

DIN EN ISO 10272-2:2023-07 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Campylobacter* spp. - Teil 2: Koloniezählverfahren (ISO 10272-2:2017 + Amd 1:2023); Deutsche Fassung EN ISO 10272-2:2017 + A1:2023

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	10
A1 Europäisches Vorwort der Änderung 1.....	11
Vorwort.....	12
A1 Vorwort der Änderung 1.....	13
Einleitung.....	14
1 Anwendungsbereich.....	15
2 Normative Verweisungen.....	15
3 Begriffe.....	15
4 Kurzbeschreibung.....	16
4.1 Allgemeines.....	16
4.2 Herstellung von Verdünnungen.....	16
4.3 Zählung.....	16
4.4 Bestätigung.....	16
5 Nährmedien und Reagenzien.....	17
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	17
7 Probenahme.....	17
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	18
9 Durchführung.....	18
9.1 Prüfmenge, Erstverdünnung und weitere Verdünnungen.....	18
9.2 Beimpfung und Bebrütung.....	18
9.3 Zählung charakteristischer Kolonien.....	18
9.4 Bestätigung von <i>Campylobacter</i>	19
9.4.1 Allgemeines.....	19
9.4.2 Auswahl von Kolonien für die Bestätigung.....	19
9.4.3 Untersuchung der Morphologie und Beweglichkeit.....	19
9.4.4 Untersuchung des aeroben Wachstums bei 25 °C.....	20
9.4.5 Nachweis von Oxidase-Aktivität.....	20
9.4.6 Auswertung.....	20
9.5 Identifizierung von <i>Campylobacter</i> -Spezies (optional).....	20
9.5.1 Allgemeines.....	20
9.5.2 Nachweis von Katalase-Aktivität.....	20
9.5.3 Nachweis der Hydrolyse von Hippurat.....	21
9.5.4 Nachweis der Hydrolyse von Indoxylacetat.....	21
9.5.5 Auswertung.....	21
10 Angabe der Ergebnisse.....	22
11 Leistungsmerkmale des Verfahrens.....	22
11.1 Ringversuch.....	22
11.2 Wiederholgrenze.....	22
11.3 Vergleichsgrenze.....	23

12	Untersuchungsbericht	24
	Anhang A (normativ) Fließschema des Verfahrens.....	25
	Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien.....	26
B.1	Allgemeines.....	26
B.2	Verdünnungsmittel.....	26
B.3	Modifizierter Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (mCCD-Agar)	26
B.3.1	Grundmedium	26
B.3.2	Antibiotische Lösung.....	27
B.3.3	Vollständiges Medium	27
B.4	Columbia-Blut-Agar	28
B.4.1	Grundmedium	28
B.4.2	Steriles Schafs- oder Pferdeblut	28
B.4.3	Vollständiges Medium	28
B.5	Reagens für den Nachweis von Oxidase-Aktivität	28
B.5.1	Zusammensetzung	28
B.5.2	Herstellung.....	29
B.6	Reagens für den Nachweis von Katalase-Aktivität.....	29
B.6.1	Zusammensetzung	29
B.6.2	Herstellung.....	29
B.7	Reagenzien für den Nachweis der Hydrolyse von Hippurat.....	29
B.7.1	Natriumhippuratlösung	29
B.7.2	Ninhydrinlösung, Massenanteil von 3,5 %.....	29
B.8	Indoxylacetat-Plättchen.....	30
B.8.1	Zusammensetzung	30
B.8.2	Herstellung.....	30
B.9	Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien	30
	Anhang C (informativ) Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale.....	32
	Anhang D (informativ) Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....	37
D.1	Allgemeines.....	37
D.2	Kurzbeschreibung.....	37
D.3	Reagenzien	37
D.3.1	Reagenzien für die Nukleinsäure-Extraktion	37
D.3.2	Reagenzien für die Real-Time-PCR.....	37
D.4	Geräte.....	38
D.4.1	Für die Nukleinsäure-Extraktion verwendete Ausstattung	38
D.4.2	Für die Real-Time-PCR verwendete Ausstattung.....	38
D.5	Durchführung.....	39
D.5.1	Nukleinsäure-Extraktion	39
D.5.2	PCR-Ansatz	39
D.5.3	PCR-Kontrollen	40
D.5.4	Temperatur-Zeit-Programm	40
D.6	Auswertung der Ergebnisse.....	40
D.7	Leistungsmerkmale des Verfahrens	40
D.7.1	Allgemeines.....	40
D.7.2	Theoretische Bewertung des Verfahrens.....	41
D.7.3	Inklusivität und Exklusivität	41
	Anhang E (informativ) PCR-Verfahren zur molekularen Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....	42
E.1	Allgemeines.....	42
E.2	Gelbasiertes Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....	42
E.2.1	Allgemeines.....	42
E.2.2	Kurzbeschreibung.....	42
E.2.3	Reagenzien	42

