DIN CEN ISO/TS 17919:2014-03 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln - Nachweis von Botulinum-Neurotoxin Typ A, B, E und F produzierenden Clostridien (ISO/TS 17919:2013); Deutsche Fassung CEN ISO/TS 17919:2013

Inhalt

Seite

Vorwort 3

Einleitung 4

1 Anwendungsbereich 5

2 Normative Verweisungen 5

3 Begriffe 5

4 Symbole und Abkürzungen 5
4.1 Symbole 5
4.2 Abkürzungen 5

5 Kurzbeschreibung 6
5.1 Allgemeines 6
5.2 Mikrobielle Anreicherung 6
5.3 Nukleinsäureextraktion 6
5.4 Amplifikation mittels PCR 6
5.5 Nachweis von PCR-Produkten 6
5.6 Bestätigung 6

6 Reagenzien 6
6.1 Allgemeines 6
6.2 Nährmedien 7
6.3 Nukleinsäureextraktion 8
6.4 Reagenzien für die PCR 9

7 Geräte und Ausrüstungen 9
7.1 Allgemeines 9
7.2 Ausrüstung zur Probenvorbereitung vor der Anreicherung 9
7.3 Ausrüstung für die mikrobielle Anreicherung 9
7.4 Bei der Nukleinsäureextraktion eingesetzte Ausrüstung 10
7.5 Für die PCR eingesetzte Ausrüstung 10
7.6 Für den Nachweis des PCR-Produktes eingesetzte Ausrüstung 10

8 Probenahme 10

9 Durchführung 11
9.1 Probenvorbereitung vor der Anreicherung 11
9.2 Mikrobielle Anreicherung 11
9.3 Präparation von Nukleinsäuren 12
9.4 Amplifikation mittels PCR 13
9.5 Bestätigung eines positiven PCR-Ergebnisses 13

Anhang A (normativ) Fließschema für das Verfahren 14

Anhang B (informativ) Multiplex PCR-Verfahren zum Nachweis von Genen, die Botulinum-Neurotoxin Typ A, B, E und F kodieren, mit Agarose Gelelektrophorese 15

Anhang C (informativ) Verfahren zum Nachweis von Genen, die Botulinum-Neurotoxin Typ A, B, E und F kodieren, mit Real-time-PCR 33

Anhang D (informativ) Präparation von C. botulinum-Sporen 46

Literaturhinweise 52