

Requisitos generales para análisis microbiológico.

Contenido y principales cambios de la norma UNE-EN:ISO 7218:2025

Centro Nacional de Alimentación

**JORNADAS DE REFERENCIA
10 JUNIO 2025**

AGENDA

- INTRODUCCIÓN Y ALCANCE
- CONTENIDOS
- OBJETIVOS
 - Clarificar, simplificar y armonizar
 - Nuevas tecnologías
 - Reforzar control de procesos
 - Mejora fiabilidad resultados

EVOLUCIÓN DE LA NORMA ISO 7218

1985

1996

2001

2007

2013

2019

2023

2024

ISO 7218: 1885 Microbiology
- General guidelines for
microbiological
examinations

ISO 7218: 1996 Microbiology
of food - General rules for
microbiological
examinations

ISO 7218: 1996
/ Amd 1: 2001

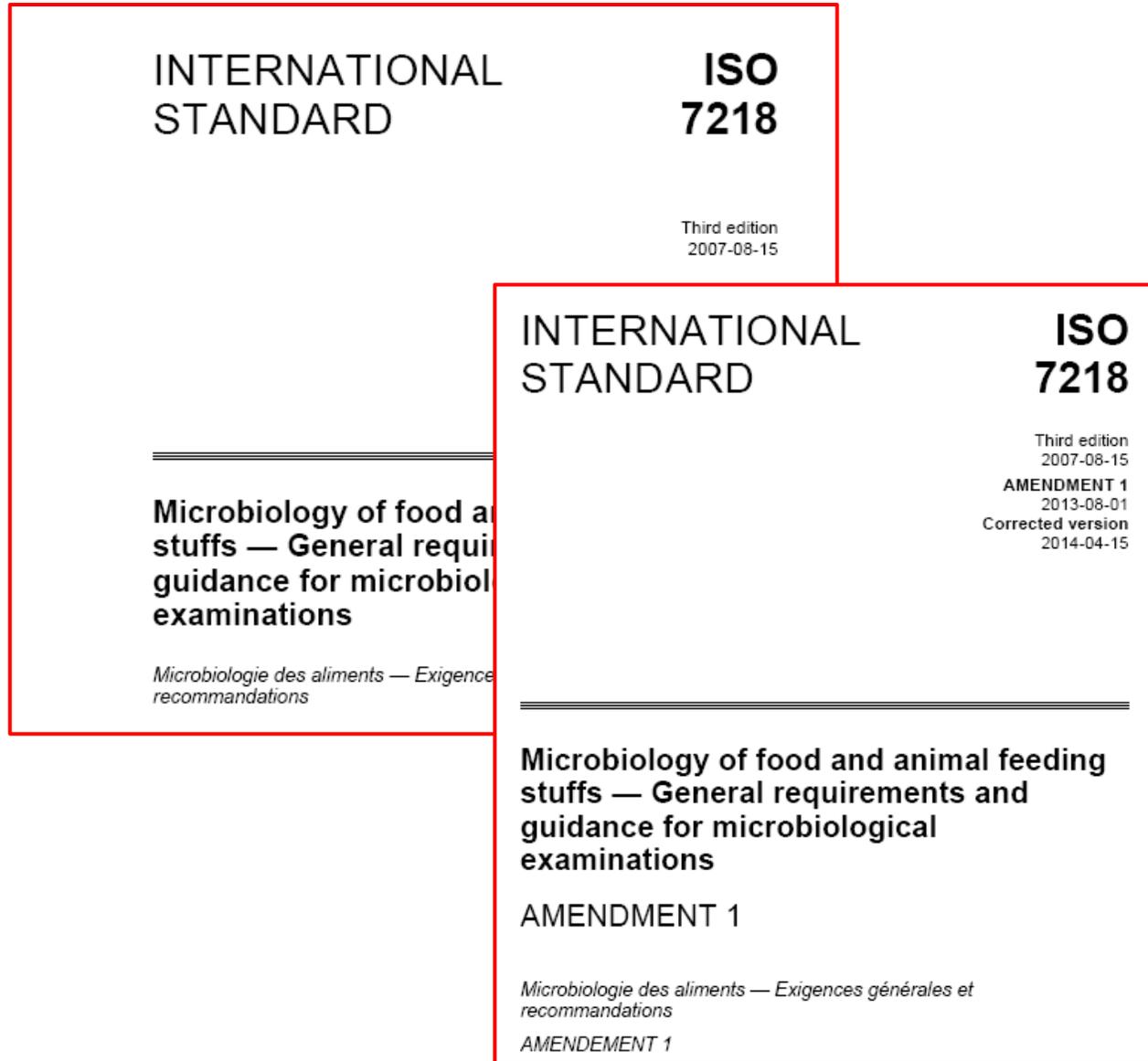
ISO 7218: 2007 Food microbiology - General
requirements and recommendations for
microbiological examinations

