

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 |