

E DIN EN ISO 13136-2:2024-03 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2024
-02-16

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Nachweis, Isolierung und Charakterisierung von Shiga-Toxin bildenden *Escherichia coli* (STEC) - Teil 2: Horizontales Verfahren zur Charakterisierung von Shiga-Toxin bildenden *Escherichia coli* (STEC) Isolaten (ISO/DIS 13136-2:2024); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 13136-2:2024

Microbiology of the food chain - Detection, isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) - Part 2: Horizontal method for the characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolates (ISO/DIS 13136-2:2024); German and English version prEN ISO 13136-2:2024

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	7
Vorwort.....	8
Einleitung.....	9
1 Anwendungsbereich.....	11
2 Normative Verweisungen.....	11
3 Begriffe.....	12
4 Kurzbeschreibung.....	13
5 Nährmedien und Reagenzien.....	14
6 Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien.....	14
7 Probenahme.....	15
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	15
9 Durchführung.....	15
9.1 Subtypisierung der <i>stx</i> -Gene.....	15
9.1.1 Vorbereitung des PCR-Templates.....	15
9.1.2 Durchführung der PCR-Reaktion.....	16
9.1.3 Agarose-Gelelektrophorese.....	16
9.2 Untersuchung auf Vorhandensein des <i>eae</i> - und des <i>aggR</i> -Gens.....	17
9.2.1 Vorbereitung des PCR-Templates.....	17
9.2.2 Amplifikation mittels Real-time-PCR.....	17
9.2.3 Auswertung von Real-time-PCR-Ergebnissen.....	17
9.2.4 Interne Amplifikationskontrolle bei der Real-time-PCR.....	17
9.3 Bestimmung der Serogruppen O157, O26, O103, O145, O111, O45 und O121 durch Amplifikation der O-assoziierten Gene mittels Real-time-PCR.....	18
10 Auswertung.....	18
11 Untersuchungsbericht.....	19
12 Qualitätssicherung.....	19
Anhang A (informativ) Übersicht über das Verfahren.....	20
Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien.....	21
B.1 Allgemeines.....	21
B.2 Nähragar (Beispiel für ein nicht selektives Medium).....	21
B.2.1 Zusammensetzung.....	21

B.2.2	Herstellung.....	21
B.2.3	Herstellung der Nähragarplatten.....	21
B.3	Trypton-Soja-Bouillon (Beispiel für eine nicht selektive flüssige Bouillon)	22
B.3.1	Zusammensetzung.....	22
B.3.2	Herstellung von TSB.....	22
Anhang C (informativ) Durchführung der PCR-Reaktionen für die Subtypisierung der <i>stx</i> -Gene		23
Anhang D (informativ) Primer und Sonden für die Real-time-PCR-Assays zum Nachweis des <i>eae</i> - und <i>aggR</i> -Gens		26
Anhang E (informativ) Primer und Sonden für die Real-time-PCR-Assays zum Nachweis der O- assoziierten Gene		27
Literaturhinweise.....		29

Tabellen

Tabelle B.1	— Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien und Reagenzien.....	22
Tabelle C.1	— PCR-Primer	24
Tabelle C.2	— Liste der Referenzstämme, die die <i>stx</i> -Gen-Subtypen besitzen	25
Tabelle D.1	— Real-time-PCR-Primer und -Sonden.....	26
Tabelle E.1	— Real-time-PCR-Primer und -Sonden (angepasst aus EURL-VTEC_Method_11 — https://www.iss.it/documents/5430402/0/EURL-VTEC_Method_11_Rev_1.pdf/d7776894-60ef-e2ac-0244-665b5fcf5fc2?t=1619466344421).....	27
Tabelle E.2	— <i>E.-coli</i> -Referenzstämme, die zu dem jeweiligen Ziel-Gen der 7 Serogruppen dieses Verfahrens gehören.....	28