

# DIN EN ISO 10272-1:2023-07 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Campylobacter* spp. - Teil 1: Nachweisverfahren (ISO 10272-1:2017 + Amd 1:2023); Deutsche Fassung EN ISO 10272-1:2017 + A1:2023

---

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	11
<b>A1</b> Europäisches Vorwort der Änderung 1.....	12
Vorwort.....	13
<b>A1</b> Vorwort der Änderung 1.....	15
Einleitung.....	16
1 Anwendungsbereich.....	17
2 Normative Verweisungen.....	17
3 Begriffe.....	17
4 Kurzbeschreibung.....	18
4.1 Allgemeines.....	18
4.2 Anreicherung in selektivem flüssigen Medium.....	18
4.2.1 Nachweisverfahren A.....	18
4.2.2 Nachweisverfahren B.....	18
4.2.3 Nachweisverfahren C.....	19
4.3 Isolierung auf selektivem festen Medium.....	19
4.3.1 Nachweisverfahren A.....	19
4.3.2 Nachweisverfahren B.....	19
4.3.3 Nachweisverfahren C.....	19
4.3.4 Nachweisverfahren A, B und C.....	19
4.4 Bestätigung.....	19
5 Nährmedien und Reagenzien.....	19
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	19
7 Probenahme.....	20
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	20
9 Durchführung.....	21
9.1 Allgemeines.....	21
9.2 Prüfmenge und Erstverdünnung.....	21
9.2.1 Allgemeines.....	21
9.2.2 Nachweisverfahren A.....	22
9.2.3 Nachweisverfahren B.....	22
9.2.4 Nachweisverfahren C.....	22
9.3 Anreicherung.....	22
9.3.1 Nachweisverfahren A.....	22
9.3.2 Nachweisverfahren B.....	22
9.4 Isolierung.....	22
9.4.1 Nachweisverfahren A.....	22
9.4.2 Nachweisverfahren B.....	22
9.4.3 Nachweisverfahren A, B und C.....	23
9.5 Bestätigung von <i>Campylobacter</i> .....	23
9.5.1 Allgemeines.....	23

9.5.2	Auswahl von Kolonien für die Bestätigung.....	23
9.5.3	Untersuchung der Morphologie und Beweglichkeit .....	24
9.5.4	Untersuchung des aeroben Wachstums bei 25 °C.....	24
9.5.5	Nachweis der Oxidase-Aktivität .....	24
9.5.6	Auswertung .....	24
9.6	Identifizierung von <i>Campylobacter</i> -Spezies (optional) .....	24
9.6.1	Allgemeines.....	24
9.6.2	Nachweis von Katalase-Aktivität.....	25
9.6.3	Nachweis der Hydrolyse von Hippurat .....	25
9.6.4	Nachweis der Hydrolyse von Indoxylacetat .....	25
9.6.5	Auswertung.....	26
10	Angabe der Ergebnisse .....	26
11	Leistungsmerkmale des Verfahrens .....	26
11.1	Ringversuch .....	26
11.2	Empfindlichkeit .....	26
11.3	Spezifität .....	26
11.4	LOD <sub>50</sub> .....	27
12	Untersuchungsbericht .....	27
	Anhang A (normativ) Fließschema des Verfahrens.....	28
	Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien.....	29
B.1	Allgemeines.....	29
B.2	Bolton-Bouillon.....	29
B.2.1	Grundmedium .....	29
B.2.2	Steriles lysiertes Pferdeblut .....	30
B.2.3	Antibiotische Lösung.....	30
B.2.4	Vollständiges Medium .....	30
B.3	<b>A<sub>1</sub></b> ) Preston-Bouillon .....	31
B.3.1	Grundmedium .....	31
B.3.2	Steriles lysiertes Pferdeblut .....	31
B.3.3	Antibiotische Lösung.....	31
B.3.4	Wachstumszusatz.....	32
B.3.5	Vollständiges Medium .....	32
B.4	Modifizierter Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (mCCD-Agar) .....	32
B.4.1	Grundmedium .....	32
B.4.2	Antibiotische Lösung.....	33
B.4.3	Vollständiges Medium .....	33
B.5	Selektives Ausplattierungsmedium, bei dem andere selektive Prinzipien als bei mCCD-Agar genutzt werden.....	34
B.6	Columbia-Blut-Agar .....	34
B.6.1	Grundmedium .....	34
B.6.2	Steriles Schafs- oder Pferdeblut .....	34
B.6.3	Vollständiges Medium .....	34
B.7	Reagens für den Nachweis von Oxidase-Aktivität .....	35
B.7.1	Zusammensetzung.....	35
B.7.2	Herstellung.....	35
B.8	Reagens für den Nachweis von Katalase-Aktivität.....	35
B.8.1	Zusammensetzung.....	35
B.8.2	Herstellung.....	35
B.9	Reagenzien für den Nachweis der Hydrolyse von Hippurat.....	35
B.9.1	Natriumhippuratlösung .....	35
B.9.2	Ninhydrinlösung, Massenanteil von 3,5 %.....	36
B.10	Indoxylacetat-Plättchen .....	36
B.10.1	Zusammensetzung.....	36
B.10.2	Herstellung.....	36
B.11	Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien .....	36

