

DIN EN ISO 20836



ICS 07.100.30

Entwurf

Einsprüche bis 2020-03-10
Vorgesehen als Ersatz für
DIN ISO/TS 20836:2005-10

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln –
Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen
Mikroorganismen in Lebensmitteln –
Leistungsprüfung für PCR-Geräte (ISO/DIS 20836:2020);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 20836:2020**

Microbiology of the food chain –
Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens –
Thermal performance testing for thermal cyclers (ISO/DIS 20836:2020);
German and English version prEN ISO 20836:2020

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes
pathogènes dans les aliments –
Essais de performance des thermocycleurs (ISO/DIS 20836:2020);
Version allemande et anglaise prEN ISO 20836:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-01-10 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

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

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

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

Gesamtumfang 60 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 20836:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 057-01-06-01 AK „Polymerase Kettenreaktion zum Nachweis von Mikroorganismen“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 22174	siehe	DIN EN ISO 22174
ISO/IEC 17025	siehe	DIN EN ISO/IEC 17025
ISO 20837	siehe	DIN EN ISO 20837
ISO 20838	siehe	DIN EN ISO 20838

Änderungen

Gegenüber DIN ISO/TS 20836:2005-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der Anwendungsbereich wurde auf PCR-Geräte und Real-time-PCR-Geräte erweitert;
- b) der Dokumenttyp wurde von ISO/TS in eine ISO-Norm geändert;
- c) das Verfahren zur technischen Leistungsprüfung wurde genauer beschrieben, das Verfahren zur biochemischen Leistungsprüfung wurde herausgenommen;
- d) es wurden Informationen für Laboratorien hinsichtlich ISO/IEC 17025 aufgenommen;
- e) das Verfahren zur Leistungsprüfung wurde an ISO/IEC 17025 angepasst;
- f) eine Konformitätsprüfung wurde hinzugefügt;
- g) in Anhang C wurden zwei Verfahren zur Festlegung von auf PCR-Verfahren basierenden Spezifikationen hinzugefügt;
- h) redaktionelle Überarbeitung der Norm.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 22174, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Allgemeine Anforderungen und Begriffe*

DIN EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

DIN EN ISO 20837, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Anforderungen an die Probenvorbereitung für den qualitativen Nachweis*

DIN EN ISO 20838, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Anforderungen an Amplifikation und Nachweis bei qualitativen Verfahren*

— Leerseite —

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Leistungsprüfung für PCR-Geräte (ISO/DIS 20836:2020)

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments — Essais de performance des thermocycleurs (ISO/DIS 20836:2020)

Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Thermal performance testing of thermal cyclers (ISO/DIS 20836:2020)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort.....	3
Vorwort	4
Einleitung.....	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Installation des PCR-Gerätes	12
5 Pflege und Wartung von PCR-Geräten	12
6 Leistungsprüfung von PCR-Geräten.....	12
6.1 Allgemein.....	12
6.2 Leistungsprüfungsprogramm	13
6.3 Metrologische Rückführbarkeit.....	13
6.4 Verfahren zur Temperatur-Leistungsprüfung.....	14
6.4.1 Allgemein.....	14
6.4.2 Kurzbeschreibung.....	14
6.4.3 Geräte.....	14
6.4.4 Umgebungsbedingungen.....	15
6.4.5 Durchführung.....	15
6.4.6 Ergebnisse der Leistungsprüfung.....	16
6.4.7 Bericht über die Leistungsprüfung.....	17
6.4.8 Konformitätsprüfung	18
6.5 Verfahren zur optischen Leistungsprüfung.....	18
Anhang A (informativ) Sensorpositionen	19
Anhang B (informativ) Universelles Temperaturprotokoll.....	24
Anhang C (informativ) Konformitätsprüfung	25
C.1 Vergleich mit Spezifikationen.....	25
C.1.1 Allgemein.....	25
C.1.2 Vergleich mit Herstellerspezifikationen	25
C.1.3 Vergleich mit Spezifikationen, die auf PCR-Verfahren basieren	25
C.1.4 Funktionsprüfung mit extremen Temperaturpositionen.....	26
Anhang D (informativ) Beispiel eines Temperaturprofils von PCR-Geräten	28
Literaturhinweise.....	29

