

DIN EN ISO 21572

ICS 67.050

Entwurf

Einsprüche bis 2012-04-06
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 21572:2004-06 und
DIN EN ISO 21572
Berichtigung 1:2005-09;
Ersatz für
E DIN EN ISO 21572:2010-12

**Lebensmittel –
Untersuchung von molekularen Biomarkern –
Proteinverfahren (ISO/DIS 21572:2011);
Deutsche Fassung prEN ISO 21572:2012**

Foodstuffs –
Molecular biomarker analysis –
Protein based methods (ISO/DIS 21572:2011);
German version prEN ISO 21572:2012

Produits alimentaires –
Analyse des biomarqueurs moléculaires –
Méthodes basées sur les protéines (ISO/DIS 21572:2011);
Version allemande prEN ISO 21572:2012

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2012-01-30 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 nal@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 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 36 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 21572:2012) wurde im Unterkomitee SC 16 "Horizontal methods for molecular biomarker analysis" (Sekretariat: ANSI, Vereinigte Staaten) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: AFNOR/ABNT, Frankreich/Brasilien) in Zusammenarbeit mit dem europäischen Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) erarbeitet. Das zuständige europäische Gremium ist die Arbeitsgruppe WG 11 „Gentechnisch modifizierte Lebensmittel“ des CEN/TC 275.

Die Mitarbeit des DIN in der CEN/TC 275/WG 11 wird vom Arbeitsausschuss „Gentechnisch modifizierte Lebensmittel“ wahrgenommen.

In den Staaten der Europäischen Union gelten seit April 2004 Verordnungen über genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel und deren Rückverfolgbarkeit (VO (EG) Nr. 1829/2003 und Nr. 1830/2003). In ihnen sind u. a. Kriterien für die Kennzeichnung von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Organismen (GVO) festgelegt. Danach müssen aus GVO hergestellte Lebensmittel zugelassen und gekennzeichnet werden. Von der Kennzeichnungspflicht ausgenommen sind Lebensmittel, die zufällig oder technisch unvermeidbare Spuren von nicht mehr als 0,9 % GVO-Material enthalten. Zur Kontrolle der Einhaltung der Kennzeichnungsvorschriften ist die Verfügbarkeit validierter Nachweisverfahren, die den in den Durchführungsbestimmungen zur Verordnung über genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel (VO EG Nr. 1831/2006) festgelegten Zulassungskriterien und Leistungsanforderungen entsprechen, unerlässlich.

Die Veröffentlichung eines zweiten Norm-Entwurfes war erforderlich, da zum ersten Norm-Entwurf sehr viele Kommentare eingegangen sind.

Das Ausgabedatum des zweiten Europäischen Norm-Entwurfs stand zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses zweiten DIN EN ISO-Entwurfs noch nicht fest; der prEN ISO wird jedoch vom CCMC unter der angegebenen prEN-Nummer demnächst zur CEN-Umfrage verteilt. Um der deutschen Öffentlichkeit eine möglichst lange Einspruchsfrist einzuräumen, wurde dieser Norm-Entwurf bereits vorab veröffentlicht.

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 21572:2004-06 und DIN EN ISO 21572 Berichtigung 1:2005-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Verweisung auf die prEN ISO 21568 wurde entfernt;
- b) im Unterschied zur Vorgängerausgabe von 2002 enthält dieser Norm-Entwurf neben dem damals bereits in Anhang A vorhandenen ELISA-Verfahren jetzt auch ein DIP-Stick-Verfahren in einem neuen Anhang B.

