

# Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

## Qualitätskriterien bei Fleischerzeugnissen - Analytische Probleme bei der Ermittlung des Fleischanteils mittels Real-Time PCR

Stellungnahme des BfR vom 12. September 2003

Verbraucher erwarten in einem Fleischerzeugnis in aller Regel einen hohen Fleischanteil. Dieser bestimmt meistens die Qualität des Erzeugnisses und ist hauptverantwortlich für die Preisgestaltung. Um den Verbraucher vor Täuschung zu schützen, überprüfen die Lebensmittelüberwachungsbehörden in Stichproben, ob die lebensmittelrechtlich vorgeschriebene oder vom Hersteller angegebene Rezeptur eingehalten worden ist. Außerdem wird darauf untersucht, ob das Fleisch von der Tierart stammt, die für das Produkt charakteristisch ist oder vom Hersteller angegeben wurde. Hierbei stößt allerdings die Bestimmung des Fleischanteils, d.h. des Anteils an Skelettmuskulatur im Produkt, auf analytische Schwierigkeiten. Ein molekularbiologisches Nachweisverfahren, das in jüngster Zeit vermehrt zur quantitativen Erfassung biologischer Materialien eingesetzt worden ist, die sogenannte Real-Time PCR, erfüllt diese Anforderung nur unzureichend.

Die Problematik der mengenmäßigen Bestimmung tierischer Gewebe und ihrer Zugehörigkeit zu bestimmten Tierarten ("Tierartendifferenzierung") hat das ehemalige Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) und in seiner Nachfolge das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) schon vor längerer Zeit aufgegriffen und war maßgeblich an der Entwicklung einiger Methoden für diesen Anwendungsbereich beteiligt. Auch die Frage der Eignung der Real-Time PCR für die quantitative Bestimmung des Fleischanteils in Fleischerzeugnissen spielte hierbei eine Rolle.

### **Generelle analytische Probleme der Erfassbarkeit des „Fleisch“anteils im Sinne der Definition für Fleisch im Anhang der Richtlinie 2001/101/EG bei Fleischerzeugnissen**

Nach der Definition im Anhang der für die mengenmäßige Kennzeichnung der stofflichen und geweblichen Anteile eines Erzeugnisses ("QUID"-Regelung) maßgeblichen Richtlinie 2001/101/EG fallen bestimmte Skelettmuskelteile von geschlachteten Tieren, z.B. das von Knochen gewonnene Restfleisch ("Separatorenfleisch") und der größte Teil des Kopffleisches, nicht unter den Begriff "Fleisch". Demzufolge sind selbst solche Methoden, die den Skelettmuskelanteil eines Erzeugnisses sicher erfassen können, allein nicht für die Bestimmung des "Fleisch"anteils geeignet.

Hinzu kommt, dass die gewebliche Zusammensetzung des Fleischanteils rechtlich nicht genau festgelegt ist. So wird in "Fleisch" (i.S. der Richtlinie 2001/101/EG) von Säugetieren außer Kaninchen ein Fett- und Bindegewebsanteil von insgesamt bis zu 50 %, von Schweinen sogar von bis zu 55 % toleriert.

### **Eignung der Real-Time PCR zur mengenmäßigen Bestimmung des Skelettmuskelanteils einschließlich eines zulässigen Fett- und Bindegewebsanteils**

Mit Hilfe der PCR können DNA-Anteile in einer Matrix in kleinsten Mengen nachgewiesen und differenziert werden. Das betrifft zunächst einmal die Tierartendifferenzierung, die auch bei Vermengung von Geweben verschiedener Tierarten qualitativ problemlos möglich ist. Eine Differenzierung unterschiedlicher Gewebe innerhalb einer Tierart (z.B. die Differenzierung zwischen Muskel- und Bindegewebe) gelingt hiermit jedoch nicht, da alle Zellen eines Tieres dieselbe DNA-Struktur aufweisen. Unterschiede zwischen den verschiedenen Geweben bestehen lediglich in der Zelldichte bzw. in der Zahl der Zellkerne pro Masseinheit.

Die Real Time PCR bietet prinzipiell die Möglichkeit einer relativen Quantifizierung der nachgewiesenen DNA. Möglich ist z.B. die Bestimmung des prozentualen Anteils einer Tierart am Gesamtanteil des tierischen Gewebes, nicht jedoch die Bestimmung des Fleischanteils am Gesamterzeugnis. Bei der Anwendung dieser Methode gelten dieselben Kriterien wie für nass-chemische Verfahren: Analyseergebnisse können gemäß der Norm ISO 17025 nur zusammen mit einer Messunsicherheit („*measurement uncertainty*“) angegeben werden, die alle Fehler des Analyseverfahrens in Betracht zieht. Aber auch die zu untersuchende Matrix hat einen Einfluss auf die Messunsicherheit, wenn - wie bei der PCR - die genomische DNA das Zielmolekül darstellt und diese in unterschiedlichen Geweben in unterschiedlichen Mengen pro mg Untersuchungsmaterial enthalten ist. Forschungsergebnisse zum DNA-Gehalt je Gewebetyp existieren noch nicht.

Die Grundlage für die Identifizierung der Messunsicherheit stellt die Validierung des Nachweisverfahrens dar. Diese kann entweder in Ringversuchen oder aber innerhalb eines Laboratoriums erfolgen. Die aus der Messunsicherheit und der zu untersuchenden Matrix resultierende „Streubreite“ muss dementsprechend bei der Interpretation des Analyseergebnisses berücksichtigt werden.

Generell muss die Methode für die Fragestellung geeignet sein („*fit for purpose*“), was wiederum im Anwendungsbereich der Methode beschrieben sein muss.

### **Verwertbarkeit der mit der Real-Time PCR erzielten Ergebnisse als Grundlage behördlicher Maßnahmen.**

Aus wissenschaftlicher Sichtweise ist grundsätzlich davon abzuraten, Analyseergebnisse gesundheitlich zu bewerten, die mit einem nicht validierten Verfahren erzielt wurden. Im vorliegenden Fall müsste sich demnach eine Validierung auch auf die Eignung zur Differenzierung der unterschiedlichen Gewebstypen erstrecken. Da dies mit der Real-Time PCR derzeit nicht möglich ist, erscheint nach dem derzeitigen Stand des Wissens die Stützung behördlicher Maßnahmen auf Ergebnisse einer Real-Time PCR, soweit sie zur Bestimmung des **Fleisch**anteils eines Erzeugnisses eingesetzt wird, problematisch.