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 20836:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird ISO/TS 20836:2005 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 20836:2020 wurde von CEN als prEN ISO 20836:2020 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Themen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275, *Lebensmittelanalytik*, Working Group 6, *Microbiology* in Zusammenarbeit mit ISO/TC 34 *Food products*, Unterkomitee SC 9, *Microbiology*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO/TS 20836:2005), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

- der Anwendungsbereich wurde auf PCR-Geräte und Real-time-PCR-Geräte erweitert;
- der Dokumenttyp wurde von ISO/TS in eine ISO-Norm geändert;
- Das Verfahren zur technischen Leistungsprüfung wurde genauer beschrieben, das Verfahren zur biochemischen Leistungsprüfung wurde herausgenommen;
- es wurden Informationen für Laboratorien hinsichtlich ISO/IEC 17025 aufgenommen;
- das Verfahren zur Leistungsprüfung wurde an ISO/IEC 17025 angepasst;
- eine Konformitätsprüfung wurde hinzugefügt;

- in Anhang C wurden zwei Verfahren zur Festlegung von auf PCR-Verfahren basierenden Spezifikationen hinzugefügt.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Diese Norm ist im Zusammenhang mit der folgenden Reihe Internationaler Normen unter dem allgemeinen Titel *„Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln* zu sehen:

- Allgemeine Anforderungen und Begriffe (ISO 22174);
- Anforderungen an die Probenvorbereitung für den qualitativen Nachweis (ISO 20837);
- Leistungsprüfung für PCR-Geräte (ISO 20836);
- Anforderungen an Amplifikation und Nachweis bei qualitativen Verfahren (ISO 20838).

Diese Norm beschreibt ein Verfahren zur Leistungsprüfung von Standard-PCR-Geräten und Real-time-PCR-Geräten, mit dem Laboratorien beurteilen können, ob das verwendete PCR-Gerät für den vorgesehenen Einsatz geeignet ist und die vom Laboratorium festgelegten Spezifikationen erfüllt.

Das beschriebene Verfahren basiert auf einem physikalischen Verfahren, bei dem in blockbasierten PCR-Geräten direkt im PCR-Geräteblock und in PCR-Geräten auf Heizkammerbasis in den Röhrchen gemessen wird. Das beschriebene Verfahren liefert eine Messunsicherheit, die ausreichend niedrig ist, um einen sinnvollen Vergleich mit den Spezifikationen zu ermöglichen.

Darüber hinaus erfüllt das Verfahren die Kriterien eines metrologisch rückführbaren Kalibrierungsverfahrens, wenn es von Labors angewendet wird, die ISO/IEC 17025-konform arbeiten.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige in diesem Dokument beschriebene Verfahren Patentrechte berühren können. ISO darf nicht für die Einhaltung einiger oder all dieser Patentrechte verantwortlich gemacht werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm enthält Anforderungen für die Installation, Instandhaltung, Temperaturkalibrierung und Temperaturleistungsprüfung von Standard-PCR-Geräten und Real-time-PCR-Geräten und ist anwendbar für den Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln sowie alle anderen Anwendungen in Lebensmitteln und Futtermitteln mithilfe von Verfahren, die auf einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) beruhen.

Diese Norm wurde für Lebensmittelprüfungen erstellt, kann aber durch den Einsatz von PCR-Geräten auch in anderen Bereichen angewendet werden (z.B. Umwelt, menschliche Gesundheit, Tiergesundheit und forensische Tests). In bestimmten Dokumenten können weitere Anforderungen enthalten sein.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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).

ISO 22174, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions*

ISO/IEC Guide 99, *International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM)*

ISO/IEC Guide 98-3, *Uncertainty of measurement — Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995)*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <http://www.iso.org/obp>

3.1 PCR

3.1.1

Polymerase-Kettenreaktion

PCR

enzymatische Reaktion, mit der eine *in vitro* Vervielfältigung (Amplifikation) von DNS durchgeführt werden kann

[QUELLE: ISO 22174:2005 3.4.1]

3.1.2

PCR-Verfahren

auf der PCR-Technik basierendes Prüfverfahren

Anmerkung 1 zum Begriff Beispiele sind unter anderem PCR, quantitative Real-time-PCR (qPCR), Reverse-Transkriptase-PCR (RT PCR) und quantitative Reverse-Transkriptase-Real-time-PCR (RT qPCR).

