



## Microbiología de la cadena alimentaria

Método horizontal para la detección de virus de la hepatitis A y norovirus en alimentos utilizando RT-PCR en tiempo real

Parte 1: Método para la determinación cuantitativa  
(ISO 15216-1:2017)

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

### **EXTRACTO DEL DOCUMENTO UNE-EN ISO 15216-1**



UNE-EN ISO 15216-1

Microbiología de la cadena alimentaria  
Método horizontal para la detección de virus de la hepatitis A y norovirus en  
alimentos utilizando RT-PCR en tiempo real  
Parte 1: Método para la determinación cuantitativa  
(ISO 15216-1:2017)

*Microbiology of the food chain. Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR. Part 1: Method for quantification (ISO 15216-1:2017).*

*Microbiologie dans la chaine alimentaire. Méthode horizontale pour la recherche des virus de l'hépatite A et norovirus par la technique RT-PCR en temps réel. Partie 1: Méthode de quantification (ISO 15216-1:2017).*

Esta norma es la versión oficial, en español, de la Norma Europea EN ISO 15216-1:2017, que a su vez adopta la Norma Internacional ISO 15216-1:2017.

Esta norma anula y sustituye a la Especificación Técnica UNE-CEN ISO/TS 15216-1:2013 (ratificada por la Asociación Española de Normalización).

## **EXTRACTO DEL DOCUMENTO UNE-EN ISO 15216-1**

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  
Depósito legal: M 26320:2017

© UNE 2017  
Publicado por AENOR INTERNACIONAL S.A.U. bajo licencia de la Asociación Española de Normalización.  
Reproducción prohibida



Comprar

## Índice

Prólogo europeo .....	6
Declaración.....	6
Prólogo.....	7
0 introducción .....	8
1 Objeto y campo de aplicación.....	8
2 Normas para consulta .....	9
3 Términos y definiciones.....	9
4 Principio .....	11
4.1 Extracción de virus .....	11
4.2 Extracción de ARN .....	12
4.3 RT-PCR a tiempo real .....	12
4.4 Materiales de control .....	12
4.4.1 Virus de control del proceso.....	12
4.4.2 ADN de doble cadena (dsDNA; double-stranded DNA) de control.....	13
4.4.3 EC-RNA de control .....	13
4.5 Resultados del análisis .....	13
5 Reactivos.....	13
5.1 Generalidades.....	13
5.2 Reactivos utilizados tal como se suministran .....	13
5.3 Reactivos preparados .....	15
6 Equipamiento y material fungible.....	16
7 Toma de muestras.....	18
8 Procedimiento .....	18
8.1 Requisitos generales del laboratorio .....	18
8.2 Extracción de virus .....	18
8.2.1 Preparación del virus de control del proceso .....	18
8.2.2 Control negativo del proceso .....	19
8.2.3 Superficies alimentarias .....	19
8.2.4 Frutas blandas, hojas, tallos y bulbos de vegetales.....	19
8.2.5 Agua embotellada.....	20
8.2.6 Moluscos bivalvos marinos.....	21
8.3 Extracción del ARN.....	22
8.4 RT-PCR a tiempo real .....	22
8.4.1 Requisitos generales .....	22
8.4.2 Análisis mediante RT-PCR a tiempo real .....	23
9 Interpretación de los resultados .....	25
9.1 Generalidades.....	25
9.2 Construcción de las curvas patrón .....	26
9.3 Cálculo de la inhibición de la RT-PCR.....	26
9.4 Cálculo de la eficiencia de extracción.....	27
9.5 Cuantificación de la muestra.....	28
10 Expresión de los resultados.....	29



Comprar

<b>11</b>	<b>Precisión</b> .....	<b>29</b>
<b>11.1</b>	<b>Estudio interlaboratorios</b> .....	<b>29</b>
<b>11.2</b>	<b>Repetibilidad</b> .....	<b>29</b>
<b>11.3</b>	<b>Límite de la reproducibilidad</b> .....	<b>30</b>
<b>12</b>	<b>Informe del análisis</b> .....	<b>30</b>
<b>Anexo A (Normativo)</b>	<b>Diagrama del procedimiento</b> .....	<b>31</b>
<b>Anexo B (Normativo)</b>	<b>Composición y preparación de reactivos y tampones</b> .....	<b>32</b>
<b>Anexo C (Informativo)</b>	<b>Mezclas de reacción para RT-PCR a tiempo real y parámetros de reacción de la PCR</b> .....	<b>35</b>
<b>Anexo D (Informativo)</b>	<b>Cebadores y sondas de hidrólisis para RT-PCR a tiempo real para la detección de HAV, norovirus GI y GII y mengovirus (virus de control del proceso)</b> .....	<b>36</b>
<b>Anexo E (Informativo)</b>	<b>Crecimiento de la cepa MC0 de mengovirus para su uso como virus de control del proceso</b> .....	<b>39</b>
<b>Anexo F (Informativo)</b>	<b>Extracción de ARN utilizando el sistema NucliSENS®</b> .....	<b>40</b>
<b>Anexo G (Informativo)</b>	<b>Generación de las preparaciones concentradas de dsDNA de control</b> .....	<b>42</b>
<b>Anexo H (Informativo)</b>	<b>Generación de las preparaciones concentradas de EC-RNA</b> .....	<b>45</b>
<b>Anexo I (Informativo)</b>	<b>Diseño típico de una placa óptica</b> .....	<b>47</b>
<b>Anexo J (Informativo)</b>	<b>Estudios de validación del método y características de funcionamiento</b> .....	<b>49</b>
	<b>Bibliografía</b> .....	<b>60</b>

## **1 Objeto y campo de aplicación**

Este documento describe un método de cuantificación de los niveles de ARN de HAV y de los norovirus de los genogrupos I (GI) y II (GII), a partir de muestras para análisis de productos alimenticios (frutas blandas, hojas, tallos y bulbos de vegetales, agua embotellada, BMS) o de superficies alimentarias. Tras la recuperación de los virus a partir de las muestras para análisis, el ARN viral se extrae mediante lisis con tiocianato de guanidina y adsorción sobre partículas de sílice. Las secuencias diana del ARN viral se amplifican y se detectan mediante RT-PCR a tiempo real.

Este método no se ha validado para la detección de los virus objeto de estudio en otros productos alimenticios (incluidos los productos alimenticios consistentes en múltiples componentes), ni para matrices diferentes, ni para la detección de otros virus en los productos alimenticios, en las superficies alimentarias ni en otras matrices diferentes.



Comprar

## 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 7218, *Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Requisitos generales y guía para el examen microbiológico.*

ISO 20838, *Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de patógenos en los alimentos. Requisitos para la amplificación y la detección para los métodos cualitativos.*

ISO 22119, *Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para la detección de patógenos en los alimentos. Requisitos generales y definiciones.*

ISO 22174, *Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de patógenos en los alimentos. Requisitos generales y definiciones.*