

E DIN EN ISO 15213-2:2022-10 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2022-09-02

Mikrobiologie der Nahrungskette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Aufzählung von Clostridium spp. - Teil 2: Zählung von Clostridium perfringens durch Koloniezählverfahren (ISO/DIS 15213-2:2022); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 15213-2:2022

Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Clostridium spp. - Part 2: Enumeration of Clostridium perfringens by colony-count technique (ISO/DIS 15213-2:2022); German and English version prEN ISO 15213-2:2022

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	9
Vorwort.....	10
Einleitung.....	12
1 Anwendungsbereich.....	13
2 Normative Verweisungen.....	14
3 Begriffe.....	14
4 Kurzbeschreibung.....	15
4.1 Allgemeines.....	15
4.2 Herstellung von Verdünnungen.....	15
4.3 Zählung.....	15
4.4 Bestätigung.....	15
5 Nährmedien und Reagenzien.....	15
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	16
7 Probenahme.....	16
8 Herstellung der Untersuchungsprobe.....	17
9 Durchführung.....	17
9.1 Allgemeines.....	17
9.2 Prüfmenge, Erstverdünnung und Verdünnungen.....	17
9.3 Vorbehandlung durch Erwärmung zur Auswahl von Sporen.....	17
9.4 Beimpfung und Bebrütung.....	17
9.5 Zählung typischer Kolonien.....	18
9.6 Bestätigung von <i>C. perfringens</i>	18
9.6.1 Auswahl von Kolonien für die Bestätigung.....	18
9.6.2 Prüfung auf saure Phosphatase.....	19
9.6.3 Prüfung auf SIM-Agar.....	19
9.6.4 Differenzierung zwischen humanpathogenen und nichtpathogenen <i>C. perfringens</i> - Stämmen (optional).....	19
9.6.5 Interpretation.....	20
10 Darstellung der Ergebnisse.....	20
11 Leistungsmerkmale des Verfahrens.....	20
11.1 Ringversuch.....	20
11.2 Wiederholgrenze.....	20
11.3 Vergleichsgrenze.....	21

12	Untersuchungsbericht.....	22
13	Qualitätssicherung.....	22
	Anhang A (normativ) Fließschema des Verfahrens.....	23
	Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien.....	24
B.1	Allgemeines.....	24
B.2	Tryptose-Sulfit-Cycloserin-Agar (TSC).....	24
B.2.1	Basalmedium.....	24
B.2.2	D-Cycloserinlösung.....	25
B.2.3	Vollständiges Medium.....	25
B.3	Columbia-Blutagar (CBA).....	25
B.3.1	Columbia-Blutagar-Grundmedium.....	25
B.3.2	Defibriniertes Blut (Pferde- oder Schafsblut).....	26
B.3.3	Vollständiges Grundmedium.....	26
B.4	Reagenz für saure Phosphatase.....	26
B.4.1	Zusammensetzung.....	26
B.4.2	Herstellung.....	26
B.5	SIM-Agar-Röhrchen.....	28
B.5.1	Zusammensetzung.....	28
B.5.2	Herstellung.....	28
B.6	Kovacs-Reagenzien.....	28
B.6.1	Zusammensetzung.....	28
B.6.2	Herstellung.....	28
B.7	Leistungsprüfung.....	28
	Anhang C (informativ) Verfahrensvalidierungsstudien und Leistungsmerkmale.....	30
	Anhang D (informativ) Molekulare Differenzierung zwischen pathogenen und nichtpathogenen <i>C. perfringens</i>	35
D.1	Allgemeines.....	35
D.2	Gel-basierter Multiplex-PCR-Assay zur Differenzierung von <i>C. perfringens</i>	35
D.2.1	Leistungsmerkmale (siehe ISO 22118).....	35
D.2.2	Geräte und Reagenzien.....	37
D.3	Echtzeit-Multiplex-PCR-Assay zur Differenzierung von <i>C. perfringens</i>	43
D.3.1	Leistungsmerkmale (siehe ISO 22118).....	43
D.3.2	Geräte und Reagenzien.....	45
D.4	Multiplex-PCR-Assay zur Differenzierung von chromosomal codierten <i>cpe</i> -Genen und plasmidcodierten <i>cpe</i> -Genen.....	49
D.4.1	Leistungsmerkmale (siehe ISO 22118).....	49
D.4.2	Geräte und Reagenzien.....	51
	Literaturhinweise.....	58

Bilder

Bild A.1	— Fließschema des Koloniezählverfahrens für <i>C. perfringens</i>	23
----------	---	----

Tabellen

Tabelle B.1	— Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien.....	29
Tabelle C.1	— Ergebnisse der Datenanalyse von Fertigsuppe [Kategorie: Mehrkomponenten- Lebensmittel bzw. Mahlzeitkomponenten].....	30

Tabelle C.2 — Ergebnisse der Datenanalyse von Ananas in Dosen [Kategorie: verarbeitetes Obst und Gemüse].....	31
Tabelle C.3 — Ergebnisse der Datenanalyse von Umweltaustrichen [Kategorie: Umgebungsproben (Lebensmittel- oder Futtermittelproduktion)]	31
Tabelle C.4 — Ergebnisse der Datenanalyse von Futtersilage [Kategorie: (Heim-)Tierfuttermittel]	32
Tabelle C.5 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fisch in Dosen [Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fischereiprodukte].....	32
Tabelle C.6 — Ergebnisse der Datenanalyse von Corned Beef in Dosen [Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fleischprodukte].....	33
Tabelle C.7 — Ergebnisse der Datenanalyse von Säuglingsnahrung in Pulverform [Kategorie: Säuglingsnahrung und Getreideprodukte für Kleinkinder]	34
Tabelle D.1 — Toxino- und entsprechende Genotypen von <i>C. perfringens</i> [18].....	35
Tabelle D.2 — Inklusivität der Multiplex-PCR mit Zielstämmen.....	36
Tabelle D.3 — Exklusivität der Multiplex-PCR mit Nicht-Zielstämmen	36
Tabelle D.4 — Sequenzen von Oligonukleotiden.....	38
Tabelle D.5 — MasterMix.....	40
Tabelle D.6 — Temperatur-Zeit-Programm.....	42
Tabelle D.7 — Größe der Amplifikationsprodukte.....	43
Tabelle D.8 — Inklusivität der Multiplex-PCR mit Zielstämmen.....	44
Tabelle D.9 — Exklusivität der Multiplex-PCR mit Nicht-Zielstämmen	44
Tabelle D.10 — Sequenzen von Oligonukleotiden	45
Tabelle D.11 — MasterMix (Triplex-Echtzeit-PCR-System, <i>cpa</i> -Gen, <i>cpe</i> -Gen und IAC).....	47
Tabelle D.12 — MasterMix (Duplex-Echtzeit-PCR-System, <i>cpb1</i> - und <i>cpb2</i> -Gen oder <i>etx</i> - und <i>iap</i> -Gen)	48
Tabelle D.13 — Temperatur-Zeit-Programm	49
Tabelle D.14 — Inklusivität der Multiplex-PCR mit Zielstämmen	49
Tabelle D.15 — Exklusivität der Multiplex-PCR mit Nicht-Zielstämmen.....	50
Tabelle D.16 — Sequenzen von Oligonukleotiden	52
Tabelle D.17 — MasterMix	54
Tabelle D.18 — Temperatur-Zeit-Programm	55
Tabelle D.19 — Größe der Amplifikationsprodukte	57