

E DIN EN 15634-6:2026-02 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2026-01-09

Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 6: Weizen (*Triticum L.*) and Roggen (*Secale cereale*) - Qualitativer Nachweis einer spezifischen DNA-Sequenz in Brühwürsten mittels Real-time PCR; Deutsche und Englische Fassung prEN 15634-6:2026

Foodstuffs - Detection of food allergens by molecular biological methods - Part 6: Wheat (*Triticum L.*) and Rye (*Secale cereale*) - Qualitative detection of a specific DNA sequence in cooked sausages by real-time PCR; German and English version prEN 15634-6:2026

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	6
Einleitung	7
1 Anwendungsbereich.....	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	8
4 Kurzbeschreibung.....	8
5 Reagenzien	9
5.1 Allgemeines.....	9
5.2 Reagenzien für die Extraktion.....	9
5.3 DNA-Aufreinigung mittels Festphasenextraktion	10
5.4 Reagenzien für die Real-time-PCR.....	10
5.4.1 Mastermix für die Real-time-PCR, der thermostabile DNA-Polymerase (für Hot-Start-PCR) und PCR-Pufferlösung (mit Reaktionspuffer, dNTPs und MgCl ₂) enthält, als verdünnbares Konzentrat	10
5.4.2 Oligonukleotide	10
6 Gerät und Ausstattung	10
6.1 Allgemeines.....	10
6.2 DNA-Extraktion.....	11
6.3 PCR.....	11
7 Durchführung	11
7.1 Allgemeines.....	11
7.2 Probenherstellung.....	11
7.3 Herstellung der DNA-Extrakte	12
7.3.1 DNA-Extraktion mittels CTAB und DNA-Aufreinigung.....	12
7.3.2 Optionale Quantifizierung der DNA-Konzentration.....	13
7.4 Spezifikationen für die Real-time-PCR.....	13
7.4.1 Reaktionsgemisch für die Real-time-PCR.....	13
7.4.2 Positivkontrolle der DNA-Targets	14
7.4.3 Negativkontrolle der DNA-Targets	14
7.4.4 Amplifikations-Reagenzienkontrolle	15
7.4.5 Negative Extraktionskontrolle.....	15
7.4.6 Positive Extraktionskontrolle	15
7.4.7 Temperatur/Zeit-Programm (Real-time-PCR).....	15
7.4.8 Kriterien für die Annahme bzw. Zurückweisung.....	15
7.4.9 Identifizierung.....	16

8	Validierung	16
8.1	Allgemeines	16
8.2	Spezifität	16
8.3	Empfindlichkeit	17
8.4	Ringversuch zur Validierung des Verfahrens	17
8.4.1	Aufbau des Ringversuchs	17
8.4.2	Abweichungen vom Ringversuchsprotokoll	19
8.4.3	Ergebnisse der Validierung mittels Ringversuch	19
9	Untersuchungsbericht	22
	Literaturhinweise	23

Tabellen

Tabelle 1	— Primer und Sonden für die Real-time-PCR	10
Tabelle 2	— Reaktionsgemisch für die Real-time-PCR	14
Tabelle 3	— Temperatur/Zeit-Programm für Reaktionsgefäße aus Kunststoff	15
Tabelle 4	— Arten-/sortenspezifische Variation der Ct-Werte (DNA-Gehalt von 10 ng/µl, mittels PCR analysiert)	17
Tabelle 5	— Für den Ringversuch verwendete Materialien	18
Tabelle 6	— Verdünnungsschema für die Positivkontrolle	18
Tabelle 7	— Ringversuch: Weizen-DNA, Real-time-PCR-Geräte und Ergebnisse für die Verdünnungsreihe	19
Tabelle 8	— Qualitative Auswertung des Ringversuchs für Weizen/Roggen	21