

Stellungnahme des BgVV zur Durchführung eines Forschungsvorhabens zum SRM (specified risk material)-Nachweis

Stellungnahme des BgVV vom 1.4.1998

Als Grundlage für den Forschungsantrag verweisen die Antragsteller auf die Entscheidung 97/534/EG der Kommission vom 30. Juli 1997 über das Verbot der Verwendung von Material angesichts der Möglichkeit der Übertragung transmissibler spongiformer Enzephalopathien. In Artikel 1 dieser Entscheidung wird die Verwendung von spezifiziertem Risikomaterial (SRM) wie Gehirn und Rückenmark von Rind, Schaf und Ziege zu jeglichem Zweck untersagt.

Das Inkrafttreten dieser Entscheidung wurde auf den 1.4.1998 verschoben, um substantielle Veränderungen am Entscheidungstext vornehmen zu können. Der Forschungsantrag kommt daher möglicherweise verfrüht, da er sich auf einen noch nicht endgültig festgelegten Entscheidungstext stützt.

Im Sinne dieser Entscheidung wird spezifiziertes Risikomaterial wie folgt definiert:

- Schädel, einschließlich Gehirn und Augen, Mandeln sowie Rückenmark
 - von über 12 Monate alten Rindern, sowie
 - von Schafen und Ziegen, die über 12 Monate alt sind oder bei denen ein permanenter Schneidezahn das Zahnfleisch durchbrochen hat.
- Weiterhin ist die Milz von Schafen und Ziegen als SRM zu betrachten.

Darüber hinaus wird in Artikel 3 dieser Entscheidung die Verwendung der Wirbelsäule von Rindern, Schafen und Ziegen zur Gewinnung von Separatorenfleisch verboten. Artikel 5 verpflichtet die Mitgliedstaaten der EU, insbesondere in Schlachthöfen, Zerlegungsbetrieben, Lagerhäusern und Tierkörperverwertungsanstalten regelmäßig amtliche Kontrollen durchzuführen, um die ordnungsgemäße Anwendung dieser Richtlinie zu gewährleisten.

In ihren Erwägungsgründen (Nr. 19) führt die Entscheidung weiter aus, daß es keine wirksamen Kontrollen oder Tests gibt, mit denen festgestellt werden kann, ob bei der Herstellung von Erzeugnissen bestimmte Gewebe verwendet wurden. Die Entscheidung hat daher folgerichtig bereits am Ort der Gewinnung von SRM eine weitere Verwendung dieser Materialien für jeglichen Zweck ausgeschlossen.

Während die Entscheidung 97/534/EG aus den o.g. Gründen Vorschriften für die Kanalisierung von SRM bei der Schlachtung und Zerlegung vorschreibt, schlagen die Antragsteller zur Kontrolle der Einhaltung dieser Entscheidung weitergehende Schutzmaßnahmen für den Verbraucher im Rahmen der Lebensmittelüberwachung von Erzeugnissen vor. Sie empfehlen den Einsatz eines Schnelltests in Verbindung mit einem Referenzverfahren. Beide Methoden sind Bestandteile des von den Antragstellern vorgeschlagenen Forschungsvorhabens.

Der vorgeschlagene **Schnelltest**¹ basiert auf einem enzymatischen Nachweis von Cholesterin in zentralnervösem Gewebe und entspricht dem Verfahren zur Bestimmung des Cholesteringe-

¹ Lückner, E. und M. Bülte (1997): Verfahren zum Nachweis von im Hinblick auf die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) unerwünschten Zutaten in Fleischerzeugnissen. 1. Enzymatische Cholesterinbestimmung als Schnellverfahren zur Erfassung von Hirngewebe. Fleischwirtsch. 77 (9), 836-840

haltes in Eiprodukten nach der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetz (LMBG)².

