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