Lebensmittel — Untersuchung von molekularen Biomarkern — Proteinverfahren (ISO/DIS 21572:2012)

*Produits alimentaires — Analyse des biomarqueurs moléculaires — Méthodes basées sur les protéines
(ISO/DIS 21572:2012)*

Foodstuffs — Molecular Biomarker Analysis — Protein based methods (ISO/DIS 21572:2012)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokumentstufe: zweite parallele Umfrage

Dokumentsprache: D

STD Version 2.4e - RC2

Inhalt

	Seite
Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Begriffe	5
2.1 Allgemeine Begriffe	5
2.2 Begriffe im Zusammenhang mit Antikörpern	6
2.3 Begriffe im Zusammenhang mit Untersuchungsverfahren	6
2.4 Begriffe im Zusammenhang mit Kontrollen	7
2.5 Begriffe im Zusammenhang mit Validierungen	7
3 Kurzbeschreibung	10
4 Reagenzien	10
5 Laborausrüstung	10
6 Probenahme	10
7 Durchführung	10
7.1 Allgemeines	10
7.2 Herstellung der Probenlösung	11
7.3 Extraktion	11
7.4 Erstellung der Kalibrierkurven, Positivkontrollen und Referenzmaterialien	11
7.5 Durchführung	11
8 Auswertung und Angabe der Ergebnisse	12
8.1 Allgemeines	12
8.2 Quantitative und halbquantitative Untersuchung	12
8.3 Qualitative Untersuchung	12
9 Spezifische Parameter, die die Ergebnisse beeinflussen können	12
9.1 Allgemeines	12
9.2 Besondere Überlegungen	13
9.2.1 Selektivität	13
9.2.2 Extraktionseffizienz	13
9.2.3 Matrixeffekte	13
9.2.4 Anwendbarkeit des Untersuchungsverfahrens	13
9.2.5 Hook Effect	14
9.2.6 Parallelität/Linearität	14
9.2.7 Nachweisgrenzen	14
9.2.8 Bestimmungsgrenzen	14
10 Bestätigung des Verfahrens	14
11 Untersuchungsbericht	14
Anhang A (informativ) Nachweis eines Proteins mit ELISA	16
A.1 Einleitung	16
A.2 Anwendungsbereich	16
A.3 Kurzbeschreibung	17
A.4 Reagenzien	18
A.4.1 Allgemeines	18
A.4.2 Gewöhnlich mit dem Test Kit gelieferte Materialien und Reagenzien	18
A.4.3 Nicht mit dem Test Kit gelieferte Chemikalien	18
A.5 Laborausrüstung	18
A.5.1 Allgemeines	18
A.6 Durchführung	19
A.6.1 Warnhinweis und Sicherheitsvorkehrungen	19
A.6.2 Einschränkung des Verfahrens	19

	Seite
A.6.3 Probenahme	19
A.6.4 Vorbereitung der Probe	20
A.6.5 Maßnahmen zur Verhinderung einer Verunreinigung bei der Probenvorbereitung	20
A.6.6 Vorbereitung des Antikörperkonjugats	21
A.6.7 Herstellung des Waschpuffers	21
A.6.8 Durchführung der Untersuchung	21
A.6.9 Leistungsfähigkeit der Untersuchung	21
A.7 Fließschemata	24
A.8 Bewertung	24
A.9 Annahme-/Zurückweisungskriterien	25
Anhang B (informativ) Nachweis von Protein(en) durch Teststreifen	26
B.1 Einleitung	26
B.2 Anwendungsbereich	27
B.3 Kurzbeschreibung	27
B.4 Reagenzien des Test Kits und Ausrüstung	28
B.4.1 Allgemeines	28
B.4.2 Gewöhnlich mit dem Test Kit gelieferte Reagenzien und Geräte	29
B.4.3 Nicht mit dem Test Kit gelieferte Reagenzien und Geräte	29
B.5 Geräte und Laborausrüstung	29
B.5.1 Allgemeines	29
B.6 Durchführung	29
B.6.1 Warnhinweis und Sicherheitsvorkehrungen	29
B.6.2 Einschränkungen des Verfahrens	30
B.6.3 Probenahme	30
B.6.4 Durchführung des Assays	32
B.6.5 Testleistung	32
B.7 Statistische Anwendungen zur Analyse des Schwellenwertes	33
B.8 Status	33
Literaturhinweise	34

Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 21572:2012) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur zweiten parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 21572:2011 wurde vom CEN als prEN ISO 21572:2012 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt allgemeine Leitlinien und Leistungskriterien für Verfahren zum Nachweis und/oder zur quantitativen Bestimmung von spezifischen Proteinen oder interessierenden Proteinen [(POI)s] in einer spezifischen Matrix fest.

