

Microbiología de la cadena alimentaria
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la
detección y cuantificación de microorganismos
Requisitos generales y definiciones
(ISO 22174:2024)

Esta norma ha sido elaborada por el comité técnico
CTN-UNE 34 *Productos alimentarios*, cuya secretaría
desempeña FIAB.

EXTRACTO DEL DOCUMENTO UNE-EN ISO 22174

UNE-EN ISO 22174

Microbiología de la cadena alimentaria
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección y cuantificación de
microorganismos
Requisitos generales y definiciones
(ISO 22174:2024)

Microbiology of the food chain. Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of microorganisms. General requirements and definitions (ISO 22174:2024).

Microbiologie de la chaîne alimentaire. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche et la quantification de micro-organismes. Exigences générales et définitions (ISO 22174:2024).

Esta norma es la versión oficial, en español, de la Norma Europea EN ISO 22174:2024, que a su vez adopta la Norma Internacional ISO 22174:2024.

Esta norma anula y sustituye a las Normas UNE-EN ISO 22174:2005, UNE-EN ISO 20837:2007, UNE-EN ISO 20838:2007 y UNE-EN ISO 22119:2011.

EXTRACTO DEL DOCUMENTO UNE-EN ISO 22174

Las observaciones a este documento han de dirigirse a:

Asociación Española de Normalización

Génova, 6
28004 MADRID-España
Tel.: 915 294 900
info@une.org
www.une.org

© UNE 2025

Prohibida la reproducción sin el consentimiento de UNE.

Todos los derechos de propiedad intelectual de la presente norma son titularidad de UNE.

Índice

Prólogo europeo	6
Declaración.....	6
Prólogo	7
1 Objeto y campo de aplicación.....	8
2 Normas para consulta	8
3 Términos y definiciones.....	8
3.1 Términos generales.....	9
3.2 Términos relacionados con la extracción y purificación de ADN/ARN	10
3.3 Términos relacionados con la transcripción inversa de ARN a ADN.....	11
3.4 Términos relativos a la amplificación de ADN mediante PCR/RT-PCR	11
3.5 Términos relativos a controles	12
3.6 Términos relacionados con la qPCR.....	13
3.7 Términos relativos a la dPCR	14
4 Principio	16
4.1 Generalidades.....	16
4.2 Muestra de laboratorio	16
4.3 Muestreo, transporte y almacenamiento.....	16
4.4 Preparación de la muestra para análisis	17
5 Enriquecimiento microbiano y concentración de virus.....	17
5.1 Enriquecimiento microbiano	17
5.2 Concentración de virus.....	17
6 Preparación de ácidos nucleicos.....	17
6.1 Generalidades.....	17
6.2 Prevención de la amplificación de ADN de células muertas.....	18
6.3 Extracción de ácidos nucleicos, liberación y purificación	18
6.4 Calidad y cantidad de los ácidos nucleicos.....	18
7 Amplificación mediante PCR.....	19
8 Detección y confirmación de amplicones	20
9 Requerimientos generales ambientales del laboratorio	20
9.1 Generalidades.....	20
9.2 Organización del laboratorio	21
9.2.1 Generalidades.....	21
9.2.2 Control de flujos.....	22
9.2.3 Limpieza de laboratorio.....	23
9.2.4 Monitorización ambiental de la contaminación con ácidos nucleicos.....	23
10 Reactivos y material fungible.....	23
11 Equipos.....	24
12 Procedimiento	25
12.1 Enriquecimiento y tratamiento de muestra	25
12.2 Amplificación	26
12.2.1 Generalidades.....	26
12.2.2 Controles de reacción	26

12.2.3	Detección del amplicón	28
12.2.4	Análisis de datos	29
12.3	Evaluación.....	30
12.3.1	Evaluación cualitativa.....	30
12.3.2	Evaluación cuantitativa.....	31
12.4	Informe de análisis	32
13	Características de rendimiento de métodos basados en PCR	32
14	Validación y verificación de métodos basados en PCR	33
14.1	Generalidades.....	33
14.2	Validación.....	33
14.3	Verificación.....	33
Anexo A (Informativo)	Señales fluorescentes y curva de amplificación	35
Bibliografía		38

Prólogo europeo

Esta Norma EN ISO 22174:2024 ha sido elaborada por el Comité Técnico ISO/TC 34 *Productos alimenticios*, en colaboración con el Comité Técnico CEN/TC 463 *Microbiología de la cadena alimentaria*, cuya Secretaría desempeña AFNOR.

Esta norma europea debe recibir el rango de norma nacional mediante la publicación de un texto idéntico a ella o mediante ratificación antes de finales de marzo de 2025, y todas las normas nacionales técnicamente divergentes deben anularse antes de finales de marzo de 2025.

Se llama la atención sobre la posibilidad de que algunos de los elementos de este documento estén sujetos a derechos de patente. CEN no es responsable de la identificación de dichos derechos de patente.

Esta norma anula y sustituye a las Normas EN ISO 22174:2005, EN ISO 20838:2006, EN ISO 22119:2011 y EN ISO 20837:2006.