ISO 7218: 2007 / Amd 1: 2013

4th edition
ISO 7218
Microbiology of the
food chain -
General
requirements and
recommendations
for microbiological
examinations

◆ Draft standard ◆ DIS ◆ Meadow FDIS ◆ FDIS ◆

EVOLUCIÓN DE LA NORMA ISO 7218



INTRODUCCIÓN

ISO 7218:2007 & AMD. 1:2013

Al objeto de distinguir los requisitos de las recomendaciones, se elabora el texto en un tipo diferente de letra (Times New Roman).

If the ambient temperature is close to or higher than that of the incubator, it is necessary to fit a cooling system to the chamber.

The walls of incubators should be protected from sunlight.

ISO 7218:2024

En este documento, se emplean la siguientes formas verbales:

- “debe” indica un requisito;
- “debería” indica una recomendación;
- “puede” indica un permiso, una posibilidad o una capacidad.

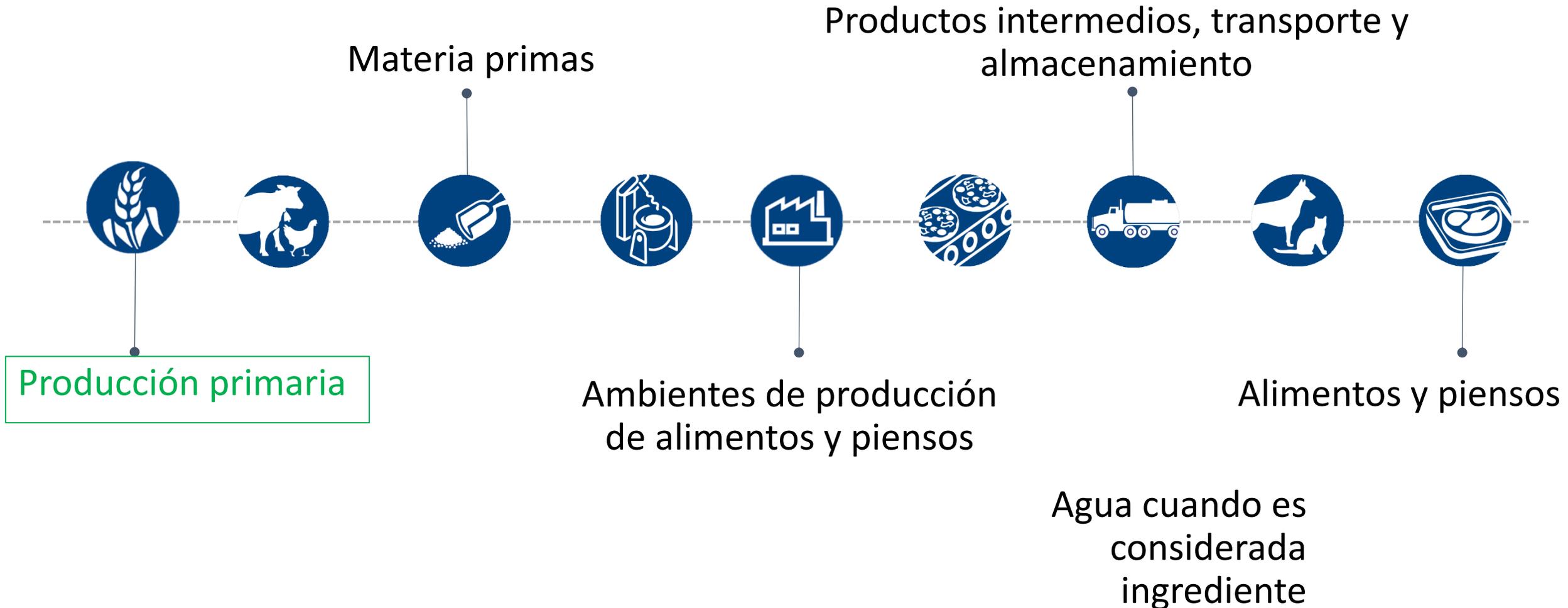
Además, se utiliza la forma impersonal (ejm. se realizan, se calibran...) para dar instrucciones o cuando las se requierense requieren acciones específicas son un requisito

If the ambient temperature is close to or higher than that required for incubation, it is necessary to use an incubator fitted with a cooling system.

