

DIN 58967-60

ICS 07.100.10

Einsprüche bis 2005-09-30
Vorgesehen als Ersatz für
DIN 58967-60:2001-10

Entwurf

**Medizinische Mikrobiologie und Immunologie –
Serologische und molekularbiologische Diagnostik von Infektions- und
Immunkrankheiten –
Teil 60: Polymerase-Kettenreaktion (PCR); Begriffe, allgemeine
methodenspezifische Anforderungen**

Medical microbiology and immunology –

Diagnostics of infectious diseases and diseases of the immune system in serology and molecular biology –

Part 60: Polymerase chain reaction (PCR); Terminology, general method-specific requirements

Microbiologie médicale et immunologie –

Diagnose des maladies infectieuses et immunitaires en sérologie et biologie moléculaire –

Partie 60: Réaction de polyméridation en chaîne (PCR), Terminologie, exigences générales spécifiques de la méthode

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise als Datei per E-Mail an named@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Medizin (NAMed) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevante Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 12 Seiten

Normenausschuss Medizin (NAMed) im DIN

Inhalt

Seite

Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	3
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Bezeichnung	5
5 Kurzbeschreibung der Methode	6
6 Untersuchungsgut	6
7 Annahme des Untersuchungsgutes	6
8 Untersuchungslaboratorium und spezielle Ausrüstung	6
8.1 Allgemeines	6
8.2 Arbeitsbereiche	7
8.3 Spezielle Ausrüstung.....	7
9 Chemikalien und Reagenzien	7
9.1 Allgemeine Anforderungen	7
9.2 DNA-Polymerase	7
9.3 Desoxiribonukleosidtriphosphate (dNTP) für PCR.....	8
9.4 Reaktionspuffer	8
9.5 Primer	8
9.6 Zielsequenz.....	8
10 Vorbedingungen zur Durchführung	8
11 Durchführung der Untersuchung	8
11.1 Mitführen von Kontrollen	8
11.2 Probenvorbereitung.....	9
11.3 Amplifikation.....	9
11.4 Nachweis und Charakterisierung des Amplifikats	9
12 Auswertung und Beurteilung	9
12.1 Ergebnis	9
12.2 Beurteilung	10
13 Befundmitteilung	10
14 Qualitätssicherung	10
Anhang A (normativ) Besonderheiten der RT-PCR	11
A.1 Kurzbeschreibung.....	11
A.2 Festlegungen für die RT-PCR	11
A.2.1 Allgemeines	11
A.2.2 Reverse Transkription (RT)	11
A.2.3 Polymerase für RT-PCR.....	12

Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuss E 9 „Serologische und molekulare Diagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten“ erstellt.

DIN 58967 *Medizinische Mikrobiologie und Immunologie — Serologische und molekularbiologische Diagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten* besteht aus:

- Teil 10: *Begriffe — Allgemeine Anforderungen*
- Teil 20: *Allgemeine methodenspezifische Anforderungen an Immunofluoreszenztests (IFT)*
- Teil 30: *ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) — Begriffe — Allgemeine methodenspezifische Anforderungen*
- Teil 40: *Immunoblot (IB) — Begriffe — Allgemeine methodenspezifische Anforderungen*
- Teil 60: *Polymerase-Kettenreaktion (PCR) — Begriffe — Allgemeine methodenspezifische Anforderungen*

Änderungen

Gegenüber DIN 58967-60:2001-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Titel der Norm entsprechend dem Beschluss des NAMed AA E 9 vom 2002-12-06 angepasst;
- b) Normativer Anhang A "Besonderheiten der RT-PCR" aufgenommen.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm gilt für die Diagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten des Menschen mit der Methode der Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR). Diese Norm kann sinngemäß auch zur PCR-Diagnostik anderer Erkrankungen des Menschen herangezogen werden. Sie legt die Anforderungen fest für die Probenaufbereitung, die In-vitro-Vervielfältigung von Nukleinsäuresequenzen (DNA-Sequenzen) sowie für den Nachweis der Spezifität der vervielfältigten Nukleinsäuresequenz (Amplifikat). Mit Hilfe der PCR können definierte Desoxiribonukleinsäuresequenzen (DNA-Sequenzen) nachgewiesen werden. Ribonukleinsäuresequenzen (RNA-Sequenzen) können ebenfalls nachgewiesen werden nach Umschreibung von RNA in komplementäre DNA (cDNA) durch reverse Transkription. Im Anhang A werden die Besonderheiten der RT-PCR behandelt.

