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 verdünnbares 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