones de trabajo .....	10
4.6	Preparación de la suspensión inicial:.....	11
4.7	Diluciones decimales seriadas.....	12
4.8	Siembra en agar Baird-Parker (BPA) .....	12
4.9	Recuento de colonias .....	12
4.9.1	Confirmación de colonias.....	12
5.	<b>EXPRESIÓN DE RESULTADOS</b> .....	13
5.1	Caso General .....	13
5.2	Estimación de recuentos bajos .....	15
6.	<b>Aseguramiento de la calidad</b> .....	16
<b>7</b>	<b>RESPONSABILIDADES.</b> .....	17
7.1	Director técnico .....	17
7.2	Líder de Calidad.....	17
7.3	Líder de Laboratorio .....	17

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de  <i>estafilococos coagulasa positivos</i> según ISO  6888-1  <b>AOXLAB S.A.S</b></b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

<b>7.4 Analista</b> .....	17
<b>8. FORMATOS RELACIONADOS</b> .....	18
<b>9. ANEXOS</b> .....	18

	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

## 1. OBJETIVO Y ALCANCE

### 1.1 Objetivo.

Establecer un método para el recuento de estafilococos coagulasa positivos en alimentos, mediante el uso de agar Baird-Parker y confirmación por prueba de coagulasa, con el fin de evaluar su inocuidad microbiológica.

### 1.2 Alcance.

Este procedimiento es aplicable a:

- Productos destinados al consumo humano.
- Alimentos para animales.
- Muestras ambientales en áreas de producción y manipulación de alimentos.
- Muestras provenientes de la etapa de producción primaria.

## 2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

### 2.1 Definiciones.

**Estafilococos coagulasa positivos:** Bacterias que forman colonias típicas o atípicas en medio selectivo (agar Baird-Parker) y que presentan una reacción positiva en la prueba de coagulasa en tubo o en agar con plasma de fibrinógeno de conejo.

**Enumeración de estafilococos coagulasa positivos:** Determinación del número de estafilococos coagulasa positivos por gramo, mililitro, centímetro cuadrado o por dispositivo de muestreo.

### 2.2 Notaciones.

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

**“Laboratorio”:** se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.

**“Informe de resultados”:** se refiere a los informes de ensayo que emite el Laboratorio.

**“Servicios”:** para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

## 3. REFERENCIAS.

International Organization for Standardization. (2021). 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. <https://www.iso.org/standard/76672.html>

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de <i>estafilococos</i> coagulasa positivos según ISO 6888-1  AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

[[2] International Organization for Standardization. (2017). ISO 6887. Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Partes 1 a 6. <https://www.iso.org/standard/63335.html>

[[3] International Organization for Standardization. (2007). ISO 7218:2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations. <https://www.iso.org/standard/43971.html>

[[4] International Organization for Standardization. (2014). ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media. <https://www.iso.org/standard/53610.html>

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de <i>estafilococos</i> coagulasa positivos según ISO 6888-1  AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

#### 4. DESARROLLO

##### 4.1 Actividades previas

###### 4.1.1 Inspección de la muestra

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, éste es inspeccionado a fin de asegurar que se garanticen las condiciones conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que la muestra se encuentra empacada y sellada herméticamente, y etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio.

Para dar declaración de conformidad de la muestra por la normatividad vigente que aplique, se debe garantizar el análisis de las unidades especificadas por la norma. En el caso de la Resolución 1407, se debe asegurar el análisis de 5 unidades individuales que conforman una muestra representativa de un lote.

En los casos en que la muestra no cumpla con el número de unidades establecido por la normativa, se podrá emitir una declaración de cumplimiento del producto conforme a la especificación del cliente, siempre que este lo solicite. Esta declaración se basará en los límites establecidos por la norma aplicable al ítem evaluado. En ausencia de dicha solicitud o si no se cumplen los requisitos mínimos, no se emitirá declaración de cumplimiento.


En caso de que la muestra no cumpla con alguna de las condiciones establecidas, se deberá informar de inmediato al líder de microbiología, quien a su vez notificará al líder comercial para comunicar la novedad al cliente.