Protect incubators from direct sunlight to minimize heat gain.

ALCANCE

MICROBIOLOGÍA DE LA CADENA ALIMENTARIA



CAMPO DE APLICACIÓN

Aplicable a:

- Implementación de normas internacionales horizontales o verticales para el análisis microbiológicos de la cadena alimentaria y productos lácteos.

Los requisitos de esta norma general sustituyen los correspondientes en las normas específicas existentes.

- Buenas prácticas para laboratorios de microbiología de alimentos.
- Orientación para implementación de requisitos técnicos contemplados en la norma ISO/IEC 17025.

CONTENIDOS



Términos y definiciones



Instalaciones



Personal



Equipos y consumibles



Esterilización/descontaminación



Medios de cultivo y reactivos



Muestras de laboratorio



Análisis



Métodos de recuento



Métodos de detección



Confirmación e identificación



Microorganismos control



Informe de análisis



Control calidad en microbiología



Validación y verificación

CONTENIDOS

ANEXOS



Desinfectantes



Intervalos de confianza en recuento de colonias



Ensayos de confirmación

REFERENCIAS A OTRAS NORMAS

Normas a las que hace referencia el documento (pero no están incluidas en normas para consulta).

- ISO 11133: Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo.
- ISO 22174: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección y cuantificación de microorganismos. Requisitos generales y definiciones.
- ISO 6887 series: Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para examen microbiológico.
- ISO 16140 series: Validación de métodos.
- ISO 19036: Estimación de la incertidumbre

Principales objetivos de la nueva versión

**CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR**

**MEJORAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

**REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS**

**INTEGRAR NUEVAS
TECNOLOGÍAS**

Principales objetivos

**CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR**

Definiciones

Referencias a otras
normas

Simplificar controles,
temperaturas, procesos

Simplificar cálculos

Definiciones

**CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR**

- Cepas (diana, de referencia, de laboratorio, flora interfiriente)
- Veracidad, resolución, incertidumbre, calibración, verificación.
- Contaminación cruzada
- Control de proceso

Harmonización de temperaturas



Productos	ISO 7218:2007	ISO 7218:2024	ISO 7218:2007	ISO 7218:2024
Estables	Temperatura ambiente (<40°C)	Temperatura ambiente (18 a 27°C)	Temperatura ambiente (18 a 27°C)	Temperatura ambiente (18 a 27°C)
Congelados	< -15°C (preferible < -18°C)	< -15°C (preferible < -18°C)	< -15°C (preferible < -18°C)	< -15°C (preferible < -18°C)
No estable a temperatura ambiente	De 1°C a 8°C	5°C ± 3°C	3°C ± 2°C	5°C ± 3°C
Muestras ambientales	Ver 18593 y 17604	De 1°C a 8°C (Ver 18593 y 17604)	Ver 18593 y 17604	De 1°C a 8°C (Ver 18593 y 17604)

Salvo que se indique lo contrario en la norma específica

Clarificar

- Incluir en los certificados de análisis la versión (año de publicación) de la norma en vigor.

Simplificación de controles

- Los medios de cultivo listos para su uso que hayan sido analizados por el proveedor de acuerdo con la Norma ISO 11133, pueden necesitar solo algunos análisis por parte del laboratorio usuario si se cumplen las condiciones de transporte y almacenamiento (véase la Norma ISO 11133).

Simplificación de procesos

- **Aumentar sensibilidad mediante volumen de inóculo para recuentos:**

En el caso de niveles bajos esperados puede ser aumentar el volumen del inóculo utilizado en la siembra en profundidad (pero manteniendo la proporción muestra/media de cultivo).

- **Reducir las diluciones (ahorro un tubo):**

También se considera como “diluciones consecutivas” la utilización de la suspensión inicial en diferentes volúmenes (ejm. 1 ml y 0,1 ml).

Simplificar fórmulas

CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR

$$N = \frac{\Sigma C}{V \times [n_1 + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

- ΣC es la suma de las colonias contadas en todas las placas escogidas de una o dos diluciones consecutivas;
- V es el volumen de inóculo utilizado en cada placa de Petri, en ml;
- n_1 es el número de placas escogidas de la primera dilución;
- n_2 es el número de placas escogidas de la segunda dilución ($n_2 = 0$ si no se realiza);
- d es la dilución correspondiente a la primera dilución escogida ($d = 1$ para un producto líquido sin diluir).

