DIN EN ISO 15216-1:2021-10 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zur Bestimmung von Hepatitis-A-Virus und Norovirus mittels Real-time-RT-PCR - Teil 1: Verfahren zur Quantifizierung (ISO 15216-1:2017 + Amd 1:2021); Deutsche Fassung EN ISO 15216-1:2017 + A1:2021

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 4

A1 Europäisches Vorwort der Änderung 1 A1 5

Vorwort 6

A1 Vorwort der Änderung 1 A1 7

Einleitung 8

1 Anwendungsbereich 9

2 Normative Verweisungen 9

3 Begriffe 9

4 Kurzbeschreibung 12
4.1 Virusextraktion 12
4.2 RNA-Extraktion 12
4.3 Real-time-RT-PCR (Real-time-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion) 12
4.4 Kontrollmaterialien 13
4.4.1 Prozesskontrollvirus 13
4.4.2 Doppelsträngige DNA-Kontrolle (dsDNA-Kontrolle) 13
4.4.3 EC-RNA-Kontrolle 13
4.5 Untersuchungsergebnisse 13

5 Reagenzien 14
5.1 Allgemeines 14
5.2 Reagenzien, die im Lieferzustand verwendet werden 14
5.3 Herzustellende Reagenzien 15

6 Geräte und Verbrauchsmaterialien 16

7 Probenahme 18

8 Durchführung 18
8.1 Allgemeine Anforderungen an Labore 18
8.2 Virusgewinnung 18
8.2.1 Virusmaterial für die Prozesskontrolle 18
8.2.2 Negative Prozesskontrolle 18
8.2.3 Lebensmitteloberflächen 18
8.2.4 Weiches Obst, Blatt-, Stängel- und Zwiebelgemüse 19
8.2.5 In Flaschen abgefülltes Trinkwasser 20
8.2.6 Zweischalige Weichtiere (BMS, en: bivalve molluscan shellfish) 20
8.3 RNA-Extraktion 21
8.4 Real-time-RT-PCR 21
8.4.1 Allgemeine Anforderungen 21
8.4.2 Analyse mit Real-time-RT-PCR 22

9 Auswertung der Ergebnisse 24
9.1 Allgemeines 24
9.2 Erstellen von Standardkurven 24

9.3 Berechnung der RT-PCR-Inhibition ... 25
9.4 Berechnung der Extraktionseffizienz ... 26
9.5 Quantitative Bestimmung der Proben ... 27

10 Angabe der Ergebnisse ... 27

11 Präzision ... 28
11.1 Ringversuch ... 28
11.2 Wiederholpräzision ... 28
11.3 Vergleichgrenze ... 29

12 Untersuchungsbericht ... 29

Anhang A (normativ) Schematische Darstellung des Verfahrens ... 30

Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung von Reagenzien und Pufferlösungen ... 31

Anhang C (informativ) Real-time-RT-PCR-Mastermixe und Parameter für die Durchführung der PCR ... 34

Anhang D (informativ) Real-time-RT-PCR-Primer und -Hydrolysesonden für den Nachweis von HAV, Norovirus GI und GII sowie Mengovirus (Prozesskontrolle) ... 35

Anhang E (informativ) Vermehrung des Mengovirus-Stammes MC_0 zur Verwendung als Prozesskontrolle ... 37

Anhang F (informativ) RNA-Extraktion unter Anwendung des NucliSENS®-Systems ... 38

Anhang G (informativ) Herstellung der doppelsträngigen Kontroll-DNA-Stammlösungen ... 40

Anhang H (informativ) Herstellung der EC-RNA-Stammlösungen ... 43

Anhang I (informativ) Beispielhafte Plattenbelegung ... 45

Anhang J (informativ) Untersuchungen zur Methodenvalidierung und Leistungsmerkmale des Verfahrens ... 46

Literaturhinweise ... 57