###### 4.1.2 Estabilización.

Una vez revisada la muestra, se aplican las siguientes instrucciones:

Los patrones y equipos de referencia del laboratorio a intervenir en el ensayo como son las balanzas se mantienen en el lugar de ensayo encendidas, antes de realizar las mediciones, a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica. Las muestras que están en congelación

deben retirarse del congelador y atemperarse hasta que adquieran un estado adecuado para realizar la toma de la porción analítica. Los ítems que no requieren refrigeración se mantienen en el lugar de ensayo para que tengan una estabilidad térmica. Las soluciones usadas para el ensayo deben atemperarse por 1 hora o colocarlas entre 15 y 20 minutos en la incubadora a 37 °C.

	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

Debe verificarse que las condiciones ambientales del lugar de ensayo se encuentren en los intervalos que se muestran a continuación:

Condición ambiental	Mínima	Máxima	Observación
Temperatura ambiente	18,00	25,00	Condiciones establecidas por el laboratorio
Humedad relativa	20,00	80,00	Condiciones establecidas por el laboratorio

Estas condiciones son monitoreadas y registradas automáticamente por el software 3sense del laboratorio y en caso de que se encuentren fuera de estos rangos deben suspenderse los análisis y se debe informar al líder de mantenimiento, líder de laboratorio y dirección técnica.

#### 4.1.2 Verificación de equipos y áreas de ensayo


A fin de confirmar que los equipos a utilizar en el ensayo se encuentran en condiciones adecuadas para realizar el servicio, se inspecciona que se haya realizado la verificación diaria de la balanza gramera de acuerdo con el procedimiento PROC-TC-005. Así mismo, se debe garantizar la desinfección de la cabina y encendiendo la fuente de luz UV durante por lo menos 60 minutos. Antes de cada ensayo, debe verificarse que se haya realizado la limpieza y desinfección de mesones e implementos a utilizar de acuerdo con el procedimiento PROC-TC-031 y la correcta limpieza y desinfección de los materiales, siguiendo las directrices establecidas en los procedimientos PROCTC-026 y PROC-TC-027.

#### 4.1.3 Manejo de la muestra

Para la identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, se siguen las instrucciones dadas en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio. Al tomar de la porción de análisis, la muestra debe estar a temperatura ambiente y correctamente homogeneizada.

#### 4.1.4 Medidas de seguridad

Se deben seguir las siguientes medidas de seguridad antes y durante la realización del servicio: Verificar que el sticker de calibración y mantenimiento de los equipos (Incubadoras, balanzas) se encuentren vigentes y no requiere alguna intervención. Verificar que todos los reactivos preparados en el laboratorio al momento de realizar el

	<p align="center"><b>Procedimiento para el recuento de <i>estafilococos coagulasa positivos</i> según ISO 6888-1</b></p> <p align="center"><b>AOXLAB S.A.S</b></p>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

ensayo o los que se encontraban almacenados se encuentren identificados conforme al formato FOR-TC-024 "Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio" y Verificar que ninguno se encuentre vencido. En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, avisar a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio. Antes de realizar los ensayos, debe tenerse en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar ningún paso. Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC- 015 Reglamento Interno AOXLAB S.A.S, capítulo XIV.

#### 4.2 Patrones y equipos de medición.

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos y componentes clave:

- Balanza gramera con resolución de 0.1 g
- Autoclave
- Vortex
- Transfer pipeta de 1000 µl
- Transfer pipeta de 100 µl
- Baño de agua entre 44 °C y 47 °C
- Cabina flujo laminar
- Incubadoras ajustadas a 35 °C ± 1 °C, 36 °C ± 2 °C o 37 °C ± 1 °C.
- Stomacher
- Diluctor gravimétrico con resolución de 0.1
- pH-metro con lectura mínima de 0,01 unidades de pH y precisión de ±0,1

#### 4.3 Materiales y consumibles

- Puntas para transfer pipeta de 1000 µL
- Puntas para transfer pipeta de 100 µL
- Bolsas whirl pak estériles
- Tubos de ensayo taparosca
- Gradillas
- Cajas de Petri plásticas estériles de 90 a 100 mm
- Asa de aro de 10µl estériles
- Asa de Spreaders  
en L de vidrio, metálica o desechable
- Probeta de 250 mL

Material debidamente lavado, secado y esterilizado (**Ver PROC-TC 026 y 027**)

#### 4.4 Reactivos y/o soluciones:

- Agua peptona de 1000 mL

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de <i>estafilococos</i> coagulasa positivos según ISO 6888-1  AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

- Agua peptona de 9 mL
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) de 9 mL
- Agua Tampona de 1000 mL
- Agar base Baird Parker
- Agar Plate Count
- Solución yema de huevo con telurito
- Viales test coagulasa liofilizado
- Placas preparadas de agar sangre