Simplificar resultados

**CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR**

El recuento final (N) debería expresarse como un número comprendido entre 1,0 y 9,9 veces la potencia apropiada de 10, o un número entero con dos cifras significativas.

CORRECTO

- $N = 17,000 \text{ ufc/g}$
- $N = 1,7 \times 10^4 \text{ ufc/g}$
- $N = 240 \text{ ufc/g}$

INCORRECTO

- $N = 16,540 \text{ ufc/g}$
- $N = 1,65 \times 10^4 \text{ ufc/g}$
- $N = 243 \text{ ufc/g}$

Simplificación cálculos

- Se mantienen los criterios anteriores para recuentos y valores estimados.
- En el caso de bajos recuentos, si el resultado total se encuentra entre 1 y 3 colonias, el resultado debe expresarse como **inferior a 4/Vd por gramo o ml (ya no se incluye como necesaria la expresión: “Hay microorganismos presentes, pero a un nivel inferior a 4/Vd por gramo o ml”)**.

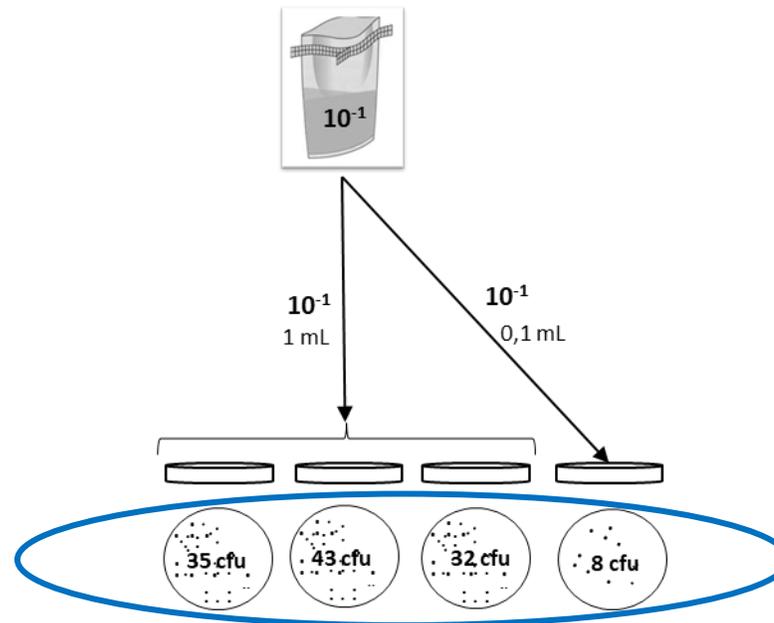
If all Petri dishes contain more than the maximum number of total colonies stated in the specific standard and presumptive colonies are present but not confirmed in all Petri dishes, results are not conclusive and shall not be reported.

Simplificar fórmula

CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR

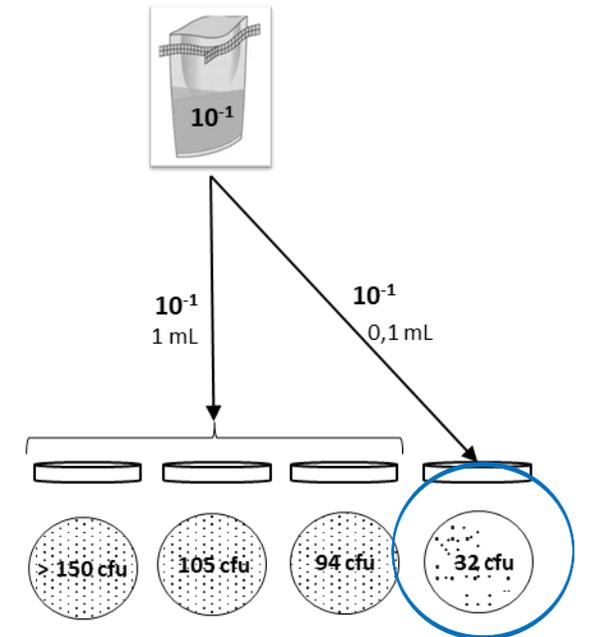
Bajada límite cuantificación

$$N = \frac{\sum C}{V_{\text{set}} \times [n_1 + (0,1 \times n_2)] \times d}$$



$$N = \frac{(35+43+32)+8}{1 \times [1 + (0,1 \times 1)] \times 10^{-1}} = 1\ 073$$

