

Unterarbeitsgruppe „Lebensmittel-Histologie“
der Arbeitsgruppe „Fleisch und Fleischerzeugnisse einschl. spezifischer Kennzeichnungsfragen“
des **Arbeitskreises** der auf dem Gebiet der **Lebensmittelhygiene**
und der Lebensmittel **Tierischer Herkunft** tätigen **Sachverständigen**



Leitfaden 2

Hackfleisch

**Kriterien für die Parameter „*intakte / strukturierte*
bzw. *zerstörte / strukturlose Muskelfaserstruktur*“**

Stand 19.09.2023

Hinweise



- Dieser Leitfaden enthält Beispiele, was unter dem Kriterium „*intakte / strukturierte bzw. zerstörte / strukturlose Muskelfaserstruktur*“ speziell bei Hackfleisch zu verstehen ist.
- Das Kriterium soll der **Beurteilung des Verhältnisses von intakter zu zerstörter (= strukturloser) Skelettmuskulatur** von **Hackfleisch** dienen.
- Die Betrachtung zur quantitativen Auswertung (Pointcounten) erfolgt bei 100facher Vergrößerung.

intakt / strukturiert	strukturlos
<ul style="list-style-type: none">• (Gewebeverband aus) offensichtlich intakte(n) Muskelfasern• isolierte Muskelfasern: Sarkolemm, Querstreifung, Faserstruktur erkennbar• Muskulatur ist dann als intakt zu werten, wenn sich Sarkolemmreste in enger Nähe des Fadenkreuzes befinden	<ul style="list-style-type: none">• gleichmäßig homogene, zer- oder zusammenfließende Proteinmasse, auch mit Vakuolen durchsetzt• konfluierende Proteinmasse• granuliert Proteinmasse• amorphe Proteinmasse• ohne Zellgrenzen• Proteinstege zwischen Vakuolen

Hinweise



- In den folgenden Beispielbildern soll Grundsätzliches und v.a. schwer Einzuordnendes bildlich erläutert werden.
- wenn solche Fadenkreuze + verwendet werden, soll das folgendes bedeuten: wenn das Fadenkreuz genau auf diesen Punkt fällt, wäre es als **intakt** bzw. **strukturlos** einzuordnen.
- Bei derart beschaffenen Fadenkreuzen —|— ist eine virtuelle Linie —+— im Zentrum zu bilden und die Struktur unter dem Kreuz (welches sich aus der virtuellen Linie bildet) zu beurteilen.
- Die Betrachtung erfolgt bei **100facher Gesamt-Vergrößerung**, entweder direkt mit dem Auge am Okular oder am Bildschirm.
- Als **leer** sind z. B. Vakuolen, Bindegewebe, Knochen, Fett, Blutgefäße und Nerven zu zählen (also alles was nicht Skelettmuskulatur ist), außerdem Farbschleier.
- Bei **zweifelhafter / fraglicher** Beurteilungsmöglichkeit beim Pointen (d.h. die Entscheidung „intakt“ oder „strukturlos“ kann nicht sicher getroffen werden), sollte die nächst höhere Vergrößerung herangezogen werden. Falls auch bei stärkerer Vergrößerung keine Bewertung möglich ist, muss der Punkt als „leer“ gewertet werden.

Berechnung der Vol.-% an *strukturlos* od. *intakt*



$$\text{Anteil}_{\text{strukturlos}} = \frac{\text{Treffer}_{\text{strukturlos}}}{\text{Treffer}_{\text{strukturlos}} + \text{Treffer}_{\text{intakt}}} \times 100 \%$$

oder

$$\text{Anteil}_{\text{intakt}} = \frac{\text{Treffer}_{\text{intakt}}}{\text{Treffer}_{\text{intakt}} + \text{Treffer}_{\text{strukturlos}}} \times 100 \%$$

Die Trefferzahlen für „*leer*“ werden nicht berücksichtigt.
Zu „*zweifelhaften / fraglichen*“ Treffern siehe vorherige Folie.

