# DIN EN ISO 15216-1:2021-10 (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 + Amd 1:2021); Deutsche Fassung EN ISO 15216-1:2017 + A1:2021

## Inhalt

Seite


Europäisches Vorwort ..... 4

A1 Europäisches Vorwort der Änderung 1 A1 ..... 5

Vorwort ..... 6

A1 Vorwort der Änderung 1 A1 ..... 7

Einleitung ..... 8

1 Anwendungsbereich ..... 9

2 Normative Verweisungen ..... 9

3 Begriffe ..... 9

4 Kurzbeschreibung ..... 12
4.1 Virusextraktion ..... 12
4.2 RNA-Extraktion ..... 12
4.3 Real-time-RT-PCR (Real-time-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion) ..... 12
4.4 Kontrollmaterialien ..... 13
4.4.1 Prozesskontrollvirus ..... 13
4.4.2 Doppelsträngige DNA-Kontrolle (dsDNA-Kontrolle) ..... 13
4.4.3 EC-RNA-Kontrolle ..... 13
4.5 Untersuchungsergebnisse ..... 13

5 Reagenzien ..... 14
5.1 Allgemeines ..... 14
5.2 Reagenzien, die im Lieferzustand verwendet werden ..... 14
5.3 Herzustellende Reagenzien ..... 15

6 Geräte und Verbrauchsmaterialien ..... 16

7 Probenahme ..... 18

8 Durchführung ..... 18
8.1 Allgemeine Anforderungen an Labore ..... 18
8.2 Virusgewinnung ..... 18
8.2.1 Virusmaterial für die Prozesskontrolle ..... 18
8.2.2 Negative Prozesskontrolle ..... 18
8.2.3 Lebensmitteloberflächen ..... 18
8.2.4 Weiches Obst, Blatt-, Stängel- und Zwiebelgemüse ..... 19
8.2.5 In Flaschen abgefülltes Trinkwasser ..... 20
8.2.6 Zweischalige Weichtiere (BMS, en: bivalve molluscan shellfish) ..... 20
8.3 RNA-Extraktion ..... 21
8.4 Real-time-RT-PCR ..... 21
8.4.1 Allgemeine Anforderungen ..... 21
8.4.2 Analyse mit Real-time-RT-PCR ..... 22

9 Auswertung der Ergebnisse ..... 24
9.1 Allgemeines ..... 24
9.2 Erstellen von Standardkurven ..... 24

**9.3 Berechnung der RT-PCR-Inhibition ... 25**
**9.4 Berechnung der Extraktionseffizienz ... 26**
**9.5 Quantitative Bestimmung der Proben ... 27**
**10 Angabe der Ergebnisse ... 27**
**11 Präzision ... 28**
**11.1 Ringversuch ... 28**
**11.2 Wiederholpräzision ... 28**
**11.3 Vergleichgrenze ... 29**
**12 Untersuchungsbericht ... 29**
**Anhang A (normativ) Schematische Darstellung des Verfahrens ... 30**
**Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung von Reagenzien und Pufferlösungen ... 31**
**Anhang C (informativ) Real-time-RT-PCR-Mastermixe und Parameter für die Durchführung der PCR ... 34**
**Anhang D (informativ) Real-time-RT-PCR-Primer und -Hydrolysesonden für den Nachweis von HAV, Norovirus GI und GII sowie Mengovirus (Prozesskontrolle) ... 35**
**Anhang E (informativ) Vermehrung des Mengovirus-Stammes $MC_0$ 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 Methodenvalidierung und Leistungsmerkmale des Verfahrens ... 46**
**Literaturhinweise ... 57**