Cualquier comentario o pregunta sobre este documento deberían dirigirse al organismo nacional de normalización del usuario. En la web de CEN se puede encontrar un listado completo de estos organismos.

De acuerdo con el Reglamento Interior de CEN/CENELEC, están obligados a adoptar esta norma europea los organismos de normalización de los siguientes países: Alemania, Austria, Bélgica, Bulgaria, Chipre, Croacia, Dinamarca, Eslovaquia, Eslovenia, España, Estonia, Finlandia, Francia, Grecia, Hungría, Irlanda, Islandia, Italia, Letonia, Lituania, Luxemburgo, Malta, Noruega, Países Bajos, Polonia, Portugal, Reino Unido, República Checa, República de Macedonia del Norte, Rumanía, Serbia, Suecia, Suiza y Turquía.

Declaración

El texto de la Norma ISO 22174:2024 ha sido aprobado por CEN como Norma EN ISO 22174:2024 sin ninguna modificación.

Prólogo

ISO (Organización Internacional de Normalización) es una federación mundial de organismos nacionales de normalización (organismos miembros de ISO). El trabajo de elaboración de las Normas Internacionales se lleva a cabo normalmente a través de los comités técnicos de ISO. Cada organismo miembro interesado en una materia para la cual se haya establecido un comité técnico, tiene el derecho de estar representado en dicho comité. Las organizaciones internacionales, gubernamentales y no gubernamentales, vinculadas con ISO, también participan en el trabajo. ISO colabora estrechamente con la Comisión Electrotécnica Internacional (IEC) en todos los temas de normalización electrotécnica.

En la Parte 1 de las Directivas ISO/IEC se describen los procedimientos utilizados para desarrollar este documento y aquellos previstos para su mantenimiento posterior. En particular debería tomarse nota de los diferentes criterios de aprobación necesarios para los distintos tipos de documentos ISO. Este documento ha sido redactado de acuerdo con las reglas editoriales de la Parte 2 de las Directivas ISO/IEC (véase www.iso.org/directives).

ISO llama la atención sobre la posibilidad de que la implementación de este documento pueda conllevar el uso de una o varias patentes. ISO no se posiciona respecto a la evidencia, validez o aplicabilidad de los derechos de patente reivindicados. A la fecha de publicación de este documento, ISO no había recibido notificación de que una o varias patentes pudieran ser necesarias para su implementación. No obstante, se advierte a los usuarios que esta puede no ser la información más reciente, la cual puede obtenerse de la base de datos de patentes disponible en www.iso.org/patents. ISO no será responsable de la identificación de parte o la totalidad de dichos derechos de patente.

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 específicos de ISO y las expresiones relacionadas con la evaluación de la conformidad, así como la información acerca de la adhesión de 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.

Este documento ha sido elaborado por el Comité Técnico ISO/TC 34, *Productos alimenticios*, Subcomité SC 9, *Microbiología*, en colaboración con el Comité Europeo de Normalización (CEN) Comité Técnico CEN/TC 463, *Microbiología de la cadena alimentaria*, conforme al acuerdo de cooperación técnica entre ISO y CEN (Acuerdo de Viena).

Esta segunda edición anula y sustituye a las Normas ISO 22174:2005, ISO 20837:2006, ISO 20838:2006 e ISO 22119:2011, que han sido revisadas técnicamente.

Los cambios principales son los siguientes:

- inclusión de requisitos para la implementación de la PCR digital;
- inclusión de requisitos para el seguimiento de los flujos de laboratorio, incluyendo la monitorización del ambiente para PCR;
- ampliación del apartado 12.2.2 Controles de reacción, con descripciones de los diferentes controles;
- cambio del apartado 12.3 para incluir la evaluación cuantitativa;
- inclusión del capítulo 14 sobre validación y verificación.

Cualquier comentario o pregunta sobre este documento deberían dirigirse al organismo nacional de normalización del usuario. En www.iso.org/members.html se puede encontrar un listado completo de estos organismos.

1 Objeto y campo de aplicación

Este documento especifica los requisitos generales para la amplificación *in vitro* de secuencias de ácido nucleico (ADN o ARN).

Este documento es aplicable al análisis de microorganismos y virus de la cadena alimentaria utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Este documento, o partes del mismo, es aplicable a otros campos del diagnóstico por PCR basándose en una evaluación caso por caso.

Los requisitos mínimos declarados en este documento están destinados a garantizar que los resultados obtenidos en diferentes laboratorios sean comparables y reproducibles.

Este documento ha sido concebido para microorganismos de la cadena alimentaria y es aplicable a:

- productos destinados al consumo humano;
- productos destinados a la alimentación animal;
- muestras ambientales recogidas del área de producción y manipulación de alimentos y piensos; y
- muestras recogidas de las etapas de producción primaria.

2 Normas para consulta

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. Para las referencias con fecha, solo se aplica la edición citada. Para las referencias sin fecha se aplica la última edición (incluida cualquier modificación de esta).

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 la cadena alimentaria. Requisitos generales y guía para análisis microbiológicos.*

ISO 20836, *Microbiología de la cadena alimentaria. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de microorganismos. Ensayos de rendimiento térmico de termocicladores.*