

# DIN EN 15634-2:2019-12 (D)

## Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 2: Sellerie (*Apium graveolens*) - Nachweis einer spezifischen DNA-Sequenz in Brühwürsten mittels Real-time-PCR; Deutsche Fassung EN 15634-2:2019

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	4
Einleitung .....	5
1 Anwendungsbereich.....	6
2 Normative Verweisungen .....	6
3 Begriffe .....	6
4 Kurzbeschreibung.....	6
5 Reagenzien .....	7
5.1 Allgemeines.....	7
5.2 Extraktionsreagenzien .....	7
5.3 DNA-Reinigung mittels Festphasenextraktion .....	8
5.4 Reagenzien für die Real-time-PCR .....	8
6 Geräte und Ausrüstungen.....	8
6.1 Allgemeines.....	8
6.2 DNA-Extraktion.....	9
6.3 PCR.....	9
7 Durchführung .....	9
7.1 Allgemeines.....	9
7.2 Probenvorbereitung.....	9
7.3 Herstellung der Extrakte .....	10
7.3.1 DNA-Extraktion mit CTAB und DNA-Reinigung.....	10
7.3.2 Quantitative Bestimmung und Normalisierung der DNA-Konzentration.....	11
7.4 Ansatz für die Real-time-PCR.....	11
7.4.1 Reaktionsgemisch für die Real-time-PCR.....	11
7.4.2 Positivkontrolle für DNA-Targets .....	12
7.4.3 Negativkontrolle für DNA-Targets.....	12
7.4.4 PCR-Inhibitionskontrolle.....	13
7.4.5 Amplifikations-Reagenzienkontrolle .....	13
7.4.6 Negative Extraktionskontrolle.....	13
7.4.7 Positive Extraktionskontrolle .....	13
7.4.8 Temperatur-Zeit-Programm (Real-time-PCR).....	13
7.4.9 Kriterien für die Annahme bzw. Zurückweisung.....	14
7.4.10 Identifizierung.....	14
8 Angabe der Ergebnisse .....	15
8.1 Angabe eines positiven Ergebnisses .....	15
8.2 Angabe eines negativen Ergebnisses .....	15
8.3 Unklare Ergebnisse.....	15
9 Validierung.....	15
9.1 Allgemeines.....	15
9.2 Laborinterne Validierung.....	15
9.2.1 Probenart und -mengen für die laborinterne Validierung.....	15
9.2.2 Laborinterne Daten .....	16

9.2.3	Selektivität .....	17
9.3	Ringversuch-Validierung.....	18
9.3.1	Aufbau des Ringversuchs.....	18
9.3.2	Ergebnisse der Ringversuch-Validierung.....	19
10	Untersuchungsbericht.....	20
	Literaturhinweise .....	21