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 MgCl2) 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**