Das vorgeschlagene **Referenzverfahren** zur Identifizierung von Rückenmark und Hirn in Fleischerzeugnissen basiert auf der Extraktion einer Proteinfraktion aus dem untersuchten Lebensmittel und seiner Auftrennung in einer SDS-Gelelektrophorese sowie einem Western-Blot-Immunoassay. Für die Identifizierung im Immunoassay werden mono- bzw. polyklonale Antikörper gegen die für das Zentralnervensystem spezifischen monomeren γ -Enolasen bzw. neurosenspezifischen Enolasen (NSE) verwendet.

Bei den vorgeschlagenen Nachweisverfahren handelt es sich nicht um einen BSE-spezifischen Nachweis, sondern um Detektionsverfahren von spezifischen Gewebearten wie Hirn und Rückenmark. In den allgemeinen Begriffsbestimmungen der Leitsätze des Deutschen Lebensmittelbuches (1994)³ werden unter Nr. 1.5 Hirn, Bries und Milz zu den Innereien gezählt, die Ausgangsmaterial für die Herstellung von Fleischerzeugnissen sein können. Innereien können z.B. bei Lungenwurst den Anteil von Bindegewebe bis zu 10% ersetzen. Bregenwurst kann als Rohwurst Hirn enthalten.

Der tatsächliche Umfang des Einsatzes von SRM in Lebensmitteln wird von den Antragstellern zumindest für Deutschland jedoch deutlich überschätzt. So müssen auch die als „Bregenwurst“⁴ bzw. „Hannoversche Bregenwurst“⁴ bezeichneten Würste nach Ansicht regionaler Sachverständiger kein Hirn enthalten (Koch et. al., 1992)⁴. Das Deutsche Lebensmittelbuch geht in seinen Leitsätzen von 1994³, in denen Rezepturen für Fleischerzeugnisse veröffentlicht sind, bei „Landbregenwurst“, „Hirnwurst“, „Hirnwürstchen“, „Blutbregenwurst“ und „Hirnpastete“ jedoch nicht auf die von Koch et al. (1992)⁴ beschriebene gängige Praxis ein, Hirn durch andere Innereien oder Fleisch zu ersetzen.

Qualitätsgrenzen für Fleischerzeugnisse orientieren sich weitgehend an sog. BEFFE (Bindegewebe-seiweiß-freies Fleischeiweiß)-Werten. In einer Gruppe gleichlautender Fleischerzeugnisse ist ein höherer BEFFE-Wert danach gleichbedeutend mit einer höheren Qualität eines Erzeugnisses. In diesem Sinne bedeutet der Zusatz von Hirn eine prozentuale Reduktion des BEFFE-Wertes für das betreffende Erzeugnis. Dies zieht i.d.R. eine Wertminderung des Erzeugnisses nach sich. Hirn ist somit bei rechtskonformer kein preiswerter Ersatz für hochwertige Ausgangsmaterialien.

Die in der von den Antragstellern vorgelegten Publikation „Verfahren zum Nachweis von im Hinblick auf die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) unerwünschten Zutaten in Fleischerzeugnissen“¹ vorgestellten Einzelergebnisse von Probenmaterial aus dem Handel belegen, daß Hirn in der Praxis nicht zu den üblichen Rezepturbestandteilen von Brüh- und Kochwurst zählt. Die Ergebnisse geben gleichzeitig ein Bild für die Eignung des enzymatisch-photometrischen Verfahrens zur Untersuchung von Verdachtsproben. Das vorgestellte enzymatische Verfahren zeichnet sich danach durch einen geringen instrumentellen Aufwand, einen niedrigen analytischen Schwierigkeitsgrad und eine beachtliche Präzision und Richtigkeit bezüglich des Cholesteringehaltes im Untersuchungsmaterial aus. Die Schwächen dieses Verfahrens zeigen sich jedoch, wenn Wurst untersucht wird, in der Hirn durch andere Innereien wie Leber oder Niere (oder Ei) ersetzt wurde. In diesen Fällen scheint der Cholesteringehalt im Hinblick auf eine Abschätzung des Zusatzes von Hirn oder Rückenmark weniger aussagekräftig zu sein. Unklar