Informationen für die Beurteilung



- Bei **Hackfleisch** handelt es sich nach allgemeiner Verkehrsauffassung i. S. der Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse um ein „*Erzeugnis aus gewolftem oder ähnlich zerkleinertem Fleisch*“ (LS-Nr. 2.1.5). Dies setzt **intakte Muskelfaserstrukturen in überwiegender Menge** voraus.
- Der ALTS hält es für erforderlich, bei Hackfleisch mit einem Anteil von **< 50 % an intakten Muskelfasern** den Verbraucher über die veränderte Beschaffenheit zu informieren (Art. 7 Abs. 1 Buchst. a) LMIV, siehe Beschluss zu TOP 16 der 91. AT des ALTS).
- Die § 64-AG Lebensmittel-Histologie führte 2022 einen Ringversuch zum Nachweis und zur Bestimmung des Muskelabriebs (strukturlose Masse, z. T. granuliert) in Hackfleisch durch [BVL 2023: ASU L 06.00 – 13a]. Auf dessen Grundlage empfiehlt der ALTS die Anwendung des vorliegenden Leitfadens für die histologische Analytik und Bewertung von Hackfleisch.
- Im Rahmen der Untersuchung von Hackfleisch hinsichtlich seines Anteils an intakter bzw. strukturloser Muskelfaserstruktur kann die **praktische Durchführung** im Labor wie folgt durchgeführt werden:

Informationen für die Beurteilung



Nach einer möglichst **genauen sensorischen Beschreibung** des Produktes, bei der Zerkleinerungsgrad, Körnungsgröße, Feinanteil, Konsistenz u.a. erfasst werden, kann der Anteil an **Muskelabrieb** zunächst **mittels semiquantitativem histologischem Verfahren geschätzt** werden (Angabe der Häufigkeitsklasse).

Die Ergebnisse des RV zeigten, dass der semiquantitativ ermittelte **Anteil an Muskelabrieb (strukturlos)** (Angabe der Häufigkeitsklasse inklusive eines Schätzwertes) **tendenziell niedriger** lagen als die **histometrierten** (quantitativen) **Werte** derselben Probe.

Daher ist eine **quantitative Histometrie** (Pointcounten wie in diesem Leitfaden beschrieben) nur bei Proben angeraten, deren Anteil an strukturlosem Muskelabrieb bereits auf 50 % oder darüber geschätzt wurde.

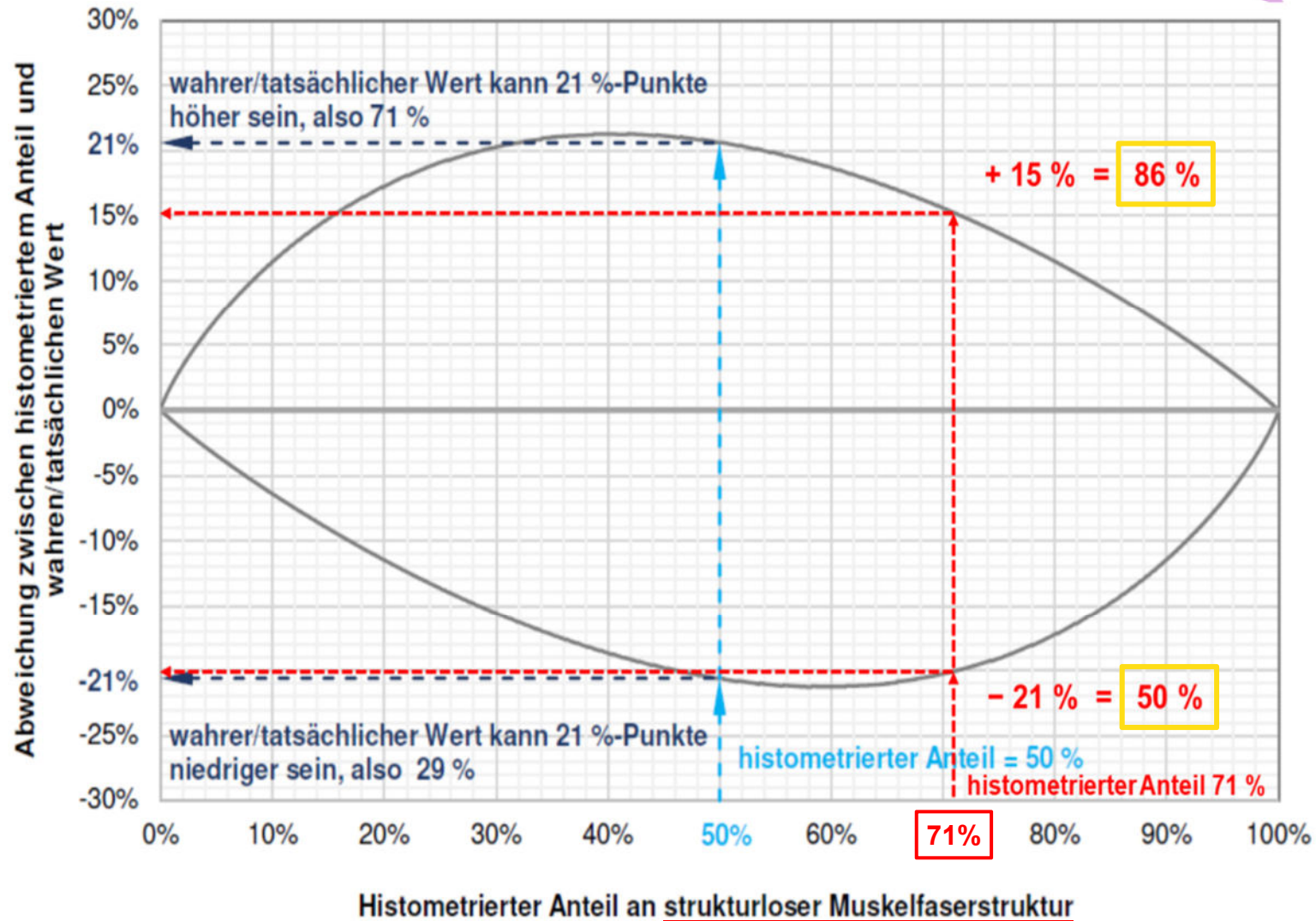
Wird histometriert, ist eine **Entscheidungsgrenze von 50 Vol.-%** an intakter bzw. strukturloser Muskelfaserstruktur anzusetzen und die im RV ermittelten Messunsicherheiten zu berücksichtigen (siehe Lesebeispiel auf den Folien 7 und 8).

