

ADR-Empfehlung 1.11

Durchführung von Hemmstofftests nach § 35 LMBG (L01.01-5) im Rahmen der Untersuchungen nach Milch-Güte-VO

Ziel dieser ADR-Empfehlung ist es, den aktuellen Stand der guten fachlichen Praxis bei der Anwendung von Hemmstofftests nach dem Prinzip des Brillantschwarz-Reduktionstests darzustellen.

Entsprechend § 2 Milch-GüteVO sind im Rahmen der Güteprüfung und Bezahlung der Anlieferungsmilch in Deutschland Untersuchungen nach der Methode L01.01-5 der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) durchzuführen.

Die Einhaltung der folgenden Punkte wird aus Gründen der Absicherung und Validierung der Ergebnisse empfohlen:

1. Anforderungen an das Testsystem

- 1.1 Tests, die von den Verbänden der ADR im Rahmen der Milch-Güteuntersuchungen eingesetzt werden, sollen von der Bundesanstalt für Milchforschung (BAfM), Kiel, als für diesen Zweck grundsätzlich geeignet beurteilt worden sein. Testsysteme, die neu auf den Markt kommen, sollen vor dem ersten Einsatz im Rahmen der Milch-Güteprüfung eine **Eignungsprüfung** an der BAfM durchlaufen und als geeignet beurteilt worden sein.
- 1.2 Zusätzlich soll mindestens einmal pro Jahr aus jedem Labor eine Platte der aktuell verwendeten **Testcharge** bei einem unabhängigen Institut geprüft werden.
- 1.3 Für jede verwendete Charge eines Testsystems soll ein Zertifikat über die **Nachweisempfindlichkeit**¹ dieser Charge gegenüber Penicillin G vorliegen.
- 1.4 Für jede verwendete Charge eines **Positiv-Standards** soll ein Zertifikat darüber vorliegen, dass der Standard 4µg Penicillin G pro kg Milch enthält (mit einer Toleranz von +/- 0,5 µg /kg). Der verwendete Negativstandard ist zu definieren (z.B. hinsichtlich der Zusammensetzung wie Magermilch/Vollmilch).¹

2. Anforderungen an die Testdurchführung

- 2.1 Bei einer **Konservierung** der Proben sind die Angaben des Hemmstofftestherstellers zur Ablesung zu beachten. Hierbei ist auch sicherzustellen, dass die Negativ- und Positivstandards mit dem selben Konservierungsmittel in der gleichen Konzentration wie die Proben konserviert sind.

¹ Nachweisempfindlichkeit – ist die Konzentration an Penicillin G, bei der 95 % der Prüfergebnisse als positiv bewertet werden.

Werden **Konservierungsmittel** verwendet, hat das untersuchende Labor sicherzustellen, dass durch Art und Konzentration des Mittels keine unbeabsichtigte Beeinflussung des Hemmstofftests erfolgt.

Für **Probenahme** sowie **Lagerung** der Proben sind verbindliche Handlungsanweisungen vom Labor vorzuschreiben.

- 2.2 Für die Handhabung der **Pipettierung** und die **Belegung der Kavitäten** wird empfohlen, im Labor eine einheitliche und für alle verbindliche Arbeitsanweisung aufzulegen.
- 2.3 Auch für **Verschleppungsprüfungen** (Leergut, Probenahme, Pipettierung) sollten auf Laborebene konkrete Arbeitsanweisungen vorliegen, die den speziellen Vorortverhältnissen in der Probenahme Rechnung tragen.
- 2.4 Bei jedem Testansatz sind jeweils mindestens eine **Positiv- und Negativkontrolle** mit zu führen.
- 2.5 Temperatur bei der **Inkubation** ist von der Art des Inkubators abhängig und daher nach den Herstellerangaben einzustellen. Die Einhaltung der Temperaturen (z.B. 65 ° C +/- 1°C im Wasserbad) ist zu kontrollieren und zu dokumentieren.
- 2.6 Der Ablesezeitpunkt richtet sich nach der Entfärbung der Negativkontrolle gemäß Herstellerangabe.
- 2.7 „Hemmstoff-positiv“-Ergebnisse sind durch **Mehrfachansatz** der jeweiligen Probe mit demselben Testsystem abzusichern.
- 2.8 Der **pH-Wert** der Probe ist im Falle der hemmstoff-positiven Bewertung zu ermitteln, und bei Unterschreitung der vom Hersteller angegebenen pH-Werte ist von einer Bewertung der Probe abzusehen.