#### 4.5 Preparación de soluciones de trabajo

<b>Solución</b>	<b>Cantidad reactivo</b>	<b>Cantidad Diluyente (agua)</b>	<b>Observaciones</b>
Agar base Baird Parker (BPA) 7,2 ± 0,2 a 25 °C	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar 15 a 20 ml por cada caja de Petri.
Agar plate Count pH final: 7.0 ± 0.2 a 25 °C	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar 15 a 20 ml por cada caja de Petri.
Agua peptona	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar en frasco Schoot de 1000 mL
Agua Tampona	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar en frasco Schoot de 1000 mL
Tubos tapa rosca de Agua peptona	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Dispensar en tubos de volumen de 9 mL
Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI)	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Dispensar en tubos de volumen de 9 mL


<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de <i>estafilococos coagulasa positivos</i> según ISO 6888-1</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
	<b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

Solución Preparada de telurito potásico	Telurito potásico (K <sub>2</sub> TeO <sub>3</sub> ) (CAS 7790-58-1): 1,0 g	Agua: 100 ml	Disolver el telurito potásico en agua con mínimo calentamiento. Si hay material blanco insoluble, desechar. Esterilizar por filtración (0,2 µm), almacenar a 5 °C por hasta un mes y desechar si aparece precipitado.
Solución Preparada Emulsión de yema de huevo (Concentración aproximada del 20 %, por ejemplo, 200 ml/l, o según instrucciones del fabricante)	Usar huevos frescos con cáscara intacta, limpiar con detergente, enjuagar y desinfectar con etanol al 70 % durante 30 s; secar al aire o flamear. Romper asépticamente, separar la yema y mezclar con cuatro veces su volumen en agua estéril. Calentar a 44–47 °C por 2 h, reposar 18–24 h a 5 °C, recolectar el sobrenadante y almacenar a 5 °C hasta por 72 h.		
Viales Plasma de conejo liofilizado con EDTA (Test coagulasa)	Reconstituir un vial añadiendo 4 mL de agua destilada estéril, solución fisiológica estéril o según las especificaciones del fabricante. Antes de su uso, se debe verificar cada lote de plasma realizando un control de calidad: en un tubo estéril, mezclar 0,5 mL de plasma con una colonia de la cepa control positiva. Repetir el procedimiento en otro tubo utilizando una cepa control negativa. Puede almacenar hasta 72 horas el vial reconstituido.		

Reactivos previamente preparados y esterilizados de acuerdo con **PROC-TC-206** “**Procedimiento de preparación de soluciones y medios de cultivo**, registrado y loteado según el **FOR-TC 045**”.

#### 4.6 Preparación de la suspensión inicial:

- Pesar 10 g o medir 10 mL de la muestra.
- Transferir la muestra a una bolsa estéril o frasco con 90 mL de diluyente, utilizando agua peptonada estéril.
- Homogeneizar durante 1 minuto (por agitación manual o stomacher).

	<p align="center"> <b>Procedimiento para el recuento de  <i>estafilococos coagulasa positivos</i> según ISO          6888-1</b> </p> <p align="center"> <b>AOXLAB S.A.S</b> </p>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

**Nota:** En caso de que sea necesario detectar patógenos adicionales, se puede utilizar una suspensión de 25 g de muestra en 225 mL de agua peptona estéril.

#### 4.7 Diluciones decimales seriadas

- Tomar 1 mL de la suspensión inicial ( $10^{-1}$ ) y transferir a un tubo con 9 mL de diluyente estéril para obtener la dilución  $10^{-2}$ .
- Repetir el proceso para obtener diluciones sucesivas ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , etc.).
- En cada dilución, se recomienda emplear una nueva punta estéril y homogeneizar la mezcla mediante agitación en vórtex.

#### 4.8 Siembra en agar Baird-Parker (BPA)

- Sembrar 0,1 mL de cada dilución sobre la superficie de placas con BPA.
- Extender con asa hockey estéril en toda la superficie.
- Dejar secar las placas con la tapa puesta durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Incubar las placas invertidas a  $34-38\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ .
- Si es necesario, reincubar hasta  $48\text{ h} \pm 4\text{ h}$  para observar mejor las colonias.

#### 4.9 Recuento de colonias

- Seleccionar placas con 20 a 200 colonias típicas o atípicas.
- Identificar:
  - Colonias típicas: negras o grises, brillantes, convexas, con halo claro.
  - Colonias atípicas: negras sin halo, grises sin halo.
- Contar y registrar el número de colonias por tipo.

