

Die Kosten- und

SCHWERPUNKT: RÜCKSTÄNDE IN
LEBENSMITTELN UND FUTTERMITTELN

Zeithalbietere

Zuverlässige Schnelltests für **Dioxine/PCBs**

Unser Autor:

Dr. Peter A. Behnisch,

Direktor BioDetection
Systems BDS Amsterdam,
NL, peter.behnisch@bds.nl



linien, in denen weniger zeit- und kostenintensive Schnellmethoden beschrieben wurden (EC/69/2002 und EC/70/2002). Diese sensitiven, robusten, einfachen, kosteneffizienten Screeningmethoden wurden dann in zwei Projekten von internationalen Experten evaluiert – das Projekt namens DIFFERENCE, sowie ein Training/Ringversuch von 14 europäischen Laboren (Gizzi et al. 2005). Das Ergebnis dieser Studien zeigte, dass sowohl chemische LC/MS/MS Methoden sowie zell-basierte Methoden die bestens geeigneten Dioxin/PCB-TEQ Analysemethoden zum damaligen Zeitpunkt waren.

In der deutschen Dioxinkrise mit Bäckerei-Müll im Jahre 2004 demonstrierte schon das holländische Nationale Referenzlabor (NRL) den Einsatz einer Kom-

bination aus Screening Verfahren (DR CALUX; Chemisch Aktivierte Luciferase Expression) und chemischer Analytik (Hoogenboom et al. 2004). Heute sieht man, dass sich auf der Ebene der NRLs sowie Offiziellen staatlichen Labore (OFLs) im Screening Bereich nur der CALUX durchgesetzt hat. Dieser zellbasierte Bio-test wird intensiv schon seit 1995 für das Screening der Dioxine und dioxin - ähnlichen PCBs auf internationaler Ebene im Umwelt- sowie im Futter/Lebensmittel Bereich eingesetzt, so z. Bsp. durch das NRL der Niederlande.

Deutsche Landwirte/Firmen profitieren von schnellerer Analytik mit deutlich niedrigeren Preisen und erhöhter Produktsicherheit

Aufgrund der diesjährigen Dioxin-Krise in Deutschland und der damit verbundenen Exportverbote für deutsches Fleisch wurde dieser sogenannte Hochdurchsatz (HTPS) DR CALUX® Test von vielen deutschen Firmen evaluiert und danach intensiv angewandt. In dieser Zeit wurden mehrere tausend Proben analysiert mit Ergebnissen in weniger als drei Tagen (routinemäßig) und mit einer bis zu 70%igen Kostensparnis. Da hier mehr als 99% der getesteten Fleisch- und Eierproben unterhalb der Europäischen Richtwerte waren, der CALUX auch keine signifikant falsch positiven oder negativen Ergebnisse lieferte, konnten die Landwirte, Industrie, Veterinärämter im In- und Ausland überzeugt werden.

Die durch Dioxine und PCBs verursachten Verunreinigungen in Lebens- und Futtermitteln haben in den letzten zwei Jahrzehnten weltweit ernsthafte Krisensituationen ausgelöst. Die in der Regel teure und zeitaufwändige Analytik führte regelmäßig zu langen Wartezeiten in der Berichterstattung. Die Leidtragenden waren die Auftraggeber wie Landwirte und Industrie und nicht zuletzt die Verbraucher.

Nach der Dioxin-Krise im Jahr 1998 reagierte die EU mit dem Erlass zweier Richt-



Abb.1: Hochdurchsatz zell-basierte Dioxin/PCB Analytik mittels Roboter



Abb. 2 Hochdurchsatz-Extraktion von PCBs/Dioxinen aus Futter- und Lebensmitteln



Abb. 3 Hochdurchsatz-Trennung von PCBs und PCDD/Fs in 2 Fraktionen

National/International anerkannt bei allen EU Mitgliedsstaaten gemäß ISO 17025 sowie bei Qualitätsprüfsystemen

Die europäische Mutterfirma des DR CALUX, BioDetection Systems, besitzt seit vielen Jahren die Anerkennung der holländischen Akkreditierungsbehörde RvA und damit gemäß der nach EA/ILAC sowie der EC/764/2008 Richtlinie auch die Anerkennung in allen EU Mitgliedsstaaten.

Mehr Sicherheit, Qualität und Verbrauchervertrauen durch mehr Testen mit demselben Budget

Durch den neuen 14 Punkte Plan der deutschen Regierung (BMELV) und der damit verbundenen intensiveren Überwachung werden kostengünstige Schnellverfahren auch in Deutschland unumgänglich. Es überrascht, dass in Deutschland solche Schnelltests, obwohl nach der EC/69 und EC/70 schon seit 2002 zugelassen auf behördlicher wie privater Ebene noch nicht in Routine etabliert wurden – dies auf Kosten der Landwirte und Industrie, die am Anfang des Jahres mehrere Wochen

(anstatt Tage) auf Ihre Ergebnisse warten mussten. Da mit diesem Test auch andere Dioxin - ähnliche Stoffe (Stickstoff- und Brom-Dioxinanaloge) ohne zusätzlichen Aufwand erfasst werden, können bei negativen Befunden auch diese Stoffe ausgeschlossen werden. Damit kann eine zusätzliche Produktsicherheit erreicht werden bzgl. dieser möglichen „Emerging Pollutants“ (Stockholm POPs Konvention, siehe auch Behnisch et al. 2003).