² Anonym (1992): Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung des Cholesteringehaltes in Eiern und Eiprodukten. Enzymatisches Verfahren. L-05.00-17, Bd. I/1b. In: Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG. Hrsg: BgVV. Beuth Verlag, Berlin

³ Anonym (1994): Deutsches Lebensmittelbuch, Leitsätze 1994. BAnz., Jhrg. 46, Nr. 199a vom 20. Oktober 1994

⁴ Koch, H., H. Fuchs und H. Gemmer (1992): Die Fabrikation feiner Fleisch- und Wurstwaren, 20. Auflage, Verlagsgesellschaft Deutscher Fachverlag, S. 142, 170, 174, 182, 210, 220, 268, 334

bleibt, welchen Einfluß Fleischabschnitte mit einem erhöhten Anteil an peripheren Nerven (z.B. Plexus) auf die Spezifität des Verfahrens haben.

Das vorgeschlagene **Referenzverfahren** zur Identifizierung von Rückenmark und Hirn in Fleischerzeugnissen, das in einem unveröffentlichten Manuskript vorgestellt wird, beruht auf einem Immunoassay zum Nachweis von γ -Enolase bzw. neuronenspezifischen Enolase (NSE).

Während die enzymatisch-photometrische Methode verfahrenstechnisch genau beschrieben und in seiner praktischen Anwendung an einigen Materialien erprobt ist, bleiben in dem vorgelegten Manuskript zum Referenzverfahren noch zahlreiche Fragen offen.

Unter anderem scheint das immunhistochemische Verfahren für den Nachweis von NSE wenig erfolgversprechend zu sein. Es ist anzunehmen, daß die monoklonalen Antikörper gegen NSE eine Kreuzreaktivität z.B. gegenüber Hirnmaterial vom Pferd, Schwein, Rind, Ziege und Schaf zeigen. Auf diesen Sachverhalt wird im Manuskript nicht eingegangen. Der Hersteller der verwendeten monoklonalen Antikörper (Fa. DAKO) gibt in seinen Produktinformationen eine starke Kreuzreaktivität in einer immunocytochemischen Reaktion unter Nutzung der Neuron-Specific-Enolase (Clone BBS/NC/VI-H14) zwischen Katze, Rind, (Ziege), Pferd, Maus, Ratte und Schwein an⁵.

Daß die technologischen Einflüsse bei der Wurstherstellung den Nachweis von Hirngewebe in der Wurst in starkem Ausmaß beeinflussen, wird anhand der Ergebnisse des Gehirnnachweises mit monoklonalen anti-NSE-Antikörpern deutlich: Während in Brühwürsten noch 1% Hirn nachgewiesen werden konnte, war dies bei einem Kochwurstzeugnis wie der Leberwurst erst bei einem Hirnanteil von 32% möglich. Widersprüchlich bleibt demgegenüber allerdings die im Text folgende Aussage, daß mit einer modifizierten Aufarbeitung dennoch 0,25% bzw. 1,0% Hirnmaterial in Brühwurst und Kochwurst nachgewiesen werden konnten. Die vorgestellten Abbildungen geben hier keine Klärung. Indirekt gehen die Autoren auf diese Problematik ein, indem sie im Schlußsatz bemerken, daß „weitere Studien zeigen müssen, ob diese Methode für andere Untersuchungsmaterialien geeignet ist..“.

Generell ist anzumerken, daß es sich bei dem Manuskript um die Beschreibung erster Versuchsergebnisse handelt, die in weiteren Experimenten auch statistisch abgesichert werden müssen. Dazu sind weitergehende Versuchsreihen in ausreichender Zahl nötig, in denen sich vor allem zeigen muß, ob das Verfahren die für SRM nötige Spezifität und Sensitivität gleichermaßen für Brüh- und Kochwurst hat.

