

Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten

Begriffe, Allgemeine Anforderungen

DIN
58 967
 Teil 10

Serodiagnosis of infectious and immuno diseases; concepts, general requirements

1 Anwendungsbereich und Zweck

Diese Norm gilt für alle serologischen Untersuchungsmethoden zur Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten. Serologische Untersuchungen von Infektionskrankheiten müssen in medizinisch-mikrobiologischen Laboratorien nach DIN 58 956 Teil 1 durchgeführt werden.

Zweck der festgelegten Benennungen und Definitionen ist es, die in der Serodiagnostik verwendeten Begriffe zu vereinheitlichen.

Die festgelegten allgemeinen Anforderungen sollen einheitliche Voraussetzungen für die fachgerechte und infektionsrisikoarme Durchführung der serologischen Untersuchungen schaffen mit dem Ziel, die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Untersuchungsergebnisse zu sichern.

Spezielle Anforderungen an bestimmte Nachweisverfahren für erregerspezifische Antikörper sind in DIN 58 969 Teil 10 für Antikörper bei Immunkrankheiten in DIN 58 968 Teil 20 (z. Z. Entwurf) festgelegt.

2 Begriffe**2.1 Begriffe aus der Qualitätssicherung**

Es gelten die für die Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin definierten Begriffe nach DIN 58 936 Teil 1 und Teil 2.

2.2 Untersuchungsgut

Das Untersuchungsgut im Sinne dieser Norm ist eine Serumprobe. Andere Körperflüssigkeiten, die Antikörper oder Antigene enthalten, wie Liquor, Plasma oder seröse Punktate u. a. können zur Untersuchung herangezogen werden.

2.3 Antikörper

Antikörper sind Immunglobuline (Ig), die dadurch gekennzeichnet sind, daß sie mindestens zwei spezifische Bindungsstellen für jeweils die gleiche Antigenstruktur aufweisen. Antikörper sind immer mindestens aus zwei leichten und zwei schweren Peptidketten (oder ganzzahligen Vielfachen hiervon) aufgebaut. Fünf Klassen von Antikörpern sind bekannt (IgM, IgG, IgA, IgE und IgD). Sie stammen aus Plasmazellen, ihren Vorläufern oder aus Hybridomzellen.

2.4 Autoantikörper

Ein Autoantikörper ist ein Antikörper, der mit körpereigenen Substanzen reagiert. Hierzu gehören auch Antikörper gegen Antigene auf humanen Immunglobulinen, wie Rheumafaktoren und Anti-idiotypische Antikörper.

2.5 Kontrollantikörper

Als Kontrollantikörper dient eine Antikörperpräparation oder Autoantikörperpräparation mit definierter Antigenspezifität sowie definierter Immunglobulin-Klasse und bekanntem

Reinheitsgrad. Er dient der Prüfung der Zuverlässigkeit, insbesondere Präzision und Richtigkeit eines Tests auf Antikörper oder Autoantikörper.

2.6 Referenzantikörper

Referenzantikörper ist eine Antikörperpräparation oder Autoantikörperpräparation, die hinsichtlich einer oder mehrerer spezifischer Bindungseigenschaften genau festgelegt ist. Der Referenzantikörper dient zur Kalibrierung von serologischen Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen Infektionserreger oder Autoantikörper bei Immunerkrankungen. Der Antikörpergehalt kann in Internationalen Einheiten¹⁾ (I. E./ml) oder in Gewichtseinheiten (z. B. µg/ml) angegeben werden. Referenzantikörper werden von einem nationalen oder internationalen Referenzlaboratorium zur Verfügung gestellt.

2.7 Kalibrationsantikörper²⁾

Kalibrationsantikörper ist eine Präparation von Antikörpern oder Autoantikörpern, die hinsichtlich ihrer Bindungseigenschaften und ihres Antikörpertiters oder Antikörpergehaltes gegen Referenzantikörper abgeglichen sind. Der Kalibrationsantikörper dient zur Kalibrierung des betreffenden Testsystems. Er ist mit einem Referenzantikörper abgeglichen.

2.8 Kontrollserum

Kontrollserum ist eine Serumprobe, die im quantitativen Testansatz ein spezifisches bekanntes, definiertes Ergebnis und im qualitativen Ansatz ein positives oder ein negatives Testresultat liefert. Sie dient zur Prüfung der Präzision und Richtigkeit der Testsysteme.