Lernen von den Hochburgen der biotechnologischen Schnellanalytik

Im Gegensatz zu Deutschland, wo der zellbasierte Test immer noch in den Kinderschuhen steckt, wird der DR CALUX in Chile, China, Irland, Israel, Italien, Kuwait, Polen, Russland, Slowakei, Spanien, Thailand oder Zypern routinemäßig intensiv eingesetzt. Diese zell-basierten Methoden werden sogar in der letzten Richtlinie EC/1883/2006 empfohlen.

Robust, sensitiv, zuverlässig

Im letzten Jahrzehnt haben viele Labore gezeigt, dass man diese Methode in zehn

Tagen lernen und in wenigen Wochen voll etablieren kann. Die Kosten für Reagenzien/Chemikalien für Extraktion, Aufreinigung, Zellkultur und Luminometer Messung liegen typischerweise unterhalb von 20 Euro/Probe. Typische Kosten per Probe für die Analytik von Umwelt-, Futter- oder Lebensmittel liegen incl. der einmaligen Trainingskosten, Laborausstattungs-Abschreibung, Raummiete, alle Reagenzien/Chemikalien, Lizenzgebühren sowie Lohnkosten am Bsp. eines Labors mit einem Mitarbeiter in Volllastung das ganze Jahr an min. 2000 Proben bei unter 100 Euro/Probe.

Das automatisierte Dioxin/PCB-Schnelllabor – wann brechen wir die 80 Euro per Dioxin/PCB-TEQ Analytikkosten Schallmauer?

Solche auf Bio- und Nanotechnologie basierenden Methoden kann man auf einfache Art und Weise für einen höheren Probendurchsatz beschleunigen, indem die Roboter über Nacht laufen und das Labor in zwei Schichten im 24/7-Rhythmus arbeitet. Die Hochdurchsatz Roboter werden für die Zellkultur, das Dosieren der Standards/Proben und deren Luminometer Messung verwendet. Damit kann man gleichzeitig bis zu 30 Proben/Stunde/Schritt extrahieren (siehe Abb. 2), Dioxine von PCBs trennen (siehe Abb. 3), Zellen sähen/Proben dosieren (durch Roboter, siehe Abb. 4) und schließlich mittels Luminometer automatisch messen/be-

»

Abb. 5: Typische Quellen für erhöhte Dioxin- und PCB-Gehalte in der Futter- und Lebensmittelkette



Abb. 4 Hochdurchsatz – Zellen aussähen und Standards/Proben Dosierung mittels Roboter



Abb. 5 Hochdurchsatz-Messung des Dioxin und separat des PCB-TEQs mittels (Multi Mode-) Luminometer Messgerät mit Autosampler Aufsatz



CALUX® STAR



Vollautomatische
CALUX® Assays

Höchste Reproduzierbarkeit

Hocheffizient dank
Standardisierung

HAMILTON 

www.hamiltonrobotics.com
infoservice@hamiltonrobotics.com

rechnen (durch einen automatisierten 96 well Stapler, siehe Abb. 5):

**Qualitätsanforderungen gemäß
EC/1883/2006 für Lebensmittel
und EC/152/2009 für Futtermittel**

Trotz intensiver internationaler Entwicklung und Evaluierung haben bisher nur die Labore, die den CALUX etabliert haben, alle regulierten EU Anforderungen (erfolgreiche Ringversuche; Falsch Positiv/Negativ Kontroll-Rate; Sensitivität 1/5tel der EU Norm; Interwell-Standardabweichung < 15%; Präzision unter 30% und Linearität der Dioxin Standardkurve $R^2 > 0.98$) unter ISO 17025 Akkreditierung in Routine erreicht. Diese Richtlinie besagt, dass die Futter- und Lebensmittelproben ohne Beanstandung bzgl. Dioxine/PCB-TEQ sind, wenn das analysierte Ergebnis des Dioxin/PCB-TEQ Screening Tests 25% unter der EU Richtlinie liegt.

**Gibt es eine Garantie für Dioxin-
freie Eier und PCB-freie Fische ?**

Wenn man die wenigen Länder in Betracht zieht, die global Dioxine und dl-PCBs in Routine messen, wird es eine solche Garantie mit der derzeitigen Strategie teurer und aufwändiger chemischer Analytik sicher nie geben können – die einzige globale Hoffnung stellen die einfacheren und billigeren Biomethoden dar, die in immer mehr Ländern, die in die EU exportieren, etabliert werden. Dennoch sind von vielen großen Industrieländern wenig Dioxin/PCB-Werte in Futter- und Lebensmittel bekannt, die nachweisbar zu aktivem Dioxin/PCB Krisenmanagement geführt haben.

In Europa denken wir mehr und mehr, dass wir die Quellen kennen – bis eine neue Krisenursache aufgedeckt wird wie in Deutschland: 2011 Futterfette; 2010 Bio Tierfutter; 2005 Freilandeier; 2003 Futtermittel; 1999 Kraftfutter Kühe. Nur durch intensive internationale Zusammenarbeit und dem Lernen aus den gegenseitigen Erfahrungen können wir diesem globalen Problem beikommen. Die zell-basierten Biotechnologien bieten die Möglichkeit, mit demselben Know-How und derselben Labor Ausrüstung ebenfalls mehr über die Effekte/Nebenwirkungen anderer Problemfelder von Fettsucht (PPAR Rezeptor) über Hormone (ER, AR), Tier-Mastmittel/Schmerzmitteln/Asthma (Dexamethason), Pharmazeutika, Plastikadditive (Phtalate, Bisphenol A), Autoabgase (PAKs), bis zu Stoffen im Müll-Recycling zu erfahren - für eine gesündere Umwelt, Tierwelt und Menschheit.