E DIN EN ISO 13136-2:2024-03 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2024 -02-16

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Nachweis, Isolierung und Charakterisierung von Shiga-Toxin bildenden Escherichia coli (STEC) - Teil 2: Horizontales Verfahren zur Charakterisierung von Shiga-Toxin bildenden Escherichia coli (STEC) Isolaten (ISO/DIS 13136-2:2024); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 13136-2:2024

Microbiology of the food chain - Detection, isolation and characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) - Part 2: Horizontal method for the characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) isolates (ISO/DIS 13136-2:2024); German and English version prEN ISO 13136-2:2024

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 7

Vorwort 8

Einleitung 9

1 Anwendungsbereich 11

2 Normative Verweisungen 11

3 Begriffe 12

4 Kurzbeschreibung 13

5 Nährmedien und Reagenzien 14

6 Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien 14

7 Probenahme 15

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe 15

9 Durchführung 15
9.1 Subtypisierung der *stx*-Gene 15
9.1.1 Vorbereitung des PCR-Templates 15
9.1.2 Durchführung der PCR-Reaktion 16
9.1.3 Agarose-Gelelektrophorese 16
9.2 Untersuchung auf Vorhandensein des *eae*- und des *aggR*-Gens 17
9.2.1 Vorbereitung des PCR-Templates 17
9.2.2 Amplifikation mittels Real-time-PCR 17
9.2.3 Auswertung von Real-time-PCR-Ergebnissen 17
9.2.4 Interne Amplifikationskontrolle bei der Real-time-PCR 17
9.3 Bestimmung der Serogruppen O157, O26, O103, O145, O111, O45 und O121 durch Amplifikation der O-assoziierten Gene mittels Real-time-PCR 18

10 Auswertung 18

11 Untersuchungsbericht 19

12 Qualitätssicherung 19

Anhang A (informativ) Übersicht über das Verfahren 20

Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien 21
B.1 Allgemeines 21
B.2 Nähragar (Beispiel für ein nicht selektives Medium) 21
B.2.1 Zusammensetzung 21

B.2.2 Herstellung ... **21**
B.2.3 Herstellung der Nähragarplatten ... **21**
B.3 Trypton-Soja-Bouillon (Beispiel für eine nicht selektive flüssige Bouillon) ... **22**
B.3.1 Zusammensetzung ... **22**
B.3.2 Herstellung von TSB ... **22**
Anhang C (informativ) Durchführung der PCR-Reaktionen für die Subtypisierung der *stx*-Gene ... **23**
Anhang D (informativ) Primer und Sonden für die Real-time-PCR-Assays zum Nachweis des *eae*- und *aggR*-Gens ... **26**
Anhang E (informativ) Primer und Sonden für die Real-time-PCR-Assays zum Nachweis der O-assoziierten Gene ... **27**
Literaturhinweise ... **29**

Tabellen

Tabelle B.1 — Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien und Reagenzien ... **22**
Tabelle C.1 — PCR-Primer ... **24**
Tabelle C.2 — Liste der Referenzstämme, die die *stx*-Gen-Subtypen besitzen ... **25**
Tabelle D.1 — Real-time-PCR-Primer und -Sonden ... **26**
Tabelle E.1 — Real-time-PCR-Primer und -Sonden (angepasst aus EURL-VTEC_Method_11 — https://www.iss.it/documents/5430402/0/EURL-VTEC_Method_11_Rev_1.pdf/d7776894-60ef-e2ac-0244-665b5fcf5fc2?t=1619466344421) ... **27**
Tabelle E.2 — *E.-coli*-Referenzstämme, die zu dem jeweiligen Ziel-Gen der 7 Serogruppen dieses Verfahrens gehören ... **28**