DIN CEN ISO/TS 13136:2013-04 (D)

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Real-time-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln - Horizontales Verfahren für den Nachweis von Shiga-Toxin bildenden Escherichia coli (STEC) und Bestimmung der Serogruppen O157, O111, O26, O103 und O145 (ISO/TS 13136:2012); Deutsche Fassung CEN ISO/TS 13136:2012

Inhalt

Seite

Vorwort ... 3

Einleitung ... 4

1 Anwendungsbereich ... 5

2 Normative Verweisungen ... 5

3 Begriffe ... 6

4 Kurzbeschreibung ... 6
4.1 Allgemeines ... 6
4.2 Mikrobielle Anreicherung ... 6
4.3 Nukleinsäureextraktion ... 7
4.4 Ziel-Gene ... 7
4.5 Nachweis ... 7
4.6 Isolierung ... 7

5 Verdünnungsmittel, Nährmedien und Reagenzien ... 8
5.1 Nährmedien ... 8
5.2 Reagenzien für die Nukleinsäureextraktion ... 9
5.3 Reagenzien für die PCR ... 9

6 Ausrüstung ... 9

7 Probenahme ... 10

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe ... 10

9 Durchführung ... 10
9.1 Einwaage und Erstverdünnung ... 10
9.2 Anreicherung ... 11
9.3 Nukleinsäureextraktion ... 11
9.4 Amplifikation mittels PCR (Real-time-PCR) ... 11
9.5 Isolierung von Stämmen ... 12

10 Auswertung ... 12

11 Leistungsdaten ... 13

Anhang A (normativ) Fließschema für das Screeningverfahren ... 18

Anhang B (normativ) Fließschema für das Isolierungs- und Bestätigungsverfahren ... 19

Anhang C (informativ) Identifizierung von Shiga-Toxin bildenden *Escherichia coli* (STEC) durch Amplifikation von Virulenzgenen mittels Multiplex-PCR und Nachweis von PCR-Produkten mit Agarose-Gelelektrophorese ... 20

Anhang D (informativ) Interne Amplifikationskontrolle ... 24

Anhang E (informativ) Primer und Sonden für den PCR-Assay ... 25

Anhang F (normativ) Isolierung von STEC-Stämmen ... 27

Literaturhinweise ... 28