3.2 PCR-Gerät

3.2.1

PCR-Gerät

Gerät, das festgelegte Erhitzungs- und Kühlzyklen automatisiert durchführen kann, die für eine PCR oder Real-time-PCR notwendig sind

[QUELLE: Basierend auf ISO 22174:2005 3.4.20]

Anmerkung 1 zum Begriff Beim PCR-Gerät kann es sich um ein blockbasiertes PCR-Gerät oder ein PCR-Gerät mit (individueller) Reaktionskammer handeln.

3.2.2

Reaktionsblock

beheizter und gekühlter Metallblock, in den die PCR-Reaktionsgefäße mit dem PCR-Reaktionsgemisch eingebracht werden können

Anmerkung 1 zum Begriff Der Block kann mittels einer Reihe von Technologien erhitzt und gekühlt werden; dabei wird die Peltier-Erwärmung und -Kühlung am häufigsten eingesetzt.

3.2.3

Reaktionskammer

beheizte und gekühlte Kammer, in die die PCR-Reaktionsgefäße mit dem PCR-Reaktionsgemisch direkt oder in einen Rotor eingebracht werden können

Anmerkung 1 zum Begriff Die Kammer kann mittels einer Reihe von Technologien erhitzt und gekühlt werden; dabei wird die Lufterwärmung und -kühlung am häufigsten eingesetzt.

3.2.4

beheizter Deckel

beheizte Abdeckung des PCR-Geräts, die bei blockbasierten PCR-Geräten auf Reaktionsröhrchen eingesetzt wird, um die Kondensation des Reaktionsgemisches auf dem Deckel des Reaktionsröhrchens und die Verdampfung aus dem Reaktionsröhrchen zu verhindern, und die Druck auf die Röhrchen ausübt, um einen ordnungsgemäßen thermischen Kontakt zu gewährleisten

3.2.5

PCR-Temperaturprotokoll

für die PCR erforderliche Heiz- und Kühlzyklen, die typischerweise aus Denaturierungs-, Annealing- und Verlängerungstemperaturschritten bestehen, die typischerweise 30-45 Mal wiederholt werden

Anmerkung 1 zum Begriff Bei bestimmten PCR-Verfahren wird ein zweistufiges Temperaturprotokoll verwendet, bei dem Annealing und Verlängerung zu einem Schritt kombiniert werden.

3.3 Temperatureigenschaften

3.3.1

Temperaturprofil von PCR-Geräten

Temperaturverlaufskurve durch Messungen in festgelegten Zeitabständen (siehe Anhang D für eine exemplarische Kurve des Temperaturprofils des PCR-Geräts)

3.3.2

$t_{(i)}$ *time*

Temperatur des Sensors i in °C beim Zeitstempel *time* in s

3.3.3

festgelegte Temperatur

t_{set}

programmierte Zieltemperatur, die erreicht werden soll, in °C

3.3.4

durchschnittliche Temperatur

$$t_{\text{avg}}(\text{time}) = \sum_{i=1}^N \frac{t_i(\text{time})}{N}$$

Dabei ist

$t_{\text{avg}}(\text{time})$ die durchschnittliche Temperatur in °C beim Zeitstempel time ;

i der Sensor i von N ;

N die Gesamtzahl der Sensoren.

Durchschnitt der Messwerte aller aktiven Temperatursensoren in °C bei einem bestimmten Zeitstempel in s

3.3.5

Temperaturabweichung

$$t_{\text{dev}}(\text{time}) = t_{\text{avg}}(\text{time}) - t_{\text{set}}$$

durchschnittliche Temperatur abzüglich der eingestellten Temperatur in °C bei einem bestimmten Zeitstempel in s

3.3.6

Mindesttemperatur

$$t_{\text{min}}(\text{time}) = \min(t_1(\text{time}) \dots t_N(\text{time}))$$

Mindestwert aller aktiven Temperatursensoren in °C bei einem bestimmten Zeitstempel in s

3.3.7

Höchsttemperatur

$$t_{\text{max}}(\text{time}) = \max(t_1(\text{time}) \dots t_N(\text{time}))$$

Höchstwert aller aktiven Temperatursensoren in °C bei einem bestimmten Zeitstempel in s

3.3.8

Temperatur-Uniformität

$$t_{\text{uniformity}}(\text{time}) = t_{\text{max}}(\text{time}) - t_{\text{min}}(\text{time})$$

