

DIN EN ISO 15216-1:2017-07 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zur Bestimmung von Hepatitis-A-Virus und Norovirus mittels Real-time-RT-PCR - Teil 1:
Verfahren zur Quantifizierung (ISO 15216-1:2017); Deutsche Fassung EN ISO 15216-1:2017

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	4
Vorwort.....	5
Einleitung.....	6
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen.....	7
3 Begriffe.....	7
4 Kurzbeschreibung.....	10
4.1 Virusgewinnung.....	10
4.2 RNA-Extraktion.....	10
4.3 Real-time-RT-PCR (Real-time-Reverse-Transkription-Polymerase-Kettenreaktion).....	10
4.4 Kontrollmaterialien.....	11
4.4.1 Prozesskontrollvirus.....	11
4.4.2 Doppelsträngige DNA-Kontrolle (dsDNA-Kontrolle).....	11
4.4.3 EC-RNA-Kontrolle.....	11
4.5 Untersuchungsergebnisse.....	12
5 Reagenzien.....	12
5.1 Allgemeines.....	12
5.2 Reagenzien, die im Lieferzustand verwendet werden.....	12
5.3 Herzustellende Reagenzien.....	13
6 Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien.....	14
7 Probenahme.....	16
8 Durchführung.....	16
8.1 Allgemeine Anforderungen an Laboratorien.....	16
8.2 Virusgewinnung.....	16
8.2.1 Virusmaterial für die Prozesskontrolle.....	16
8.2.2 Negative Prozesskontrolle.....	16
8.2.3 Lebensmitteloberflächen.....	17
8.2.4 Weiches Obst, Blatt-, Stängel- und Zwiebelgemüse.....	17
8.2.5 In Flaschen abgefülltes Trinkwasser.....	18
8.2.6 Zweischalige Weichtiere (en: bivalve molluscan shellfish, BMS).....	19
8.3 RNA-Extraktion.....	19
8.4 Real-time-RT-PCR.....	20
8.4.1 Allgemeine Anforderungen.....	20
8.4.2 Analyse mit Real-time-RT-PCR.....	20
9 Auswertung der Ergebnisse.....	23
9.1 Allgemeines.....	23
9.2 Erstellen von Standardkurven.....	23
9.3 Berechnung der RT-PCR-Inhibition.....	23
9.4 Berechnung der Extraktionseffizienz.....	24
9.5 Proben-Quantifizierung.....	25

10	Angabe der Ergebnisse	26
11	Präzision des Verfahrens.....	27
11.1	Ringversuch	27
11.2	Wiederholpräzision.....	27
11.3	Vergleichgrenze.....	27
12	Untersuchungsbericht.....	28
	Anhang A (normativ) Schematische Darstellung des Verfahrens	29
	Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung von Reagenzien und Pufferlösungen	30
	Anhang C (informativ) Real-time-RT-PCR-Mastermixe und Parameter für die Durchführung der PCR.....	33
	Anhang D (informativ) Real-time-RT-PCR-Primer und -Hydrolysesonden für den Nachweis von HAV, Norovirus GI und GII sowie Mengovirus (Prozesskontrolle).....	34
	Anhang E (informativ) Vermehrung des Mengovirus-Stammes MC₀ zur Verwendung als Prozesskontrolle	37
	Anhang F (informativ) RNA-Extraktion unter Anwendung des NucliSENS®-Systems	38
	Anhang G (informativ) Herstellung der doppelsträngigen Kontroll-DNA-Stammlösungen.....	40
	Anhang H (informativ) Herstellung der EC-RNA-Stammlösungen.....	43
	Anhang I (informativ) Beispielhafte Plattenbelegung.....	45
	Anhang J (informativ) Untersuchungen zur Methodvalidierung und Leistungsmerkmale des Verfahrens.....	46
	Literaturhinweise	57