<b>Anhang C (informativ) Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale .....</b>	<b>39</b>
<b>Anhang D (informativ) Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....</b>	<b>43</b>
D.1 Allgemeines.....	43
D.2 Kurzbeschreibung.....	43
D.3 Reagenzien .....	43
D.3.1 Reagenzien für die Nukleinsäure-Extraktion.....	43
D.3.2 Reagenzien für die Real-Time-PCR.....	43
D.4 Geräte.....	44
D.4.1 Für die Nukleinsäure-Extraktion verwendete Ausstattung .....	44
D.4.2 Für die Real-Time-PCR verwendete Ausstattung.....	44
D.5 Durchführung .....	45
D.5.1 Nukleinsäure-Extraktion .....	45
D.5.2 PCR-Ansatz.....	45
D.5.3 PCR-Kontrollen .....	46
D.5.4 Temperatur-Zeit-Programm.....	46
D.6 Auswertung der Ergebnisse .....	46
D.7 Leistungsmerkmale des Verfahrens .....	47
D.7.1 Allgemeines.....	47
D.7.2 Theoretische Bewertung des Verfahrens .....	47
D.7.3 Inklusivität und Exklusivität .....	47
<b>Anhang E (informativ) PCR-Verfahren zur molekularen Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....</b>	<b>49</b>
E.1 Allgemeines.....	49
<b>E.2 Gelbasiertes Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....</b>	<b>49</b>
E.2.1 Allgemeines.....	49
E.2.2 Kurzbeschreibung.....	49
E.2.3 Reagenzien .....	49
E.2.4 Geräte.....	51
E.2.5 Durchführung .....	52
E.2.6 Auswertung der Ergebnisse .....	55
E.2.7 Leistungsmerkmale .....	56
<b>E.3 Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.....</b>	<b>57</b>
E.3.1 Allgemeines.....	57
E.3.2 Kurzbeschreibung.....	57
E.3.3 Reagenzien .....	57
E.3.4 Geräte.....	59
E.3.5 Durchführung .....	59
E.3.6 Auswertung der Ergebnisse .....	61
E.3.7 Leistungsmerkmale .....	61
<b>Anhang F (informativ) Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale .....</b>	<b>63</b>
F.1 Ringversuch zum Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Anhang D) .....	63
F.2 Ringversuch zum gelbasierten Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.2).....	63
F.3 Ringversuch zum Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.3) .....	65
<b>Literaturhinweise .....</b>	<b>66</b>

## Bilder

<b>Bild A.1 — Fließschema der Verfahren zum Nachweis von <i>Campylobacter</i> in der Lebensmittelkette .....</b>	<b>28</b>
<b>Tabellen</b>	
<b>Tabelle 1 — Eigenschaften von <i>Campylobacter</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>Tabelle 2 — Eigenschaften von <i>Campylobacter</i>-Spezies.....</b>	<b>26</b>
<b>Tabelle B.1 — Leistungsprüfung von Nährmedien für <i>Campylobacter</i> .....</b>	<b>37</b>
<b>Tabelle C.1 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Blinddarm-Material von Masthähnchen (Verfahren C, direkte Ausplattierung).....</b>	<b>40</b>
<b>Tabelle C.2 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus gefrorenem Spinat (Verfahren A, Bolton-Bouillon).....</b>	<b>40</b>
<b>Tabelle C.3 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Hackfleisch (Schwein/Rind) (Verfahren A, Bolton-Bouillon).....</b>	<b>41</b>
<b>Tabelle C.4 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Rohmilch (Verfahren B, Preston-Bouillon).....</b>	<b>41</b>
<b>Tabelle C.5 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Hühnerhaut (Verfahren B, Preston-Bouillon).....</b>	<b>42</b>
<b>Tabelle D.1 — Sequenzen von Oligonukleotiden.....</b>	<b>44</b>
<b>Tabelle D.2 — Reagenzien.....</b>	<b>45</b>
<b>Tabelle D.3 — Temperatur-Zeit-Programm.....</b>	<b>46</b>
<b>Tabelle D.4 — Inklusivität und Exklusivität.....</b>	<b>47</b>
<b>Tabelle E.1 — Sequenzen von Oligonukleotiden .....</b>	<b>50</b>
<b>Tabelle E.2 — Reagenzien .....</b>	<b>53</b>
<b>Tabelle E.3 — Temperatur-Zeit-Programm .....</b>	<b>54</b>
<b>Tabelle E.4 — Größe von Amplifikationsprodukten .....</b>	<b>55</b>
<b>Tabelle E.5 — Inklusivität und Exklusivität.....</b>	<b>56</b>
<b>Tabelle E.6 — Sequenzen von Oligonukleotiden .....</b>	<b>58</b>
<b>Tabelle E.7 — Reagenzien .....</b>	<b>60</b>
<b>Tabelle E.8 — Temperatur-Zeit-Programm .....</b>	<b>61</b>
<b>Tabelle E.9 — Inklusivität und Exklusivität.....</b>	<b>62</b>
<b>Tabelle F.1 — Daten aus dem Ringversuch .....</b>	<b>63</b>
<b>Tabelle F.2 — Inklusivität und Exklusivität.....</b>	<b>63</b>

<b>Tabelle F.3 — Daten aus dem Ringversuch.....</b>	<b>64</b>
<b>Tabelle F.4 — Inklusivität und Exklusivität .....</b>	<b>64</b>
<b>Tabelle F.5 — Daten aus dem Ringversuch.....</b>	<b>65</b>
<b>Tabelle F.6 — Inklusivität und Exklusivität .....</b>	<b>65</b>