2.9 Referenzserum

Ein Referenzserum ist eine Serumprobe auf internationaler (International Biological Standard) oder nationaler Basis, die einen Antikörper-, Autoantikörper- oder Antigengehalt, in Internationalen Einheiten¹⁾ (I. E./ml) besitzt und zur Kalibrierung von Seren oder Testsystemen dient. Der Antikörper/Autoantikörper oder Antigengehalt kann auch in Gewichtseinheiten (z. B. µg/ml) angegeben werden. Sind bei einem auf internationaler Basis hergestelltem Serum gleichen Zwecks keine I. E./ml¹⁾ festgelegt, so wird es als „International Biological Reference Preparation“ bezeichnet.

2.10 Kalibrationsserum²⁾

Kalibrationsserum ist eine Serumprobe, welche hinsichtlich ihrer Eigenschaften mit einem Referenzserum abgeglichen ist. Es dient der Kalibrierung eines Testsystems.

¹⁾ Gemeint sind dabei die Internationalen Einheiten (I. E.) der durch die Weltgesundheitsorganisation (WHO) standardisierten Wertbestimmungen für die Wirkung von Pharmaka und anderen biologisch aktiven Substanzen.

²⁾ Siehe Erläuterungen

Fortsetzung Seite 2 bis 4

2.11 Antigen

Ein Antigen ist eine Substanz, die in-vivo eine Immunantwort auslösen kann.

2.12 Autoantigen

Autoantigen ist eine körpereigene Struktur oder Substanz, gegen die Autoantikörper gefunden werden. Im engeren Sinne sind nur solche Bereiche (Epitope) auf diesen körpereigenen Strukturen autoantigen, an die Autoantikörper oder autoreaktive T-Lymphozyten binden. Einige Autoantigene kommen nur im Menschen oder in Menschen und Primaten vor, andere zusätzlich auch in biologischem Material aus anderen Quellen.

2.13 Testantigen

Testantigen ist eine biochemisch und/oder physikalisch weitgehend definierte Präparation aus biologischem Material, das diejenigen Antigene oder Autoantigene enthält, gegen die Antikörper oder Autoantikörper nachgewiesen werden sollen.

2.14 Positives Kontrollantigen

Positives Kontrollantigen ist eine Antigenpräparation mit definierten Antigeneigenschaften. Sie dient zur Prüfung der Zuverlässigkeit, insbesondere der Präzision und Richtigkeit eines Antigennachweisverfahrens.

2.15 Negatives Kontrollantigen

Negatives Kontrollantigen ist eine Antigenpräparation, die sämtliche Verfahrensschritte der eigentlichen Antigenpräparation umfaßt, das gewünschte Antigen jedoch nicht enthält. Es dient der Spezifitätskontrolle eines Antikörpertests.

2.16 Referenzantigen

Referenzantigen ist eine Antigenpräparation, die von nationalen oder internationalen Referenzzentren zur Verfügung gestellt wird. Hinsichtlich einer oder mehrerer Eigenschaften ist das Referenzantigen genau festgelegt. Es dient zur Kalibrierung eines Testsystems zum Nachweis von Antikörpern gegen Erregerantigene oder gegen Autoantigene bzw. zur Kalibrierung von Antigennachweisystemen.

2.17 Kalibrationsantigen ²⁾

Kalibrationsantigen ist eine Präparation von Antigenen, die hinsichtlich ihrer Eigenschaften gegen Referenzantigene abgeglichen ist. Das Kalibrationsantigen dient der Kalibrierung des betreffenden Testsystems.

3 Allgemeine Anforderungen an die Untersuchungsbedingungen

3.1 Untersuchungsgut

3.1.1 Probennahme

Blut und andere Körperflüssigkeiten müssen steril und ohne jeden Zusatz entnommen werden.

3.1.2 Gewinnung des Serums

Zur Gewinnung des Serums sind Blutproben nach der Gerinnung bei Raumtemperatur von 18 bis 28 °C, jedoch vor dem Versand, in keimfreien, verschlossenen Zentrifugenröhrchen, z. B. nach DIN 58 970 Teil 2, bei einer RZB³⁾ von mindestens 2500 mindestens 10 Minuten zu zentrifugieren. Danach wird das überstehende Serum abgetrennt, siehe hierzu [1].