Diese allgemeinen Leitlinien gelten für vorhandene auf Antikörpern basierenden Verfahren. Auch andere Verfahren als die im Anhang A oder Anhang B aufgeführten können POIs nachweisen. Die in dieser Norm umrissenen Kriterien werden allgemein angewendet.

2 Begriffe

Diese Internationale Norm enthält datierte und undatierte Verweisungen anderer Publikationen. Für die Anwendung dieser Internationalen Norm gelten die Begriffe nach ISO 24276:2006 und die folgenden Begriffe.

2.1 Allgemeine Begriffe

2.1.1

Probe

Teilmenge einer Grundgesamtheit, die aus einer oder mehreren Auswahleinheiten besteht

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.1.2

Laborprobe

Probe, die zur Übersendung ins Labor und für die Inspektion oder Untersuchung bestimmt ist

2.1.3

Untersuchungsprobe

Probe, die zum Ermitteln oder zur Analyse aufbereitet worden ist, und die vollständig oder teilweise zum Ermitteln oder zur Analyse ein einziges Mal verwendet wird

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.1.4

Einwaage

Anteil der Untersuchungsprobe (2.1.3), die zum einmaligen Ermitteln oder zur Analyse ein einziges Mal verwendet wird

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.1.5

Matrix

zur Untersuchung vorgesehene Produkte, die Unterschiede in ihrer chemischen Zusammensetzung und physikalischem Status aufweisen

[ISO 22174:2005] [3]

2.1.6

Denaturierung von Proteinen

Behandlung (physikalisch und/oder (bio)chemisch), die die strukturellen, funktionellen, enzymatischen oder Antigen-Eigenschaften des POIs oder des Analyten zerstören oder modifizieren

2.2 Begriffe im Zusammenhang mit Antikörpern

2.2.1

Antikörper

Protein (Immunglobulin), das als Antwort auf ein als fremd erkanntes Molekül (Antigen) von B-Lymphocyten produziert und abgesondert wurde und fähig ist, dieses spezifische Antigen zu binden

2.2.2

Antigen

Substanz, die die Produktion von Antikörpern stimuliert und mit diesen reagiert

2.2.3

Klon

Population von identischen Zellen, abgeleitet von einer Einzelzelllinie

2.2.4

Kreuzreaktivität

Bindung des Antikörpers an eine Substanz, die nicht der hauptsächlich interessierende Analyt ist

2.2.5

monoklonaler Antikörper

Antikörper, der von einem einzelnen Hybridklon produziert wird und sich gegen eine einzelne antigene Determinante richtet

2.2.6

polyklonaler Antikörper

Mischung von Antikörpern, die in der Lage sind, spezifisch mit einer bestimmten immunogenen Substanz zu reagieren

[ISO 19001:2002] [4]

2.2.7

Spezifität eines Antikörpers

Fähigkeit eines Antikörpers zur spezifischen Bindung an eine antigene Determinante und nicht an andere ähnliche Strukturen von anderen Antigenen

2.3 Begriffe im Zusammenhang mit Untersuchungsverfahren

2.3.1

Konjugat

zwei oder mehr Substanzen, die an ihren chemischen Gruppen kovalent miteinander verbunden sind

BEISPIEL Konjugate von Antikörpern mit Fluorochromen (z. B. chemische Einheit, beispielsweise ein Molekül oder eine Molekülgruppe, das/die Licht, als Reaktion auf die Anregung durch die Absorption von einfallendem Licht, emittiert), radioaktiv markierte Substanzen, Gold oder Enzyme werden oft in Immunoassays verwendet.