Homogenität der Temperaturverteilung innerhalb des Reaktionsblocks oder der Reaktionskammer, definiert als Höchsttemperatur minus Mindesttemperatur in °C bei einem bestimmten Zeitstempel in s

3.3.9

durchschnittliche Rampenrate

$$V_t = \sum_{i=1}^N \left(\frac{t_{i, 90\%} - t_{i, 10\%}}{\text{time}_{i, 90\%} - \text{time}_{i, 10\%}} \right)$$

Dabei ist

V_t die Rampenrate, in °C/s

i der Sensor i von N

N die Gesamtzahl der Sensoren

$t_{i, 10\%}$ t_i bei 10 % der Zeit des Rampenanstiegs, in °C

$t_{i, 90\%}$ t_i bei 90 % der Zeit des Rampenanstiegs, in °C

time die Zeit in s

Heiz- oder Kühlrate des PCR-Geräts, berechnet zwischen 10 % und 90 % der Zeit des Heiz- oder Kühlanstiegs

Anmerkung 1 zum Begriff Die Heizrate ist eine positive Rampenrate. Die Kühlrate ist eine negative Rampenrate.

3.3.10

maximale Rampenrate

V_{tmax}

höchste Heiz- oder Kühlrate während des Heiz- oder Kühlanstiegs in °C/s

3.3.11

stärkste Temperaturüberhöhung

$$t_{i,ovs,max} = t_{i,max}(time) \Big|_{\substack{timehold = endovershoot \\ timehold = beginovershoot}} - t_i(timehold = 30s)$$

höchster Temperaturwert, in °C, aller aktiven Temperatursensoren während einer Überhöhung der Temperatur über der gehaltenen durchschnittlichen Temperatur des Reaktionsblocks oder der Reaktionskammer beim Erhitzen

Anmerkung 1 zum Begriff Die stärkste Temperaturüberhöhung wird zwischen Beginn und Ende der Überhöhung berechnet und in Bezug auf die Temperatur bei einer Haltezeit von 30 s ausgedrückt.

Anmerkung 2 zum Begriff: Die Überhöhung tritt typischerweise bei einer Haltezeit zwischen 0 s und 15 s auf. Ein Beispiel für ein Temperaturprofil von PCR-Geräten ist in Anhang D angegeben.

3.3.12

niedrigste Temperaturunterschreitung

$$t_{i,uns,min} = t_{i,min}(time) \Big|_{\substack{timehold = endundershoot \\ timehold = beginundershoot}} - t_i(timehold = 30s)$$

niedrigster Temperaturwert, in °C, aller aktiven Temperatursensoren während einer Unterschreitung der Temperatur unter der gehaltenen durchschnittlichen Temperatur des Reaktionsblocks oder der Reaktionskammer beim Abkühlen.

Anmerkung 1 zum Begriff Die stärkste Temperaturunterschreitung wird zwischen Beginn und Ende der Unterschreitung berechnet und in Bezug auf die Temperatur bei einer Haltezeit von 30 s ausgedrückt. Eine Unterschreitung ist eine Überhöhung in die negative Richtung.

Anmerkung 2 zum Begriff Die Unterschreitung tritt typischerweise bei einer Haltezeit zwischen 0 s und 15 s auf. Beispiele für Temperaturprofile von PCR-Geräten sind in Anhang D angegeben.

3.3.13

durchschnittliche Temperaturüberhöhung

$$t_{ovs,avg} = \sum_{i=1}^N \left(\frac{t_{i,ovs,max}}{N} \right)$$

Durchschnitt der stärksten Temperaturüberhöhungen aller aktiven Blocktemperatursensoren in °C

3.3.14

durchschnittliche Temperaturunterschreitung

$$t_{uns,avg} = \sum_{i=1}^N \left(\frac{t_{i,uns,min}}{N} \right)$$

Durchschnitt der stärksten Temperaturunterschreitung aller aktiven Blocktemperatursensoren in °C

3.3.15

Dauer der Überhöhung

Zeitspanne zwischen Beginn und Ende der Überhöhung in s

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Beginn der Überhöhung wird als der Zeitstempel definiert, an dem die durchschnittliche Temperatur die durchschnittliche Haltetemperatur, berechnet bei einer Haltezeit von 30 s, zu Beginn der Überhöhung überschreitet. Das Ende der Überhöhung wird als der Zeitstempel definiert, an dem die durchschnittliche Temperatur die durchschnittliche Haltetemperatur am Ende der Überhöhung erreicht.

