

DIN CEN ISO/TS 13136:2013-04 (D)

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Real-time-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln - Horizontales Verfahren für den Nachweis von Shiga-Toxin bildenden *Escherichia coli* (STEC) und Bestimmung der Serogruppen O157, O111, O26, O103 und O145 (ISO/TS 13136:2012); Deutsche Fassung CEN ISO/TS 13136:2012

Inhalt	Seite
Vorwort	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	6
4.1 Allgemeines	6
4.2 Mikrobielle Anreicherung	6
4.3 Nukleinsäureextraktion.....	7
4.4 Ziel-Gene	7
4.5 Nachweis	7
4.6 Isolierung	7
5 Verdünnungsmittel, Nährmedien und Reagenzien	8
5.1 Nährmedien.....	8
5.2 Reagenzien für die Nukleinsäureextraktion	9
5.3 Reagenzien für die PCR.....	9
6 Ausrüstung	9
7 Probenahme.....	10
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	10
9 Durchführung.....	10
9.1 Einwaage und Erstverdünnung	10
9.2 Anreicherung	11
9.3 Nukleinsäureextraktion.....	11
9.4 Amplifikation mittels PCR (Real-time-PCR).....	11
9.5 Isolierung von Stämmen.....	12
10 Auswertung.....	12
11 Leistungsdaten	13
Anhang A (normativ) Fließschema für das Screeningverfahren.....	18
Anhang B (normativ) Fließschema für das Isolierungs- und Bestätigungsverfahren	19
Anhang C (informativ) Identifizierung von Shiga-Toxin bildenden <i>Escherichia coli</i> (STEC) durch Amplifikation von Virulenzgenen mittels Multiplex-PCR und Nachweis von PCR-Produkten mit Agarose-Gelelektrophorese	20
Anhang D (informativ) Interne Amplifikationskontrolle	24
Anhang E (informativ) Primer und Sonden für den PCR-Assay.....	25
Anhang F (normativ) Isolierung von STEC-Stämmen	27
Literaturhinweise	28