2.3.2

Western-Blotting

Protein-Immunoblot

Übertragung eines Proteins nach elektrophoretischer Trennung, auf eine bindende Oberfläche, was mit einer Vielzahl an Verfahren sichtbar gemacht werden kann (z. B. mit einem spezifischen radioaktiv markierten oder enzym-konjugierten Antikörper, gefolgt von der Zugabe eines enzymespezifischen Substrats, um ein farbiges Reaktionsprodukt zu bilden)

2.3.3

enzymgebundener Immunosorbent-Test

ELISA

(en: enzyme linked immunosorbent assay)

für qualitative, halbquantitative oder quantitative Bestimmung genutzter In-vitro-Test, bei dem enzymgebundene Antikörper und ein Substrat ein farbiges Reaktionsprodukt bilden.

2.3.4

Test Kit

Satz aus zusammen verpackten Chemikalien, Materialien und Gebrauchsanweisungen, der für die In-vitro-Messung oder den Nachweis eines festgelegten Analyten benötigt wird

2.3.5

Teststreifen-Verfahren

Dipstick

ein qualitatives oder halbquantitatives und schnelles Verfahren, bei dem eine feste Oberfläche, wie z. B. ein Teststreifen oder Vorrichtungen, mit Antikörpern oder Analyten beschichtet und in eine Testflüssigkeit getaucht werden, um einen Test durchzuführen oder um eine Messung des Analyten in der Flüssigkeit zu ermöglichen

2.4 Begriffe im Zusammenhang mit Kontrollen

2.4.1

Referenzmaterial

Material, dessen eine oder mehrere charakteristische Eigenschaft(en) hinreichend einheitlich und stabil sind, und von dem ermittelt wurde, dass es für seine vorgesehene Verwendung in einem Messverfahren oder zur Überprüfung von nominellen Eigenschaften geeignet ist

[ISO/IEC Guide 99] [5]

2.4.2

Mess-Standard

untersuchtes Material, Messinstrument, Referenzmaterial oder Messsystem, das dafür vorgesehen ist, eine Einheit aus einer oder mehreren Größenordnungen zu definieren, zu verkörpern, zu bewahren oder zu reproduzieren, um als Referenz zu dienen, oder die Aufbereitung von bekannten Eigenschaften zur Standardisierung der Prüfung

2.5 Begriffe im Zusammenhang mit Validierungen

2.5.1

Genauigkeit

Grad der Übereinstimmung zwischen einem Ermittlungsergebnis oder einem Messergebnis und einem Bezugswert

ANMERKUNG Wenn der Begriff „Genauigkeit“ auf eine Reihe von Ermittlungsergebnissen oder Messergebnissen angewendet wird, umfasst er eine Kombination aus zufälligen Komponenten und einer Komponente für den gewöhnlichen systematischen Fehler oder die systematische Abweichung.

ANMERKUNG Für ein Prüfverfahren angewendet, bezieht sich der Begriff „Genauigkeit“ auf eine Kombination aus Richtigkeit und Präzision.

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.5.2

Präzision

Grad der Übereinstimmung zwischen voneinander unabhängigen Ermittlungsergebnissen, die unter vereinbarten Bedingungen ermittelt wurden

ANMERKUNG Die Präzision wird üblicherweise anhand der Standardabweichung angegeben.

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.5.3

systematische Abweichung

Differenz zwischen dem mathematischen Erwartungswert eines Ermittlungsergebnisses oder eines Messergebnisses und einem wahren Wert

ANMERKUNG Die systematische Abweichung ist der gesamte systematische Fehler im Gegensatz zum zufälligen Fehler. Eine oder mehrere Komponenten des systematischen Fehlers können zu der systematischen Abweichung beitragen. Eine größere systematische Differenz zum wahren Wert äußert sich durch einen größeren Wert der systematischen Abweichung.

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.5.4

Empfindlichkeit

Quotient der Änderung in der Anzeige eines Messsystems und der entsprechenden Änderung im Wert der gemessenen Quantität

ANMERKUNG Die Empfindlichkeit kann vom Wert der zu messenden Quantität abhängen. Üblicherweise wird unter Empfindlichkeit die kleinste Menge oder Konzentration des Analyten verstanden, die zuverlässig vom Hintergrund unterschieden werden kann.