Bitte beachten: die im Folgenden dargestellten RV-Daten sind lediglich für die Calleja-Färbung i. V. mit der Matrix Hackfleisch valide!

90 %- Messunsicherheitsbereich für den histometrierten Anteil an strukturloser Muskelfaserstruktur basierend auf einer summarischen Bewertung der Einzelschnitte



[BVL 2023: ASU L 06.00 – 13a, Teil 4: Validierungsdaten]



Informationen für die Beurteilung



Lesebeispiel für die Grafik auf der vorhergehenden Folie:

Wurde in einer Probe ein Anteil strukturloser Muskelfaserstruktur von 50 Vol.-% histometriert, dann kann – bei einem Messunsicherheitsbereich von 90 % – der tatsächliche Anteil auch bis zu 21 %-Punkte höher ausfallen, also bei 71 Vol.-% liegen, oder bis zu 21 %-Punkte niedriger ausfallen, also bei 29 Vol.-% liegen.

Um also mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von nur 5 % einen Anteil an < 50 Vol.-% intakter Muskelfaserstruktur nachzuweisen, muss der tatsächlich ermittelte Wert unter Berücksichtigung der im RV ermittelten Messunsicherheit von 21 %-Punkten an intakter Muskelfaserstruktur < 29 Vol.-% liegen bzw. im Umkehrschluss der **Anteil an strukturlosen Muskelfasern > 71 Vol.-%.**

Es wird daher empfohlen, bei Werten zwischen 50 und 71 Vol.-% an strukturloser Muskelfaserstruktur lediglich Sachverständigenäußerungen zu tätigen, bspw. mit technologischen Verbesserungsvorschlägen für den Hersteller.

