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