[ISO/IEC Guide 99] [5]

2.5.5

Selektivität

Ausmaß, bis zu dem ein Verfahren (einen) bestimmte(n) Analyten in (einem) Gemisch(en) oder einer Matrix (Matrices) ohne Störungen durch andere Komponenten mit ähnlichem Verhalten bestimmen kann

ANMERKUNG Selektivität ist in der analytischen Chemie der empfohlene Begriff zur Angabe des Ausmaßes, bis zu dem ein bestimmtes Verfahren (einen) Analyten in Gegenwart von anderen Komponenten bestimmen kann.

[Pure Appl. Chem] [6]

2.5.6

Nachweisgrenze

LOD

(en: limit of detection)

niedrigste Konzentration oder geringster Gehalt des POI in einer definierten Menge der Matrix, der/die unter den im Verfahren festgelegten Untersuchungsbedingungen reproduzierbar nachgewiesen werden kann

[ISO 22174:2005] [3]

2.5.7

Bestimmungsgrenze

LOQ

(en: limit of quantitation)

niedrigste Konzentration oder geringster Gehalt des POI in einer definierten Menge der Matrix, der/die unter den im Verfahren festgelegten Untersuchungsbedingungen mit einer vernünftigen statistischen Wahrscheinlichkeit reproduzierbar nachgewiesen werden kann

2.5.8

Anwendbarkeitsbereich

Bereich der Quantifizierung

Linearitätsbereich

dynamischer Bereich

obere und untere Grenze der Quantifizierung, angegeben durch einen Satz an Referenzmaterialien (oder Verdünnungen) mit einem geeigneten Ausmaß an Präzision und Genauigkeit

2.5.9

Wiederholbedingungen

Beobachtungsbedingungen, bei denen voneinander unabhängige Ergebnisse nach demselben Verfahren an identischen Untersuchungseinheiten in demselben Laboratorium von demselben Bearbeiter mit derselben Geräteausrüstung innerhalb einer kurzen Zeitspanne ermittelt werden

ANMERKUNG Die Wiederholbedingungen umfassen: dasselbe Messverfahren oder Ermittlungsverfahren, denselben Bearbeiter, dieselbe Geräteausrüstung, die unter denselben Bedingungen benutzt wird, denselben Ort und die Wiederholung innerhalb einer kurzen Zeitspanne.

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.5.10

Wiederholpräzision

Präzision unter Wiederholbedingungen (2.5.9)

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.5.11

Wiederholgrenze

r

Wert, unter dem oder gleich dem der Betrag der Differenz zwischen zwei unter Wiederholbedingungen gewonnenen Ermittlungsergebnissen mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % erwartet werden kann.

[ISO 5725-1:1994] [2]

2.5.12

Wiederholstandardabweichung

Standardabweichung von Ermittlungs- oder Messergebnissen, die unter Wiederholbedingungen (2.5.9) ermittelt werden

ANMERKUNG Sie ist ein Maß für die Streuung der Verteilung der Ermittlungs- oder Messergebnisse unter Wiederholbedingungen.

ANMERKUNG In gleicher Weise können „Wiederholvarianz“ und ein „Wiederholvariationskoeffizient“ definiert werden; diese können als Maß für die Streuung der Ermittlungs- oder Messergebnisse, Wiederholbedingungen benutzt werden.

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.5.13

Vergleichbedingungen

Beobachtungsbedingungen, bei denen voneinander unabhängige Ergebnisse erhalten werden, die mit demselben Verfahren an identischen Untersuchungseinheiten in verschiedenen Laboratorien von verschiedenen Bearbeitern mit verschiedener Geräteausrüstung gewonnen wurden

[ISO 3534-2:2006] [1]

2.5.14

Vergleichpräzision

Präzision unter Vergleichbedingungen (2.5.13)

[ISO 3534-2:2006] [1]

[ISO 78-2:1999] [7]

2.5.15

Vergleichgrenze

R

Wert, unter dem oder gleich dem der Betrag der Differenz zwischen zwei unter Vergleichbedingungen gewonnenen Ermittlungsergebnissen mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % erwartet werden kann

[ISO 5725-1:1994] [2]