##### 4.9.1 Confirmación de colonias

###### Prueba en tubo:

- Tomar un inóculo de cada colonia seleccionada con un asa estéril y transferirlo a un tubo con caldo cerebro-corazón (BHI).
- Sembrar en un medio no selectivo (agar sangre o agar nutritivo) e incubar a  $34-38\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$  para verificar la pureza de la colonia.
- Incubar el caldo BHI a  $34-38\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ .
- Añadir 0,1 mL de cada cultivo a 0,3 mL de plasma de conejo en tubos estériles e incubar a  $34-38\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- Observar la coagulación del plasma después de  $5\text{ h} \pm 1\text{ h}$ . Si es negativo, reexaminar después de  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ .


	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>



Imagen 1. Test coagulasa

## 5. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

### 5.1 Caso General

Seleccione las cajas que contengan entre 20 y 200 colonias, ya sean típicas, atípicas o una combinación de ambas, en dos diluciones sucesivas. Esta selección debe realizarse considerando los resultados de la prueba de coagulasa, según las siguientes opciones:

1. Seleccionar de 3 a 5 colonias típicas si solo hay
2. Seleccionar de 3 a 5 colonias atípicas si solo hay
3. Selecciones de 3 a 5 colonias típicas y de 3 a 5 colonias atípicas, si están presentes en ambas de cada caja.

**Nota:** Las colonias típicas son negras o grises, brillantes y convexas (de 1 mm a 1,5 mm de diámetro después de 24 h de incubación y 1,5 mm a 2,5 mm de diámetro después de 48 h de incubación) y rodeadas por una zona clara (halo) que puede ser parcialmente opaca. Después de por lo menos 24 h de incubación puede aparecer en esta zona clara, un halo opalescente, inmediatamente en contacto con las colonias.

Las colonias atípicas pueden presentar una de las siguientes morfologías: a) colonias negras brillantes con o sin un estrecho borde blanco; la zona clara está ausente o ligeramente visible y el halo opalescente está ausente o es apenas visible; b) colonias grises sin zonas claras.

Teniendo en cuenta esta identificación realizar el cálculo para estos casos especiales:

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b>	<b>Identificación: PROC-TC-232</b>
	<b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia: 2025-06-27</b>

$$a = \frac{b_c}{A_c} \times c_c + \frac{b_{nc}}{A_{nc}} \times c_{nc}$$

En donde:

**AC=** es el número de colonias típicas sometidas a la prueba de la coagulasa

**Anc** = es el número de colonias atípicas sometidas a la prueba de la coagulasa

**bc** = es el número de colonias típicas positivas para la prueba de la coagulasa

**bnc** = es el número de colonias atípicas positivas para la prueba de la coagulasa

**cc** = es el número total de colonias típicas vistas en la caja

**cnc** = es el número total de colonias atípicas vistas en la caja

**Se redondea el resultado con dos cifras significativas**

Cálculo del número N de estafilococos coagulasa-positiva presentes en la porción de muestra:

Se calcula, como un promedio ponderado de dos diluciones sucesivas, el número **N** de estafilococos coagulasa-positiva presentes en la porción de muestra, usando la siguiente ecuación:

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

**Σa**= es la suma de colonias de estafilococos coagulasa-positiva en todas las cajas seleccionadas;

**V**= es el volumen del inóculo de cada caja, que corresponde a 0,1 mL

**n1**= es el número de cajas seleccionadas de la primera dilución;

**n2**= es el número de cajas seleccionadas de la segunda dilución;

**d**= es el factor de dilución correspondiente a la primera dilución seleccionada (la suspensión inicial es una dilución).

Se redondea el resultado con dos cifras significativas

- Se reporta el resultado como el número de estafilococos coagulasa-positiva por mililitro (productos líquidos) o por gramo (otros productos), expresado como un número entre 1,0 y 9,9 inclusive multiplicado por 10<sup>x</sup> donde x es la apropiada potencia de 10.

