DIN 10135:1999-11 (D)

Verfahren zum Nachweis von Salmonellen mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Inhalt

Seite

Vorwort 1

1 Anwendungsbereich 1

2 Normative Verweisungen 1

3 Begriffe 1
3.1 Salmonellen 1
3.2 Salmonellen-spezifische DNA-Sequenzen 1
3.3 PCR-ELISA; PCR-Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay 1

4 Formelzeichen und Abkürzungen 2
4.1 Formelzeichen 2
4.2 Abkürzungen 2

5 Prinzip des Verfahrens 2
5.1 Allgemeines 2
5.2 Mikrobielle Anreicherung 2
5.3 Nukleinsäureextraktion 2
5.4 Amplifikation mittels PCR 2
5.5 Detektion spezifischer Amplifikate 2

6 Chemikalien und Reagenzien 2
6.1 Allgemeines 2
6.2 Nährmedien 2
6.2.1 Nichtselektive Nährmedien 2
6.2.2 Selektive Nährmedien 2
6.3 Nukleinsäureextraktion und -reinigung 2
6.3.1 Waschpuffer 2
6.3.2 Reinigung der Nukleinsäure 2
6.4 PCR-Reagenzien 2
6.4.1 Allgemeines 2
6.4.2 Thermostabile DNA-Polymerase 3
6.4.3 Desoxyribonukleosid-Triphosphate (dNTP) 3
6.4.4 Uracil-N-Glykosylase 3
6.4.5 Reaktionspuffer 3
6.4.6 Oligonukleotide (Primer und Sonden) 3
6.5 Detektion spezifischer Amplifikate 3
6.5.1 Allgemeines 3
6.5.2 Detektion spezifischer Amplifikate für den in dieser Norm exemplarisch dargestellten PCR-ELISA 3

7 Geräte 3
7.1 Allgemeines 3
7.2 Mikrobielle Anreicherung 3
7.3 Nukleinsäureextraktion 4
7.4 PCR 4
7.5 Detektion spezifischer Amplifikate 4

8 Durchführung 4
8.1 Untersuchungsmaterial und Probenahme 4
8.2 Vorbereitung der Probe 4
8.3 Mikrobielle Anreicherung 4
8.4 Nukleinsäureextraktion 4
8.5 PCR 4
8.5.1 Allgemeines 4
8.5.2 Kontrollreaktionen 4
8.5.3 Ansatz einer PCR für den in dieser Norm exemplarisch dargestellten PCR-ELISA 5
8.6 Nachweis der vervielfältigten Zielsequenz 5

9 Auswertung 6
9.1 Allgemeines 6
9.2 Beispiel für die Auswertung eines PCR-ELISA mit interner Amplifikationskontrolle 6

10 Dokumentation 6

Anhang A (informativ) Amplifikationskontrolle 7

Anhang B (informativ) Beispiele geeigneter Oligonukleotide zum Nachweis von Salmonellen-DNA 8

Anhang C (informativ) Literaturhinweise 8