$$N = 1,1 \times 10^3 \text{ cfu/g}$$



$$N = \frac{32}{0,1 \times [1] \times 10^{-1}} = 3\ 200$$

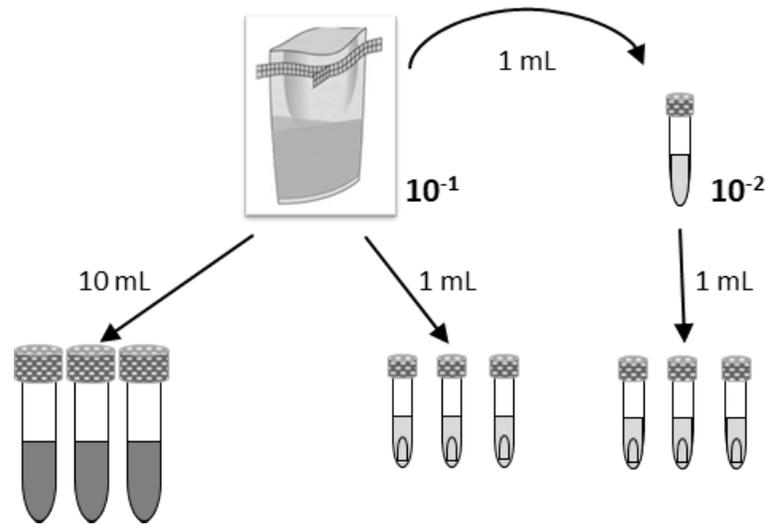
$$N = 3,2 \times 10^3 \text{ cfu/g}$$

Simplificar cálculos

DATA									
Initial suspension : 1/		10							
Volume/Petri dish [mL]		1							
Dilution	Number of colonies		Colonies to confirm		Confirmed colonies		Final number of colonies		
	Plate A	Plate B	Plate A	Plate B	Plate A	Plate B	Plate A	Plate B	
-1	>150								
-2									
RESULTS									
Number of CFU/g or mL:		> 1,5E+03							
Is the difference in counts between plates used in parallel at the first dilution acceptable?							NOT APPLICABLE		
Is the difference in counts between plates used in parallel at the second dilution acceptable?							NOT APPLICABLE		
Is the difference in counts between dilutions acceptable?					NOT APPLICABLE				
INSTRUCTIONS									

Simplificar cálculos

CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR



Rarity categories:

1: Result likely to occur 95 % of occasions

2: Result likely to occur < 5 % of occasions

3: Result likely to occur < 1 % of occasions

If MPN calculator highlights Category 3, ~~should not be reported~~ **do not report the associated MPN value.**

MPN calculation program, version 5, dated 2017-01-09, for calculating most probable numbers, their standard deviations, confidence bounds and rarity values.

Calculate Results

More information can be found in the following sheets 'Equations & Info' and 'Examples'. For details see: B. Jarvis, C. Wilrich and P.-T. Wilrich, Journal of Applied Microbiology 109, 2010, 1660-1667.

Print Tables color

This Excel program is distributed in the hope that it will be useful, but without any warranty. It can be downloaded at: www.wiwiss.fu-berlin.de/fachbereich/vwl/iso/ehemalige/wilrich/index.html.

There you have also the possibility to subscribe to a newsletter informing about updates of the program. For assistance contact: wilrich@wiwiss.fu-berlin.de.

Print Tables b/w

General data and data for generating the input tables

Name of experiment	Date of experiment	No. of test series	Max. no. of dilutions

Note: A test series / matrix consists of the different dilutions for one target organism / test medium.

How to use this program (Macros have to be enabled):

1. Enter the no. of test series (up to 30) and the max. no. of dilutions (up to 30) per test series into the yellow table.
 - The tables for your input data will be generated automatically below.
2. Enter your data into the yellow cells of the input tables generated according to step 1.
3. Press 'Ctrl+m' to start the calculation or use the button 'Calculate Results'.
 - The results will be shown below in a green table (with two significant decimals in columns 8 to 12).
4. You can change the no. of test series or dilutions in row 7 at any time (and preserve data you entered before).
5. You can also change the data in the input tables at any time.
 - Changes of the input data cause the results table to be deleted but you can re-calculate as per step 3 at any time.
6. You can print the tables (with a dynamically adjusted print area) using the buttons 'Print Tables'.

