



Nachweis und semiquantitative Bestimmung von Pferde-DNA mittels Real-Time PCR

Hintergrund

In den letzten Monaten wurde vermehrt in rindfleischhaltigen Lebensmitteln, die nicht deklarierte und somit unzulässige Beimengung von Pferdefleisch detektiert. Dieses stellt den Tatbestand der Täuschung und Irreführung des Verbrauchers dar.

Zur Absicherung der Produktreinheit und zur Kontrolle der Deklaration bei Fleischerzeugnissen hinsichtlich der verwendeten Tierarten gibt es die Möglichkeit, diese mittels DNA-basierten Nachweisverfahren zu überprüfen. Als Standardmethode zum Nachweis von Pferdefleisch (und anderen Tierarten) hat sich die Real-Time Polymerasekettenreaktion (Real-Time PCR) etabliert.

Analytik

Das Institut Kirchhoff Berlin verfügt über umfangreiche Kompetenz auf dem Gebiet der Tierartenbestimmung und hat ein breites Spektrum an DNA-basierten Nachweisverfahren etabliert. Zum Nachweis von Pferde-DNA verwendet das Institut Kirchhoff Berlin eine Multiplexmethode nach Köppel *et al.* 2010. Diese ermöglicht den simultanen Nachweis von Rind, Schwein, Schaf und Pferd in rohen und erhitzten Lebensmitteln. Dazu wird zeitgleich ein für die jeweilige Spezies spezifisches DNA-Fragment vermehrt und mit Hilfe unterschiedlich fluoreszenzmarkierter Sonden nachgewiesen (siehe Abbildung).

Der Nachweis erfolgt zunächst qualitativ. Liegt ein positiver Befund vor, kann eine semiquantitative Abschätzung über den prozentualen Anteil von Pferde-DNA an der Gesamt-DNA aller nachgewiesenen Tierarten erfolgen. Die Ergebnisangabe erfolgt in **DNA%**, die Nachweisgrenze liegt bei ca. 0,5%. Positive Ergebnisse werden zusätzlich aus einem zweiten Homogenisat abgesichert. Außerdem kann zur Absicherung der Nachweis pferdespezifischer Proteine mittels Immunchemischem Test (ELISA) durchgeführt werden. Spezifische Antikörper binden dabei an Pferdeproteine und werden anschließend über eine enzymatische Farbreaktion nachgewiesen.

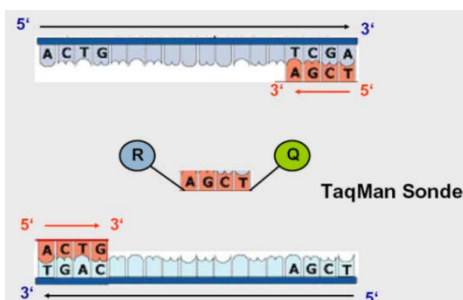


Abb.: Real-Time PCR; DNA-Einzelstränge mit angelagerten Primern und fluoreszenzmarkierter Sonde

(Verfasser: E. Becker / Stand: März 2013)

Untersuchungsdauer

PCR qualitativ 3 Tage

PCR semiquantitativ 5Tage

ELISA (quantitativ) 3 Tage

Express (alle Analysen) 24h

Ansprechpartner:

Institut Kirchhoff Berlin GmbH

Kirmse, Nils

staatl. gepr. Dipl.-Lebensmittelchemiker

Tel.: +49 (0) 30 85 10 28-116

Mail: NK@institut-kirchhoff.de