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

- Ausencia de colonias, expresar el resultado como: estafilococos coagulasa-positiva <100ufc/g ó mL

### Ejemplo:

El recuento para productos después de incubación con 0,1 mL de producto dio los siguientes resultados:

- Para la primera dilución ( $10^{-2}$ ): 65 colonias típicas y 85 colonias atípicas;
- Para la primera dilución ( $10^{-3}$ ): 3 colonias típicas y 7 colonias atípicas;

Se obtiene los siguientes números:

- De 65 colonias, 5 colonas fueron seleccionadas y todas las 5 fueron coagulasas positivas, dando  $a=65$ ;
- De 85 colonias, 5 colonas fueron seleccionadas y 3 todas fueron coagulasas positivas, dando  $a=51$ ;
- De 3 colonias, todas las 3 fueron coagulasas positivas, dando  $a=3$ ;
- De 7 colonias, 5 colonias fueron seleccionadas y todas las 5 fueron coagulasas positivas, dando  $a=7$

$$N = \frac{65+51+3+7}{0,22 \times 10^{-2}} = 57272$$

El resultado, redondeado es  $5,7 \times 10^4$ .

### 5.2 Estimación de recuentos bajos

Si la muestra contiene menos de 20 colonias identificadas, se reportan los resultados como sigue:


**a)** Para productos líquidos o suspensión inicial, se calcula  $N_e$  de estafilococos coagulasa-positiva por mililitro:

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

$\Sigma a$ = sumatoria de colonias identificadas de etafilococos coagulasa possitiva en las dos cajas seleccionadas.

$V$ = es el volumen del inóculo de cada caja.

**b)** Para otros productos, se calcula  $N_e$  de estafilococos coagulasa- positiva por gramo:

	<p align="center"> <b>Procedimiento para el recuento de  <i>estafilococos</i> coagulasa positivos según ISO          6888-1</b> </p> <p align="center"> <b>AOXLAB S.A.S</b> </p>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

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

**Σa**= sumatoria de colonias identificadas de *estafilococos* coagulasa positiva en las dos cajas seleccionadas.

**V**= es el volumen del inóculo de cada caja.


**d**= es el factor de dilución correspondiente a la primera dilución seleccionada

si las dos cajas de la suspensión inicial no contienen colonias de *estafilococos* coagulasa positiva:

- Para productos líquidos se reporta menos de 10 UFC/mL
- Otros productos: se reporta  $<10/d$  UFC/g donde **d** es el factor de dilución de la suspensión inicial.

## 6. Aseguramiento de la calidad

Para asegurar y controlar la validez de los resultados, por cada lote nuevo del agar se debe realizar una prueba ecométrica, adicional por cada lote interno de agar preparado se debe realizar un control positivo con Suspensión de ***Staphylococcus aureus*** ATCC 25923 y un control negativo usando suspensión de ***Escherichia coli*** ATCC 25922, se debe realizar un control positivo a una muestra adicionada con Suspensión de ***Bacillus cereus*** ATCC 10876 cada semana en una matriz diferente. Así mismo, para cada lote de agar o caldo preparado se debe realizar control de esterilidad poniéndolos a incubar sin inocular, también se puede realizar como control negativo o blanco una siembra por superficie del caldo empleado en el agar a usar.

	<b>Procedimiento para el recuento de estafilococos coagulasa positivos según ISO 6888-1</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

## 7 RESPONSABILIDADES.

### 7.1 Director técnico

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Revisar y aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.
- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.
- Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
- Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.

### 7.2 Líder de Calidad


- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Realizar y registrar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método.
- Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.

### 7.3 Líder de Laboratorio

- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
- Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis (Cuadros de mando, formato de solicitud de servicio y salvaguardia de muestras, formatos de datos primarios) antes de enviar el informe final al director técnico.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al director técnico las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder de calidad y al director técnico.
- Informar los casos en los que se deben de retener las muestras.
- Supervisar el cumplimiento de las actividades de aseguramiento de calidad.

### 7.4 Analista

- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio
- Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.

	<p align="center"><b>Procedimiento para el recuento de <i>estafilococos</i> coagulasa positivos según ISO 6888-1</b></p> <p align="center"><b>AOXLAB S.A.S</b></p>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-232</b>
		<b>Revisión: 1</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-06-27</b>

- Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
- Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
- Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.
- Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.
- Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

## 8. FORMATOS RELACIONADOS

FOR-TC-024 "Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio"

FOR-TC-075 "Formato para el registro de datos primarios de análisis microbiológicos"

SOFT-TC-027 V5 "Cuadro de mando para ensayos microbiológicos por recuento V5"

FOR-TC-045 "Formato para el registro de información y asignación de lote de las soluciones preparadas para uso en los ensayos"

## 9. ANEXOS

N.A