

E DIN EN 15634-9:2026-02 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2026-01-09

Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 9: Fisch - Qualitativer Nachweis einer spezifischen DNA-Sequenz in Lebensmitteln mittels Real-time PCR; Deutsche und Englische Fassung prEN 15634-9:2026

Foodstuffs - Detection of food allergens by molecular biological methods - Part 9: Fish - Qualitative detection of a specific DNA sequence in food by real-time PCR; German and English version prEN 15634-9:2026

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 Reagenzien für die Real-time-PCR	11
5.3.1 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 verdünntbares Konzentrat.	11
5.3.2 Oligonukleotide	11
6 Gerät und Ausstattung.....	11
6.1 Allgemeines.....	11
6.2 DNA-Extraktion.....	11
6.3 PCR	12
7 Durchführung.....	12
7.1 Allgemeines.....	12
7.2 Probenherstellung.....	12
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.....	14
7.4 Spezifikationen für die Real-time-PCR.....	14
7.4.1 Reaktionsgemisch für die Real-time-PCR.....	14
7.4.2 Positivkontrolle der DNA-Targets	15
7.4.3 Negativkontrolle der DNA-Targets	16
7.4.4 Amplifikations-Reagenzienkontrolle	16
7.4.5 Negative Extraktionskontrolle.....	16
7.4.6 Positive Extraktionskontrolle	16
7.4.7 Temperatur/Zeit-Programm (Real-time-PCR).....	16
7.4.8 Kriterien für die Annahme bzw. Zurückweisung.....	16
7.4.9 Identifizierung.....	17
8 Validierung.....	17
8.1 Allgemeines.....	17

8.2	Spezifität	17
8.3	Empfindlichkeit	18
8.4	Ringversuch zur Validierung des Verfahrens	18
8.4.1	Aufbau des Ringversuchs.....	18
8.4.2	Abweichungen vom Ringversuchsprotokoll	20
8.4.3	Ergebnisse der Validierung mittels Ringversuch	20
9	Untersuchungsbericht.....	23
	Literaturhinweise.....	24

Tabellen

Tabelle 1	— Primer und Sonden für die Real-time-PCR.....	11
Tabelle 2	— Reaktionsgemisch für die Real-time-PCR.....	15
Tabelle 3	— Temperatur/Zeit-Programm für Reaktionsgefäße aus Kunststoff.....	16
Tabelle 4	— Reaktionswerte zu ausgewählten Fischarten (siehe [2]) (Ct-Werte; DNA-Gehalt von jeweils 20 ng/µl).....	18
Tabelle 5	— Für den Ringversuch verwendete Materialien	19
Tabelle 6	— Verdünnungsschema für die Positivkontrolle.....	19
Tabelle 7	— Ringversuch: Kabeljau-DNA, Real-time-PCR-Geräte und Ergebnisse für die Verdünnungsreihe	20
Tabelle 8	— Qualitative Auswertung des Ringversuchs für Fisch.....	22