

DLQ-Richtlinie 1.11

Durchführung von Hemmstofftests nach § 64 LFGB (L01.01-5) im Rahmen der Untersuchungen nach Milch-Güteverordnung (MilchGüV)

Ziel dieser DLQ-Richtlinie ist es, den aktuellen Stand der guten fachlichen Praxis bei der Anwendung von Hemmstofftests nach dem Prinzip des Brillantschwarz-Reduktionstests ergänzend zu der o.g. Methode darzustellen.

Entsprechend § 2 MilchGüV sind im Rahmen der Güteprüfung und Bezahlung der Anlieferungsmilch in Deutschland Untersuchungen nach der Methode L01.01-5 der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren (ASU) nach § 64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) durchzuführen. Die Bewertung von Ergebnissen nach der MilchGüV ist nicht Gegenstand dieser Richtlinie.

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 des DLQ im Rahmen der Milch-Güteuntersuchungen eingesetzt werden, sollen von der für das Bundesgebiet zuständigen Prüfeinrichtung 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 die zuständige Prüfeinrichtung durchlaufen.
- 1.2 Zusätzlich soll mindestens einmal pro Jahr jedes Labor an einer Eignungsprüfung teilnehmen, die von einem geeigneten Institut ausgewertet wird.
- 1.3 Für jede verwendete Charge eines Testsystems soll ein Zertifikat über die **Sensitivität**¹ dieser Charge gegenüber Penicillin G vorliegen.
- 1.4 Für jede verwendete Charge eines **Positiv-Standards** soll ein Zertifikat vom Hersteller darüber vorliegen, dass der Standard 4µg Penicillin G pro kg Milch enthält (mit einer Toleranz von max. +/- 0,5 µg /kg). Der verwendete Negativstandard ist zu definieren (z.B. hinsichtlich der Zusammensetzung wie Magermilch/Vollmilch).

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

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 gleichen Konservierungsmittel in derselben Konzentration wie die zu untersuchenden Proben konserviert sind.
Werden **Konservierungsmittel** verwendet, hat das untersuchende Labor sicherzustellen, dass durch Art und Konzentration des Mittels keine unbeabsichtigte Beeinflussung des Hemmstofftests erfolgt.
- 2.2 Die Durchführung der **Pipettierung** und die **Belegung der Kavitäten** sollten möglichst detailliert in der Arbeitsanweisung des Labors beschrieben sein.
- 2.3 Bei jedem Testansatz sind jeweils mindestens eine **Positiv- und Negativkontrolle** mit zu führen.
- 2.4 Die Temperatur bei der **Inkubation** ist von der Art des Inkubators abhängig und daher nach den Herstellerangaben einzustellen. Die Einhaltung der Temperatur (z.B. 65 ° C +/- 1°C im Wasserbad) ist zu kontrollieren und zu dokumentieren.
- 2.5 Der früheste Zeitpunkt der Testauswertung richtet sich nach der Entfärbung der Negativkontrolle gemäß Herstellerangabe.
- 2.6 „Hemmstoff-positiv“-Ergebnisse sind durch **Mehrfachansatz** der jeweiligen Probe mit dem gleichen Testsystem abzusichern.
- 2.7 Der **pH-Wert** der Probe ist im Falle eines hemmstoff-positiven Ergebnisses zu ermitteln, und bei Unterschreitung der vom Hersteller angegebenen pH-Werte bzw. ggfs. Überschreitung ist von einer Bewertung der Probe abzusehen.

Anmerkungen zu weiterführenden Untersuchungen:

- Die Methode L01.01-5 nach LFGB § 64 sieht keine zusätzlichen Bestätigungstests (Identifizierung) positiver Proben vor.
- Eine Identifizierung **penicillinhaltiger** Proben kann mit einem **Penasetest** durchgeführt werden. Es können auch validierte Rezeptortests spezifisch auf β -Lactame verwendet werden.
- In der gleichen Weise ist auch eine Bestätigung von **Sulfonamiden** mit **4-Aminobenzoessäure (PABA)** möglich.
- Zur Identifizierung von thermolabilen milchoriginären Hemmstoffen kann eine **Erhitzung** der Probe auf 80°C für 10 min durchgeführt werden, der eine Nachuntersuchung mit dem Brillantschwarz Reduktionstest folgt.

3. Protokollierung der Testergebnisse, Ergebnisermittlung

3.1 Folgende Daten im Zusammenhang mit der Untersuchung auf Hemmstoffe sollten dokumentiert sein. Diese Angaben können auch - insbesondere bei elektronischer Bereitstellung – gegebenenfalls 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 Probennehmers (bei Handprobe), Art und Dauer der **Lagerung** und des **Transports** zum Labor (ggf. Lagersystems), sollten, wenn nicht direkt im untersuchenden Labor dokumentiert, über die Aufzeichnungen der Molkerei im Bedarfsfall belegbar sein,
- Ggf. Art der **Konservierung,**
- **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 MilchGüV 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 01.12.2014 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 des DLQ reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.