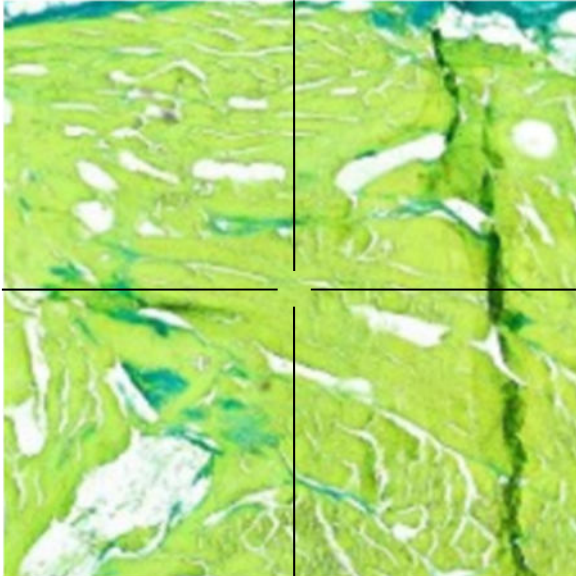
Liegt der Anteil an strukturlosen Muskelfasern tatsächlich > 71 Vol.-% (bzw. der Anteil an intakter Muskelfaserstruktur < 29 Vol.-%), ist eine Beanstandung gerechtfertigt, da in diesem Fall der tatsächliche Wert an intakten Muskelfasern mit 95%iger Wahrscheinlichkeit < 50 Vol.-% bzw. der Wert an strukturlosen Muskelfasern > 50 Vol.-% liegt.