3.3.16

Haltezeit

Zeitspanne zwischen Beginn und Ende des gehaltenen Temperaturwerts in s

Anmerkung 1 zum Begriff Ein Beispiel zur Bestimmung des Beginns und des Endes des Haltens ist in Anhang D angegeben.

3.4 Temperaturmessung

3.4.1

Temperaturmesssystem

Temperaturmess- und Datenerfassungsgerät

3.4.2

Abtastfrequenz

Anzahl von Proben, die pro Sekunde aus einem zeitkontinuierlichen Signal entnommen werden, um ein zeitdiskretes Signal zu erzeugen

3.4.3

Reaktionszeit

Zeit, die das Temperaturmesssystem benötigt, um bei einer Temperaturänderung auf diese Änderung zu reagieren

3.4.4

Messunsicherheit

mit dem Messergebnis verbundener Parameter, der die Streuung der Werte charakterisiert, die zuverlässig der zu messenden Menge zugewiesen werden könnten

[QUELLE: Basierend auf ISO/IEC Guide 99:2007, 2.26]

3.4.5

Leistungsprüfung

Prüfverfahren, das die Leistung des PCR-Gerätes überprüft

3.4.6

Kalibrierung

Tätigkeit, die unter festgelegten Bedingungen in einem ersten Schritt eine Beziehung zwischen den durch Normale zur Verfügung gestellten Größenwerten mit ihren Messunsicherheiten und den entsprechenden Anzeigen mit ihren beigeordneten Messunsicherheiten herstellt und in einem zweiten Schritt diese Information verwendet, um eine Beziehung herzustellen, mit deren Hilfe ein Messergebnis aus einer Anzeige erhalten wird

Anmerkung 1 zum Begriff Kalibrierung sollte weder mit der Justierung eines Messsystems noch mit Autocheck, Selbstverifizierung, Verifizierung, Normalisierung, Abnahmebeurteilung (IQ), Funktionsbeurteilung (OQ) oder Leistungsbeurteilung (PQ) verwechselt werden.

[QUELLE: ISO/IEC Guide 99:2007, 2.39]

4 Installation des PCR-Gerätes

Die Installation muss nach den Angaben des Herstellers erfolgen.

Folgendes sollte beachtet werden:

- a) PCR-Geräte sollten unter geeigneten Umgebungsbedingungen installiert und betrieben werden, die die Ergebnisse nicht ungültig machen und die erforderliche Qualität einer Prüfung nicht beeinträchtigen.
- b) Zu den Umgebungsbedingungen, die mindestens berücksichtigt werden sollten, gehören Raumtemperatur und relative Luftfeuchte.
- c) PCR-Geräte müssen so stehen, dass eine freie Luftzirkulation dauerhaft gewährleistet ist.

5 Pflege und Wartung von PCR-Geräten

Das Laboratorium muss gegebenenfalls ein Wartungsprogramm erstellen und Aufzeichnungen führen, um die ordnungsgemäße Funktion der PCR-Geräte zu gewährleisten und eine Funktionsminderung der PCR-Geräte zu verhindern.

6 Leistungsprüfung von PCR-Geräten

6.1 Allgemein

Wird das in dieser Norm behandelte Verfahren zur Leistungsprüfung als metrologisch rückführbare Temperaturkalibrierung, als Konformitätsprüfung oder als Referenzverfahren verwendet, so muss die Leistungsprüfung mit mindestens 12 Sensoren (6.4.5.1) durchgeführt und die metrologische Rückführbarkeit (6.3) bis zum Niveau des PCR-Geräts sichergestellt werden.

Wird das Verfahren zur Leistungsprüfung für andere Zwecke verwendet, etwa beim Lieferer im Rahmen der Qualitätskontrolle oder des Kundendienstes, darf die Anzahl an Sensoren auf eine Mindestzahl von 8 Sensoren gesenkt werden, und die metrologische Rückführbarkeit muss bis zum Niveau des Temperaturmesssystems sichergestellt werden.

Bei einzelnen Reaktionskammern muss jede der einzelnen Reaktionskammern gemessen werden.