Anmerkung:

- Die Methode L01.01.-5 nach LMBG § 35 sieht keine zusätzlichen Bestätigungstests (Identifizierung) positiver Proben vor.
- Nach der Milch-Güte VO sind **alle nach L01.01.-5 untersuchten positiven Proben auch als hemmstoff-positiv** zu werten.
- Als gängige Praxis wird die Bestätigung **penicillinhaltiger** Proben mit einem **Penasetest** durchgeführt.
- In der gleichen Weise ist auch eine Bestätigung von **Sulfonamiden** mit **4-Aminobenzoessäure** (PABA) möglich.
- Diese Grobdifferenzierung ist nicht verpflichtend. Auch penicillin- und sulfonamid-negative Ergebnisse sind als hemmstoff-positive Ergebnisse zu werten, wenn der Test nach LMBG-Methode positiv ist.
- Zur Inaktivierung von thermolabilen milchoriginären Hemmstoffen kann auch eine **Nacherhitzung** der Probe bei 80°C für 10 min durchgeführt werden, der eine

Nachuntersuchung mit dem Brillantschwarz Reduktionstest folgt. Unabhängig vom Ergebnis der Nachuntersuchung ist aber bei der Milch-Gütebewertung nach § 35 LMBG L 01.01-5 das Ergebnis aus der nicht erhitzten Probe als verbindlich zu bewerten.

3. Protokollierung der Testergebnisse, Ergebnisermittlung

3.1 Folgende Daten sind regelmäßig im Zusammenhang mit der Untersuchung auf Hemmstoffe zu erfassen und aufzubewahren. Diese Angaben können auch - insbesondere bei elektronischer Bereitstellung - generalisiert hinterlegt sein:

- **Identität der Probe** (Güteprobe, Sonderprobe, etc.),
- **Zuordnung zu Lieferant bzw. Auftraggeber,**
- **Datum der Probenahme,**
- **Art der Probenahme,**
- **Identität des Probenahmesystems** (Milchsammelfahrzeug) bzw. des Probenehmers (bei Handprobe). Sollte, wenn nicht direkt im untersuchenden Labor dokumentiert, über die Aufzeichnungen der Molkerei im Bedarfsfall belegbar sein,
- Art der Konservierung,
- Art und Dauer der **Lagerung** und des **Transports** zum Labor (ggf.Lagersystems),
- **Identität des Untersuchers,**
- Hersteller und Typ des **Testsystems, Chargenbezeichnung** des Testsystems,
- Datum und Zeitpunkt der Untersuchung und der **Bestätigungsuntersuchung,**
- **Ergebnis der Untersuchung.**

3.2 Mitteilung der Untersuchungsergebnisse

Die Mitteilungspflicht für die untersuchende Stelle im Sinne der Milch-Güte-VO ergibt sich aus der Verordnung bzw. aus den hierzu weitergehenden Ländererlassen.

Im Sinne einer guten Laborpraxis sollten folgende Fragen aber an Hand der internen Aufzeichnungen und Prüfberichte ausreichend beantwortet werden:

Wer (Untersucher, Laborleiter, EDV-System)
hat an wen (Molkerei, Erzeuger, Veterinäramt),
wann,
was (Hemmstoff-positiv-Ergebnis),
wie (Fax, e-mail, Telefon)
mitgeteilt !?!

4. Inkrafttreten

Die Empfehlung tritt zum 01.01.2003 in Kraft.

© Alle Rechte vorbehalten, insbesondere das Recht auf Vervielfältigung und Verbreitung sowie Übersetzung. Kein Teil dieses Textes darf in irgendeiner Form ohne schriftliche Genehmigung von der ADR reproduziert werden oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.