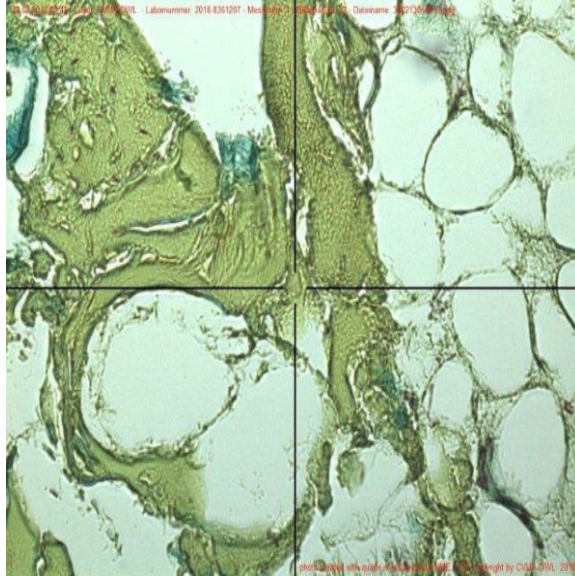
Erste Eindrücke zum Einschauen

**Calleja Färbung
(100x Vergrößerung)**

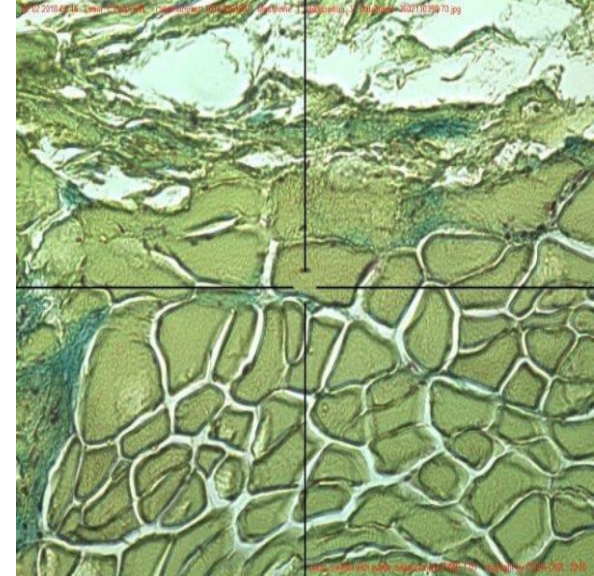
intakt



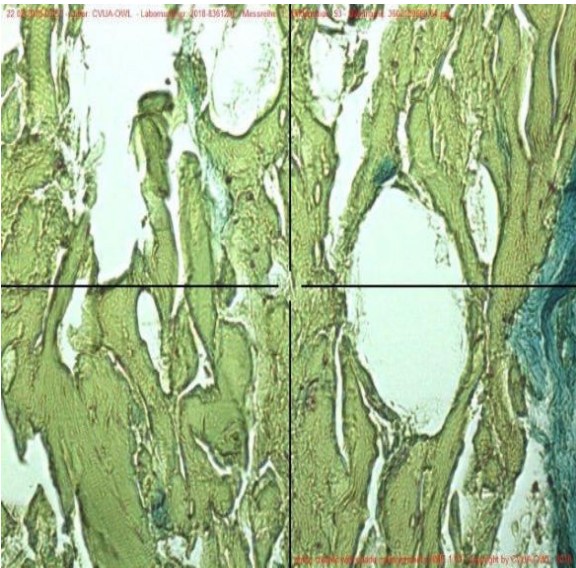
intakt



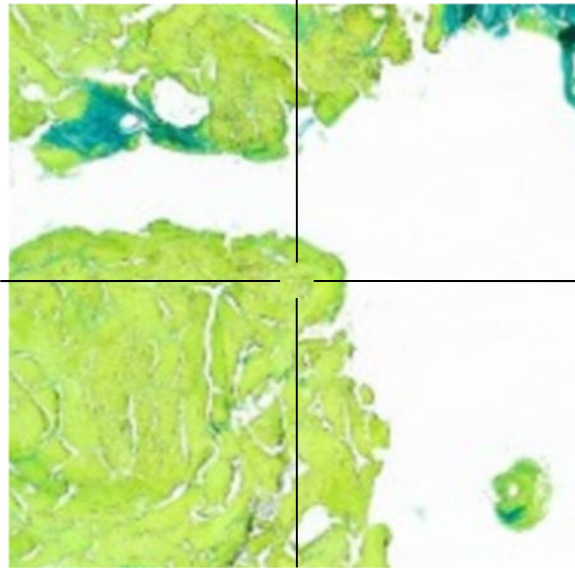
intakt



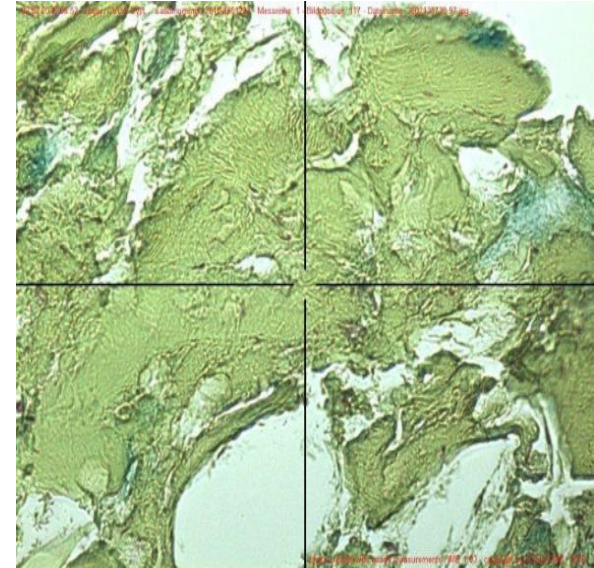
