

DIN 10135:1999-11 (D)

Verfahren zum Nachweis von Salmonellen mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Inhalt	Seite
Vorwort	1
1 Anwendungsbereich	1
2 Normative Verweisungen	1
3 Begriffe	1
3.1 Salmonellen	1
3.2 Salmonellen-spezifische DNA-Sequenzen	1
3.3 PCR-ELISA; PCR-Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay	1
4 Formelzeichen und Abkürzungen.....	2
4.1 Formelzeichen	2
4.2 Abkürzungen.....	2
5 Prinzip des Verfahrens	2
5.1 Allgemeines	2
5.2 Mikrobielle Anreicherung	2
5.3 Nukleinsäureextraktion.....	2
5.4 Amplifikation mittels PCR	2
5.5 Detektion spezifischer Amplifikate.....	2
6 Chemikalien und Reagenzien.....	2
6.1 Allgemeines	2
6.2 Nährmedien.....	2
6.2.1 Nichtselektive Nährmedien	2
6.2.2 Selektive Nährmedien	2
6.3 Nukleinsäureextraktion und -reinigung	2
6.3.1 Waschpuffer.....	2
6.3.2 Reinigung der Nukleinsäure.....	2
6.4 PCR-Reagenzien.....	2
6.4.1 Allgemeines	2
6.4.2 Thermostabile DNA-Polymerase.....	3
6.4.3 Desoxyribonukleosid-Triphosphate (dNTP)	3
6.4.4 Uracil-N-Glykosylase	3
6.4.5 Reaktionspuffer	3
6.4.6 Oligonukleotide (Primer und Sonden).....	3
6.5 Detektion spezifischer Amplifikate.....	3
6.5.1 Allgemeines	3
6.5.2 Detektion spezifischer Amplifikate für den in dieser Norm exemplarisch dargestellten PCR-ELISA	3
7 Geräte	3
7.1 Allgemeines	3
7.2 Mikrobielle Anreicherung	3
7.3 Nukleinsäureextraktion.....	4
7.4 PCR.....	4
7.5 Detektion spezifischer Amplifikate.....	4

8	Durchführung	4
8.1	Untersuchungsmaterial und Probenahme	4
8.2	Vorbereitung der Probe.....	4
8.3	Mikrobielle Anreicherung.....	4
8.4	Nukleinsäureextraktion	4
8.5	PCR	4
8.5.1	Allgemeines.....	4
8.5.2	Kontrollreaktionen.....	4
8.5.3	Ansatz einer PCR für den in dieser Norm exemplarisch dargestellten PCR-ELISA.....	5
8.6	Nachweis der vervielfältigten Zielsequenz	5
9	Auswertung	6
9.1	Allgemeines.....	6
9.2	Beispiel für die Auswertung eines PCR-ELISA mit interner Amplifikationskontrolle	6
10	Dokumentation.....	6
	Anhang A (informativ) Amplifikationskontrolle	7
	Anhang B (informativ) Beispiele geeigneter Oligonukleotide zum Nachweis von Salmonellen-DNA....	8
	Anhang C (informativ) Literaturhinweise	8