Principales objetivos

CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR

REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS

REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS

**INTEGRAR NUEVAS
TECNOLOGÍAS**

Confirmación de colonias

**INTEGRAR NUEVAS
TECNOLOGÍAS**

APLICACIONES

- Confirmación de colonias sospechosas
- Caracterización molecular de aislados
- Identificación de aislados

TECNOLOGIAS

- Hibridación y amplificación molecular.
- Secuenciación.
- Espectrometría de masas

Confirmación de colonias

Cualquier método alternativo utilizado se debe basar en un principio de medición diferente (por ejemplo, análisis de ADN, proteínas, inmunológico o bioquímico) del al principio utilizado en el método de detección o recuento, o debe utilizar marcadores diferentes (por ejemplo, diferentes anticuerpos, cebadores).

Los métodos alternativos se deben validar acorde a la respectiva norma ISO 16140

Principales objetivos

CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS

INTEGRAR NUEVAS
TECNOLOGÍAS

Principales objetivos

Control recepción de muestras

Reanálisis de muestras

Control incubaciones

Controles reforzados

Validación/verificación

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

Manipulación de muestras

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

No se permite la congelación de muestras previo a su análisis.

No es posible reanalizar las muestras. Si se realiza excepcionalmente, indicarlo en el informe.

Un reanálisis negativo de muestras positivas no permite obviar el primer resultado. Si se requiere un reanálisis debe registrarse e informarse de forma independiente.

Manipulación de muestras

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

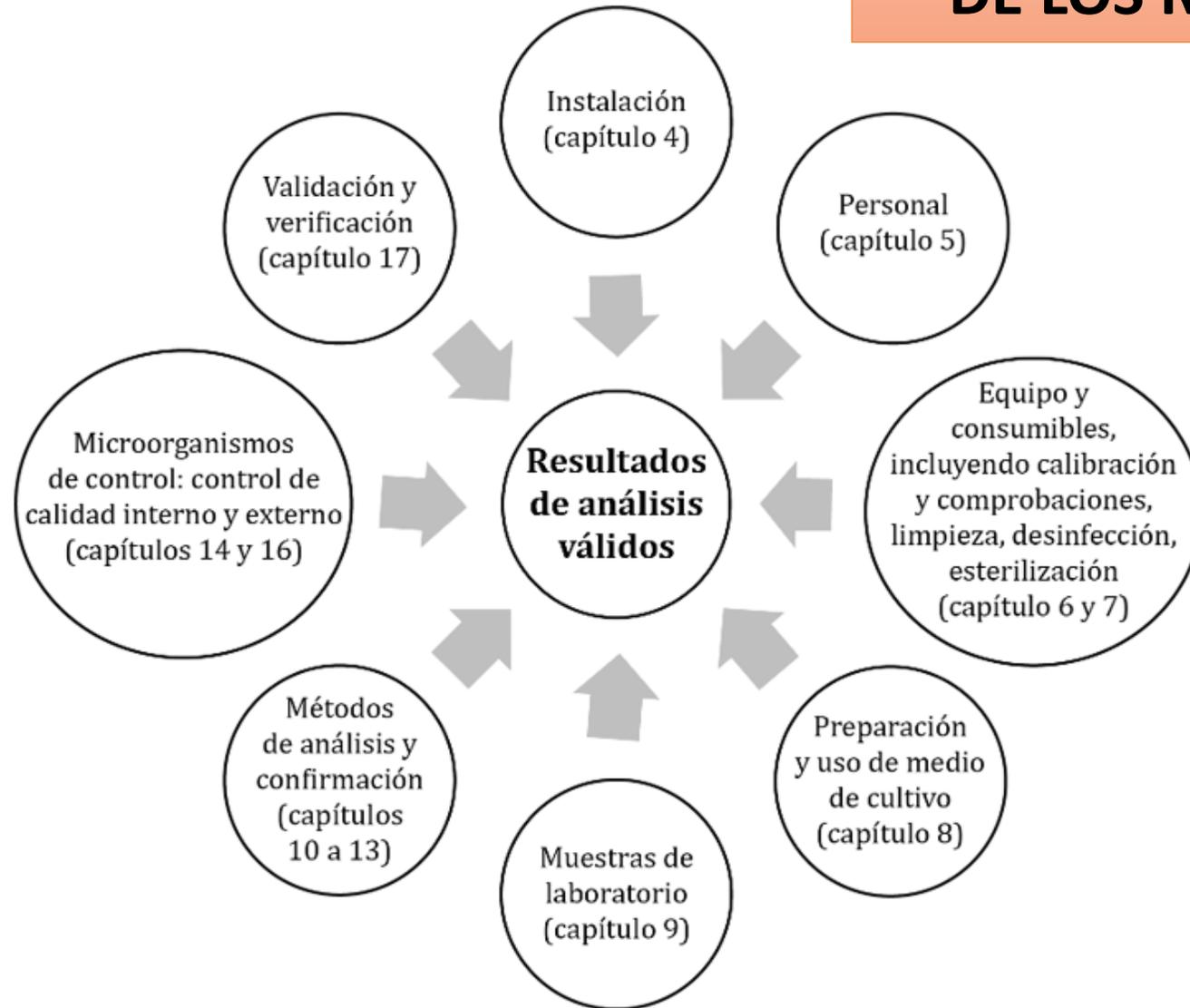
Se contempla el análisis de muestras de más de 25 g

