

DIN EN ISO 22174:2025-01 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von Mikroorganismen - Allgemeine Anforderungen und Definitionen (ISO 22174:2024); Deutsche Fassung EN ISO 22174:2024

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort.....	8
Vorwort.....	9
1 Anwendungsbereich.....	11
2 Normative Verweisungen	11
3 Begriffe	11
3.1 Allgemeine Begriffe	12
3.2 Begriffe in Bezug auf die Extraktion und Aufreinigung von DNA/RNA.....	14
3.3 Begriffe in Bezug auf die reverse Transkription von RNA zu DNA.....	14
3.4 Begriffe in Bezug auf DNA-Amplifikation durch PCR/RT-PCR.....	14
3.5 Begriffe in Bezug auf die Kontrollen	16
3.6 Begriffe in Bezug auf qPCR	17
3.7 Begriffe in Bezug auf dPCR	18
4 Kurzbeschreibung.....	20
4.1 Allgemeines.....	20
4.2 Laborprobe.....	20
4.3 Probenahme, Transport und Lagerung.....	20
4.4 Herstellung der Untersuchungsprobe	21
5 Mikrobielle Anreicherung und Viruskonzentrierung	21
5.1 Mikrobielle Anreicherung	21
5.2 Viruskonzentrierung.....	21
6 Nukleinsäureaufbereitung	21
6.1 Allgemeines.....	21
6.2 Verhinderung der Amplifikation von DNA aus toten Zellen.....	22
6.3 Nukleinsäureextraktion, -freisetzung und -aufreinigung	22
6.4 Qualität und Quantität der Nukleinsäuren	22
7 PCR-Amplifikation	23
8 Nachweis und Bestätigung von Amplikons	24
9 Allgemeine Anforderungen an die Laborumgebung.....	24
9.1 Allgemeines.....	24
9.2 Laboreinrichtung.....	24
9.2.1 Allgemeines.....	24
9.2.2 Steuerung der Ströme und Abläufe	26
9.2.3 Reinigung des Labors.....	26
9.2.4 Umgebungsüberwachung auf Nukleinsäurekontamination	27
10 Reagenzien und Verbrauchsmaterialien	27
11 Ausrüstung	27
12 Durchführung	28
12.1 Anreicherung und Probenaufbereitung.....	28
12.2 Amplifikation.....	29
12.2.1 Allgemeines.....	29

12.2.2	Kontrollreaktion	29
12.2.3	Nachweis von Amplikons.....	31
12.2.4	Datenanalyse	32
12.3	Auswertung	33
12.3.1	Qualitative Auswertung	33
12.3.2	Quantitative Auswertung.....	34
12.4	Untersuchungsbericht.....	35
13	Leistungsmerkmale von auf PCR beruhenden Verfahren.....	35
14	Validierung und Verifizierung von auf PCR beruhenden Verfahren	36
14.1	Allgemeines.....	36
14.2	Validierung.....	36
14.3	Verifizierung.....	36
Anhang A (informativ) Fluoreszenzsignale und Amplifikationskurve.....		38
A.1	Fluoreszenzsignale	38
A.2	Amplifikationskurve	38
A.2.1	Allgemeines.....	38
A.2.2	Phase 1: Hintergrundphase	39
A.2.3	Phase 2: Exponentielle Phase.....	39
A.2.4	Phase 3: Lineare Phase	40
A.2.5	Phase 4: Plateauphase	40
Literaturhinweise		41
Bilder		
Bild 1 — Flussdiagramm zur empfohlenen Nutzung von Einrichtungen im PCR-Prozess.....		26
Bild 2 — 1D-Streudiagramm zur Darstellung einer Reihenverdünnung einer positiven Probe und ihrer negativen PCR-Kontrolle		33
Bild A.1 — Amplifikationskurve		39
Tabellen		
Tabelle 1 — Kontrollen für die PCR-Analyse		29
Tabelle 2 — Beispiele für mögliche PCR-Ergebnisse.....		34