Das Entscheidungsschema in Bild 1 kann verwendet werden, um festzustellen, ob die Leistungsprüfung eine metrologisch rückführbare Kalibrierung oder eine Leistungsprüfung sein muss.

ANMERKUNG 1 Kalibrierungen, die die Anforderungen aus ISO/IEC 17025 erfüllen, werden als metrologisch rückführbar angesehen. ISO/IEC 17025 beschreibt, wann eine metrologische Rückführbarkeit erforderlich ist und wie eine metrologische Rückführbarkeit hergestellt wird.

ANMERKUNG 2 Die auf Chemie oder Biochemie basierenden Normalisierungs- und Verifikationskits, die zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Norm verfügbar sind, bieten keine Rückführbarkeit auf das SI und sind mit hohen Messunsicherheiten verbunden und sind daher als Verfahren zur Leistungsprüfung ungeeignet.

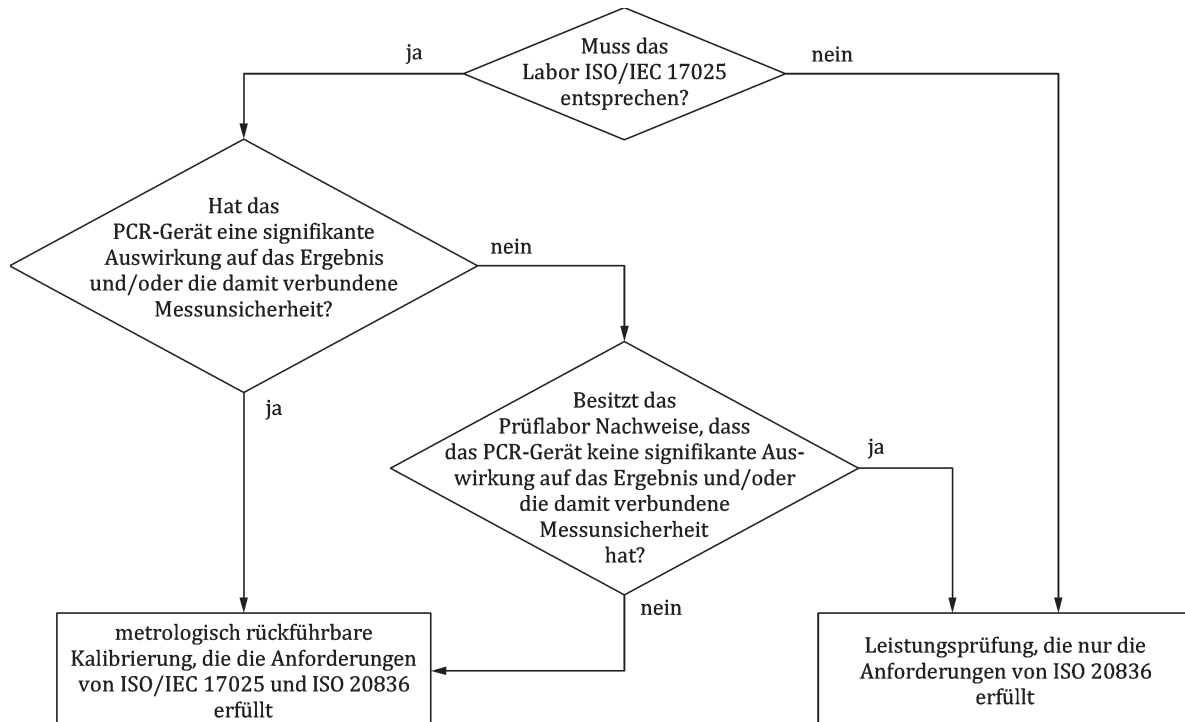


Bild 1 — Entscheidungsschema zur Bestimmung der Anforderungen an die metrologisch rückführbare Temperaturkalibrierung von PCR-Geräten

6.2 Leistungsprüfungsprogramm

Das Laboratorium muss gegebenenfalls ein Leistungsprüfungsprogramm erstellen und Aufzeichnungen führen, um sicherzustellen, dass mit dem PCR-Gerät die erforderliche Genauigkeit erreichbar ist und die für die bestimmungsgemäße Verwendung relevanten Spezifikationen erfüllt werden.

ANMERKUNG Laboratorien, die ISO/IEC 17025-konform arbeiten, sind verpflichtet, ein geplantes Kalibrierprogramm aufzustellen, um das Vertrauen in den Status der Kalibrierung zu erhalten.