Inwieweit sich die im Versuchsantrag nicht näher erläuterten Stoffe „GFAP-“ und „S-100-Protein“ als weitere mögliche Marker im Immunoblot oder in der Immunhistologie für den Nachweis der Verarbeitung von Nervengewebe in Wurst eignen, läßt sich nur durch entsprechende Versuche abklären. Insofern ist diese Aussage ohne Kommentierung wenig hilfreich.

Generell ist aber davon auszugehen, daß ein Immunoassay nicht den Rang eines Referenzverfahrens erlangen kann. In der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG ist bislang kein einziges Verfahren als Referenzmethode ausgewiesen. U.E. kann allenfalls von einem **Routineverfahren** gesprochen werden.

Weiterhin wird angemerkt, daß im Sinne von Artikel 1 der Entscheidung 97/534/EG bei Hirn und Rückenmark erst dann von spezifiziertem Risikomaterial gesprochen werden kann, wenn die dort genannte Altersgrenze der Tiere, von denen das Material stammt, überschritten ist. Auf der Grundlage dieser Vorgabe sind beide Tests nicht in der Lage, Hirn und Rückenmark von Tieren zu unterscheiden, die unter bzw. über 12 Monate sind bzw. bei denen ein permanenter Schnei-

⁵ DAKO Diagnostika GmbH (1998): Preis- und Produktliste S. 86 sowie ein Datenblatt vom 18.7.1997 über „Inter Species Cross-Reactivity of DAKO Antibodies to Human Antigens“. Bezugsquelle: DAKO GmbH, Am Stadtrand 52, 22047 Hamburg.

dezahn das Zahnfleisch noch nicht durchbrochen hat. Mögliche positive Ergebnisse beider vorgestellter Verfahren erlauben somit noch keinen Rückschluß auf ein rechtswidriges Verhalten bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen.

Zusammenfassung:

Zur Identifizierung von Rückenmark und Hirn in Fleischerzeugnissen werden in dem vorliegenden Forschungsantrag ein **Schnelltest** und ein **Referenzverfahren** vorgeschlagen.

Der **Schnelltest** basiert auf einem enzymatischen Nachweis von Cholesterin in zentralnervösem Gewebe und entspricht dem Verfahren zur Bestimmung des Cholesteringehaltes in Eiprodukten nach der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG. Das vorgeschlagene **Referenzverfahren** basiert auf der Extraktion einer Proteinfraktion aus dem untersuchten Lebensmittel und ihrer Auftrennung in einer SDS-Gelelektrophorese sowie einem Western-Blot-Immunoassay. Für die Identifizierung im Immunoassay werden mono- bzw. polyklonale Antikörper gegen die für das Zentralnervensystem spezifischen monomeren γ -Enolasen bzw. neuronenspezifischen Enolasen verwendet.

Die Autoren gehen von einer möglichen Gefährdung des Verbrauchers durch die Verwendung von Risikomaterial in Koch- und Brühwürsten aus. Das Ausmaß der Verwendung dieser Materialien in deutschen Fleischerzeugnissen wird jedoch deutlich überschätzt.

Während der Schnelltest ausführlich beschrieben ist, liegt als Methodenbeschreibung für das Referenzverfahren lediglich ein Manuskript für eine wissenschaftliche Kurzmitteilung vor, aus dem die Eignung des Verfahrens für den spezifischen Nachweis von SRM nicht deutlich hervorgeht. Insbesondere ist hier auf die Problematik der Kreuzreaktivität von Antikörpern und auf die Einflüsse aufgrund der Herstellungstechnologie von Koch- und Brühwürsten hinzuweisen.

Das Forschungsvorhaben erscheint in seiner jetzigen Form der Antragstellung insbesondere im Hinblick auf das Referenzverfahren noch nicht ausreichend deutlich formuliert.

Es wird angeregt, die Antragsteller um weitere klärende Unterlagen zu bitten.