El análisis de estas muestras debe realizarse con un estudio de los perfiles de temperatura de incubación

EN LA PRÁCTICA: Seguir instrucciones en ISO 6887-1 (caldo precalentado); estudio de perfil de temperaturas en el caldo y validación/verificación acorde a ISO 16140.

Control de calidad

REFORZAR LA FIABILIDAD DE LOS RESULTADOS



Control de calidad

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

- Debería contemplar todos los equipos, reactivos, medios de cultivo y personal implicado en los ensayos y contemplar todas las etapas de los ensayos.

Control de calidad interno

REFORZAR LA FIABILIDAD DE LOS RESULTADOS

- Controles de proceso en paralelo a las muestras de rutina con una frecuencia definida, pudiendo incluir:
 - Muestras blancas,
 - Cepas positivas distinguibles con niveles de 3 a 5 ufc para detección o 50 a 100 colonias en cuantificación.
 - Cepas negativas
 - Otros (control de medios, control temperaturas)
- Duplicados de muestras naturales o contaminadas (además sirven para estimar incertidumbre)
- Muestras inoculadas empleando diferentes matrices
- Gráficos de control para métodos cuantitativos

Control de calidad externo

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

- Revisar resultados individuales pero también tendencias.
- Debería evaluarse el organizador de acuerdo con ISO 17043 y ISO 22117, incluyendo los ensayos así como la proporción de negativos/positivos y el nivel de contaminación.
- Si no existe intercomparativo, se pueden comparar muestras con otros laboratorios empleando muestras similares, con una evaluación estadística.

Validación/Verificación

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

- Describe los pasos a seguir para métodos validados y para su posterior verificación.
- Referencias a la serie de normas ISO 16140 y a otras normas de validación como ISO 8196 (leche), ISO 16297 (Recuento de bacterias en leche), ISO 21187 (leche) e ISO 13843 (agua)

Validación

**REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS**

- Datos de validación se emplean para comparación por parte del laboratorio usuario.

Tipo de método	Características de funcionamiento
Detección (cualitativos)	Sensibilidad Nivel de detección Inclusividad y exclusividad
Recuento (cuantitativos)	Veracidad relativa Perfil de exactitud Inclusividad y exclusividad
Confirmación y tipado	Inclusividad y exclusividad
Identificación	Exactitud

Principales objetivos

CLARIFICAR, SIMPLIFICAR
Y HARMONIZAR

REFORZAR LA FIABILIDAD
DE LOS RESULTADOS

REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS

INTEGRAR NUEVAS
TECNOLOGÍAS

Principales objetivos

Refuerzo higiene

Reducir riesgo falsos positivos

Análisis de causas

**REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS**

Personal. Higiene

REFORZAR EL CONTROL DE PROCESOS

- **Vestuario limpio y específico.** Preferiblemente mangas largas y ajustadas y calzado especial para salas de patógenos. **No usar ropa de laboratorio fuera áreas de análisis.**
- **No llevar móviles, auriculares o joyas en el laboratorio.**

Instalaciones. Higiene

**REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS**

- **10.1.5 Derrames**

Cualquier derrame se limpia inmediatamente y desinfecta toda la superficie de trabajo antes de continuar.

No se utiliza una botella con pulverizador, ya que puede crear aerosoles.

El incidente debería documentarse.

Instalaciones. Características

**REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS**

Identificar los flujos de aire en el laboratorio para minimizar contaminación cruzada.