Bei speziellen Anwendungsverfahren sind weitere Anforderungen zu beachten. Für den Nachweis von Nukleinsäuresequenzen der Human-Immunschwäche-Viren HIV-1 und HIV-2 mittels PCR gilt DIN 58969-62.

Zweck dieser Norm ist es, laborspezifische Voraussetzungen und allgemeine methodenspezifische Begriffe und Mindestanforderungen festzulegen, damit vergleichbare und reproduzierbare Ergebnisse in verschiedenen Laboratorien erhalten werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 58936-1, *Qualitätsmanagement in der Laboratoriumsmedizin — Grundbegriffe*

DIN 58936-2, *Qualitätsmanagement in der Laboratoriumsmedizin — Teil 2: Begriffe zur Qualität und Anwendung von Untersuchungsverfahren*

DIN 58956-4, *Medizinische Mikrobiologie — Medizinisch-mikrobiologische Laboratorien — Anforderungen an die Entsorgung*

DIN 58967-10, *Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten — Teil 10: Begriffe — Allgemeine Anforderungen*

E DIN 58969-62, *Medizinische Mikrobiologie — Serologische und molekularbiologische Diagnostik von Infektionskrankheiten — Teil 62: Polymerase-Kettenreaktion (PCR) — Spezielle Anforderungen für den Nachweis von Nukleinsäuresequenzen des Mycobacterium tuberculosis Komplexes (MTC)*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Grundbegriffe für die serologische und molekulare Diagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten nach DIN 58967-10, die Begriffe für Qualitätssicherung in der Labormedizin nach DIN 58936-1 und DIN 58936-2 und die folgenden Begriffe.

3.1

Polymerase-Kettenreaktion

polymerase chain reaction, PCR

Verfahren, das die gezielte In-vitro-Vervielfältigung von DNA- oder (nach reverser Transkription in cDNA) RNA-Abschnitten erlaubt. Nach Denaturierung doppelsträngiger DNA in Einzelstrang-DNA lagern sich zwei in ihrer Orientierung zur Zielsequenz gegenläufige synthetische Primer (Oligonukleotide) an die für sie komplementären Bereiche der zu vermehrenden Zielsequenz (DNA-Abschnitt) an. Die aufgrund spezifischer Basenpaarung zwischen Primern und Zielsequenz entstehenden kurzen doppelsträngigen Bereiche begrenzen den zu vervielfältigenden DNA-Abschnitt und dienen als Startstellen für die gezielte In-vitro-DNA-Synthese durch eine hitzestabile DNA-Polymerase ohne Ligaseaktivität. Die wiederholte Abfolge von Hitzedenaturierung, Primeranlagerung und DNA-Synthese (Zyklen) führt zu einer exponentiellen Vervielfältigung des durch die Primer begrenzten DNA-Abschnittes. Das Vorkommen und die Spezifität vervielfältigter DNA-Abschnitte (Amplifikate) werden durch geeignete Verfahren nachgewiesen

3.2

Primer

Oligonukleotid definierter Länge und Sequenz, der komplementär zu einem Abschnitt der Zielsequenz einer diagnostisch relevanten Nukleinsäure ist

ANMERKUNG Ein Primerpaar begrenzt den Abschnitt der Zielsequenz, die vermehrt werden soll

3.3

Nested Primer

Oligonukleotid, das sich zwischen den Bindungsstellen eines ersten Primerpaares anlagert

3.4

Primeranlagerung

spezifische Bindung eines Primers an die Zielsequenz unter geeigneten Reaktionsbedingungen, die durch Temperatur, Reaktionspuffer und Nukleinsäuresequenz bestimmt werden