6.3 Metrologische Rückführbarkeit

Die Leistungsprüfung muss auf das Internationale Einheitensystem (SI) rückführbar sein.

Die metrologische Rückführbarkeit wird durch die Berücksichtigung und Sicherstellung folgender Punkte erreicht:

- Die Spezifizierung der Messgröße (zu messende Größe);
- eine dokumentierte, lückenlose Kette von Kalibrierungen, die auf angegebene und geeignete Referenzen zurückgeht (geeignete Referenzen umfassen nationale oder Internationale Normen und Eigenstandards);
- die Messunsicherheit für jeden Schritt in der Rückführbarkeitskette wird nach vereinbarten Verfahren bewertet;
- jeder Schritt der Kette wird in Übereinstimmung mit geeigneten Verfahren und den Messergebnissen und damit verbundenen aufgezeichneten Messunsicherheiten durchgeführt; und

- e) die Laboratorien, die eine oder mehrere Stufen in der Kette durchführen, erbringen Nachweise über ihre technische Kompetenz.

ANMERKUNG Kalibrierlaboratorien, die die Anforderungen von ISO/IEC 17025 erfüllen, werden als kompetent angesehen. Ein Kalibrierzertifikat eines PCR-Geräts mit dem Logo einer Akkreditierungsstelle eines nach ISO/IEC 17025 akkreditierten Kalibrierlaboratoriums reicht als Nachweis für die Rückführbarkeit der angegebenen Kalibrierdaten aus.

6.4 Verfahren zur Temperatur-Leistungsprüfung

6.4.1 Allgemein

Dieses Verfahren zur Leistungsprüfung soll diejenigen Temperaturparameter des PCR-Geräts bestimmen, die das Ergebnis der PCR beeinflussen. Es kann verwendet werden, um eine Temperatur-Leistungsprüfung sowohl an PCR-Geräten als auch an Real-time-PCR-Geräten durchzuführen.

6.4.2 Kurzbeschreibung

Die Temperatur wird von Temperatursensoren bei blockbasierten PCR-Geräten direkt im Reaktionsblock bzw. bei reaktionskammerbasierten PCR-Geräten innerhalb der Reaktionsgefäße gemessen, um eine ausreichend geringe Messunsicherheit zu erreichen. Die Messung erfolgt über den gesamten Reaktionstemperaturbereich, einschließlich mindestens einer Mindest-, einer Höchst- und einer mittleren Temperatur. Falls das PCR-Gerät über einen beheizten Deckel verfügt, muss die Messung mit geschlossenem und im Betrieb befindlichem beheiztem Deckel durchgeführt werden, wenn dies physikalisch möglich ist.

6.4.3 Geräte

6.4.3.1 PCR-Gerät

Vor der Leistungsprüfung muss geprüft werden, ob das PCR-Gerät funktionsfähig ist.

Die Lüftungsöffnungen müssen sauber und frei von Verstopfungen sein, sodass eine freie Luftzirkulation gewährleistet ist.

6.4.3.2 Temperaturmesssystem

Das Temperaturmesssystem muss mindestens den folgenden Kriterien entsprechen:

- a) Multisensorsystem mit einer ausreichenden Anzahl von Temperatursensoren, um gleichzeitig in mindestens der Anzahl der erforderlichen Wells (6.4.5.1) zu messen und somit die Uniformität messen zu können;
- b) ist in der Lage, die Temperatur des beheizten Deckels mit mindestens einem Temperatursensor zu erfassen (wenn physikalisch möglich);
- c) ist in der Lage, Temperaturen dynamisch mit einer Abtastfrequenz von mindestens 2 mal pro Sekunde aufzuzeichnen, um die Rampenrate und die Überhöhung korrekt zu messen;

ANMERKUNG Bei PCR-Geräten mit Heizraten von mehr als 4 °C/s wird eine Abtastfrequenz von mindestens 4 mal pro Sekunde je Temperatursensor empfohlen.

- a) ist in der Lage, die Temperatur über den gesamten Reaktionstemperaturbereich zu erfassen;
- b) kalibrierfähig, rückführbar auf SI, über mindestens den gesamten Reaktionstemperaturbereich;
- c) Auflösung $\leq 0,01$ °C;