

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	Vergleichsgrenze.....	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 MC₀ 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 Methodvalidierung und Leistungsmerkmale des Verfahrens.....	46
	Literaturhinweise.....	57