E.2.4	Geräte	44
E.2.5	Durchführung	45
E.2.6	Auswertung der Ergebnisse	48
E.2.7	Leistungsmerkmale	49
E.3	Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....	50
E.3.1	Allgemeines.....	50
E.3.2	Kurzbeschreibung.....	50
E.3.3	Reagenzien	50
E.3.4	Geräte.....	52
E.3.5	Durchführung	52
E.3.6	Auswertung der Ergebnisse	54
E.3.7	Leistungsmerkmale	54
Anhang F (informativ) Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale		56
F.1	Ringversuch zum Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Anhang D)	56
F.2	Ringversuch zum gelbasierten Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.2).....	56
F.3	Ringversuch zum Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.3)	58
Literaturhinweise		59

Bilder

Bild A.1	— Fließschema des Verfahrens zur Zählung von <i>Campylobacter</i> in der Lebensmittelkette	25
----------	--	----

Tabellen

Tabelle 1	— Eigenschaften von <i>Campylobacter</i>	20
Tabelle 2	— Eigenschaften von <i>Campylobacter</i> -Spezies.....	22
Tabelle B.1	— Leistungsprüfung von Nährmedien für <i>Campylobacter</i>	31
Tabelle C.1	— Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit Blinddarm-Material von Masthähnchen.....	32
Tabelle C.2	— Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit gefrorenem Spinat	33
Tabelle C.3	— Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit gefrorenem Hackfleisch (Schwein/Rind)	34
Tabelle C.4	— Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit Rohmilch.....	35
Tabelle C.5	— Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit Hühnerhaut.....	36
Tabelle D.1	— Sequenzen von Oligonukleotiden.....	38
Tabelle D.2	— Reagenzien.....	39
Tabelle D.3	— Temperatur-Zeit-Programm.....	40

Tabelle D.4 — Inklusivität und Exklusivität.....	41
Tabelle E.1 — Sequenzen von Oligonukleotiden	43
Tabelle E.2 — Reagenzien	46
Tabelle E.3 — Temperatur-Zeit-Programm	47
Tabelle E.4 — Größe von Amplifikationsprodukten	48
Tabelle E.5 — Inklusivität und Exklusivität.....	49
Tabelle E.6 — Sequenzen von Oligonukleotiden	51
Tabelle E.7 — Reagenzien	53
Tabelle E.8 — Temperatur-Zeit-Programm	54
Tabelle E.9 — Inklusivität und Exklusivität.....	55
Tabelle F.1 — Daten aus dem Ringversuch	56
Tabelle F.2 — Inklusivität und Exklusivität	56
Tabelle F.3 — Daten aus dem Ringversuch	57
Tabelle F.4 — Inklusivität und Exklusivität	57
Tabelle F.5 — Daten aus dem Ringversuch	58
Tabelle F.6 — Inklusivität und Exklusivität	58