Flujos de trabajo sin retorno

Trabajo secuencial

Se monitoriza el nivel de contaminación microbiológica de las superficies de trabajo del laboratorio, las superficies de contacto del personal y el aire con regularidad

Instalaciones

REFORZAR EL CONTROL DE PROCESOS

- Actividades de análisis. Recomendado disponer de áreas para:

Recepción y almacenamiento de las muestras	Estudios esterilidad
Preparación de las muestras	Descontaminación
Análisis e incubación	Almacenamiento medios
Manipulación patógenos	Lavado y limpieza
Cepas de referencia	Productos químicos
Preparación medios	

Precauciones higiénicas

REFORZAR EL CONTROL DE PROCESOS

- Debería existir separación física entre recepción de muestras, almacenamiento, preenriquecimiento, transferencia cultivos, preparación medios de cultivo esterilización y almacenamiento.
- **Usar cabinas de seguridad para manejar muestras que puedan contener patógenos**
- **Separar actividades de bajo riesgo (preparación de medios) de las de alto riesgo (confirmaciones, manejo de cultivos, muestras contaminadas como en polvo, carne y huevos crudos)**
- **Muestras en polvo o altamente contaminadas en una sala separada (y preferiblemente en cabina)**
- **Lavado de manos antes (y después de manipular si se han contaminado)**



Precauciones higiénicas

**REFORZAR EL CONTROL
DE PROCESOS**

- **Tomar muestras de una en una.**
- **Abrir tubos contaminados (o enriquecimiento) de uno en uno.**
- **Cepas de control inoculados de forma aislada (tiempo o espacio)**
- **Realizar los controles al final de la tanda**
- **Cepas que sean fáciles de distinguir**

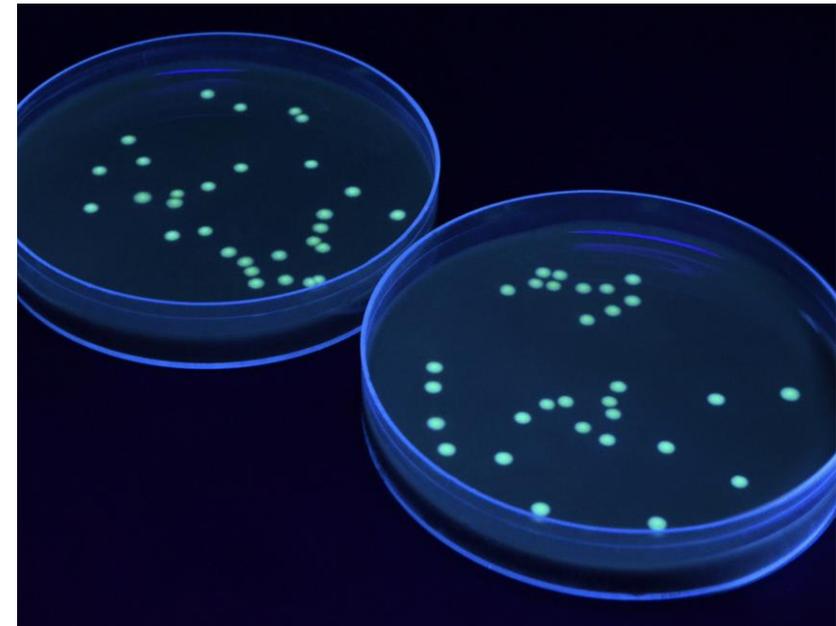
Cepas control

- Cepas caracterizadas fenotípica (pruebas bioquímicas) o genéticamente (pruebas moleculares)
- Recomendaciones en función del uso:
 - Control calidad medios cultivo: Cepas de colección
 - Controles de proceso: Cepas de colección o del laboratorio
 - Validación y verificación: Cepas de colección o del laboratorio si es posible procedentes del alimento objeto de análisis
 - Ensayos de desafío: Cepas del laboratorio con características definidas

Cepas de referencia

REFORZAR EL CONTROL DE PROCESOS

- Ver ISO 11133
- Empleadas para controlar medios de cultivo, inocular muestras o incluir controles positivos y negativos en los ensayos de confirmación
- Cepas fácilmente identificables para reducir riesgo contaminación (GMO).



Detección

REFORZAR EL CONTROL DE PROCESOS

- **Si se usan contenedores para incubar muestras, así como para grandes volúmenes, se debería verificar la homogeneidad y perfil de temperaturas respectivamente.**
- **Se incluyen referencias a muestras combinadas (ver ISO 6887)**

Equipos. General

REFORZAR EL CONTROL DE PROCESOS

- Debería disponerse de equipamiento especial para salas donde se manipulan patógenos.
- La nueva norma organiza los equipos por tipologías (ejm. Esterilización, temperatura controlada, volumen, equipos de medida...)

CONCLUSIONES

HICIMOS LO QUE PUDIMOS...
Y siempre abiertos a mejoras

Agradecimientos

Miembros grupo ISO/TC34/SC9/WG7

Miembros CTN-UNE 34/SC4/GT6

Convenor Sue Passmore



¿PREGUNTAS?

David.tomas@biomerieux.com