²⁾ Siehe Erläuterungen

³⁾ RZB = Relative Zentrifugalbeschleunigung (siehe DIN 58 970 Teil 1)

3.1.3 Aufbewahrung

Seren und andere Körperflüssigkeiten können bis zu 3 Tagen bei 4 °C kühl gelagert werden. Bei einer Lagerung von über 3 Tagen müssen Seren tiefgekühlt bei mindestens -20 °C aufbewahrt werden.

Anmerkung: Wiederholtes Auftauen und Einfrieren führt zu Verlusten des Antigen- oder Antikörpergehaltes der Probe.

3.1.4 Transport

Bei Verpackung und Versand von medizinischem Untersuchungsgut sind DIN 55 515 Teil 1 und Teil 2 und die verkehrsrechtlichen Vorschriften [2] und [3] zu beachten. Das Untersuchungsgut ist in einem keimfrei gemachten und verschlossenen Versandgefäß zu transportieren. Das Probenröhrchen muß so eindeutig beschriftet sein, daß die Herkunft und Identität des Untersuchungsgutes jederzeit erkennbar sind.

Die Versanddauer soll 1 Tag und die Umgebungstemperatur beim Versand 50 °C nicht überschreiten.

Jeder versendeten Probe ist ein schriftlicher, vom Einsender unterschriebener, gegen Durchfeuchtung und Verschmutzung geschützter Untersuchungsauftrag beizufügen, welcher den Mindestanforderungen nach DIN 58 941 Teil 4 sinntesprechend genügen muß.

3.2 Untersuchungslaboratorium

Serologische Untersuchungen auf Antikörper bei Immunkrankheiten sind in medizinischen Laboratorien durchzuführen. Bei Benutzung von Autoantigenmaterial, das mit Krankheitserregern infiziert ist, ist die Untersuchung in einem Laboratorium sinntesprechend nach DIN 58 956 Teil 1 durchzuführen.

Jede serologische Untersuchung auf Infektionskrankheiten ist in einem medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium mindestens Typ 2 nach DIN 58 956 Teil 1 durchzuführen. Bei Verdacht auf Infektion mit Krankheitserregern höherer Risiko-Gruppen ist die Untersuchung in einem entsprechenden Laboratorium Typ 3 oder Typ 4 erforderlich. Bei Umgang mit Patientenserum, den Kontroll-, Referenz- oder Standardserum muß deren mögliche Infektiosität berücksichtigt werden.

Die Ausstattung des Untersuchungslaboratoriums muß zum Nachweis erregerspezifischer Antikörper mindestens den Anforderungen nach DIN 58 956 Teil 2 entsprechen.

In allen serologischen Arbeitsbereichen wird für die Austestung von Körperflüssigkeiten auf Antikörper eine Tiefkühl-einrichtung für mindestens -20 °C, für längere Lagerungen mindestens -70 °C benötigt.

Anmerkung: Spezielle Ausrüstungen für einzelne serologische Untersuchungsmethoden sind in den DIN-Normen der jeweiligen Methoden festgelegt; siehe z. B.: Ausrüstung für die Komplementbindungsreaktion (KBR) nach DIN 58 969 Teil 10, für den Indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) zum Nachweis von Autoantikörpern und zum Nachweis von erregerspezifischen Antikörpern nach DIN 58 967 Teil 20.

Für die Entsorgung infektiöser Materialien gelten die Anforderungen nach DIN 58 956 Teil 4.

3.3 Annahme des Untersuchungsgutes

Das im Untersuchungslaboratorium eingetroffene Untersuchungsgut und der dazugehörige Untersuchungsauftrag sind auf Übereinstimmung, Plausibilität und etwaige Auffälligkeiten hin zu überprüfen und zu numerieren. Für eine Dokumentation sinngemäß nach DIN 58 941 Teil 4 ist Sorge zu tragen.

Untersuchungsgut, das nicht am Eingangstag verarbeitet werden kann, ist kurzfristig bei einer Temperatur von 4 bis 8 °C (Kühlschrank), gegebenenfalls in der Herkunft und bei -20 °C zu lagern.