strukturlos



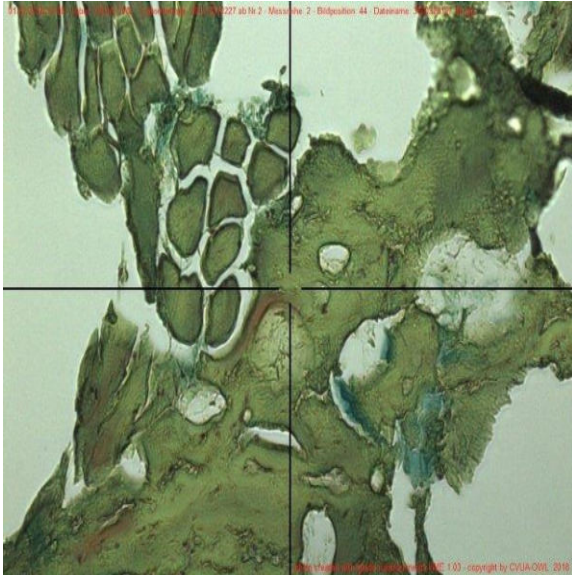
strukturlos



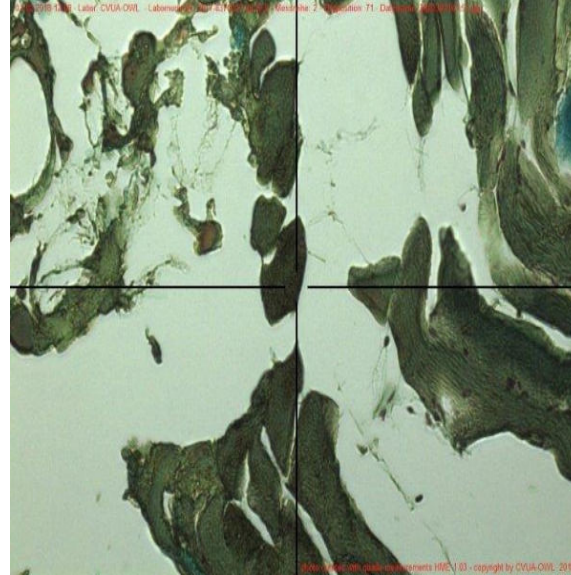
strukturlos



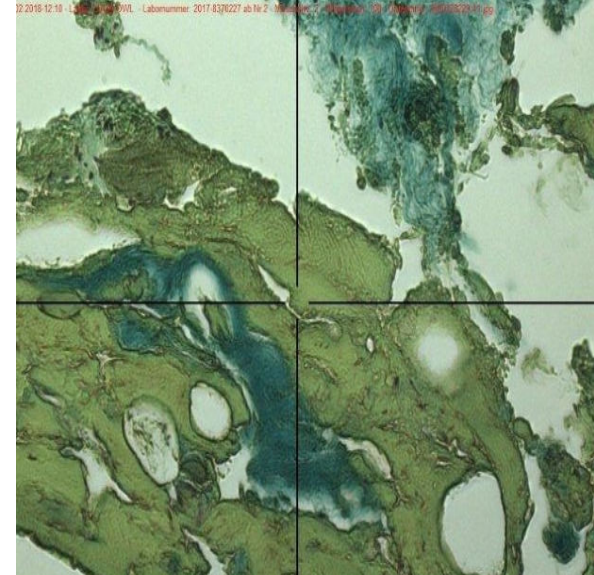
strukturlos



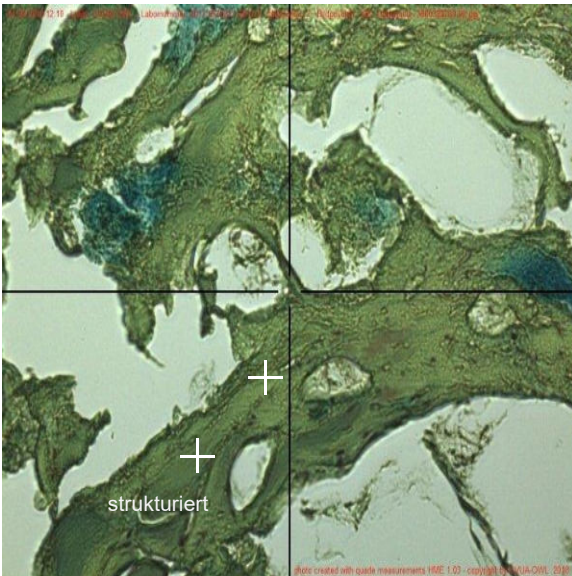
intakt



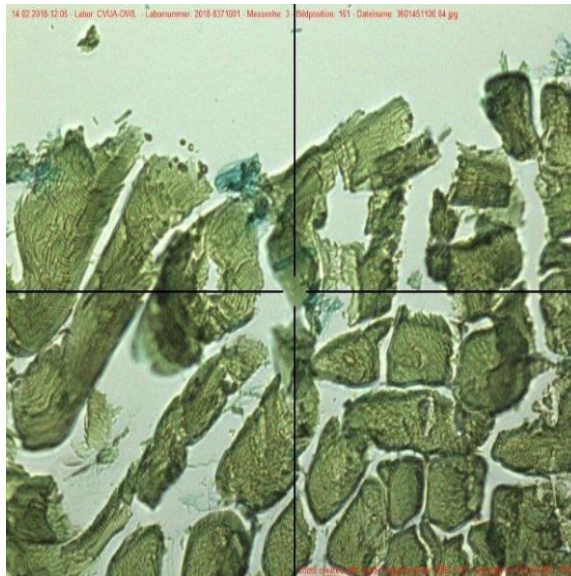
fraglich → vergrößern



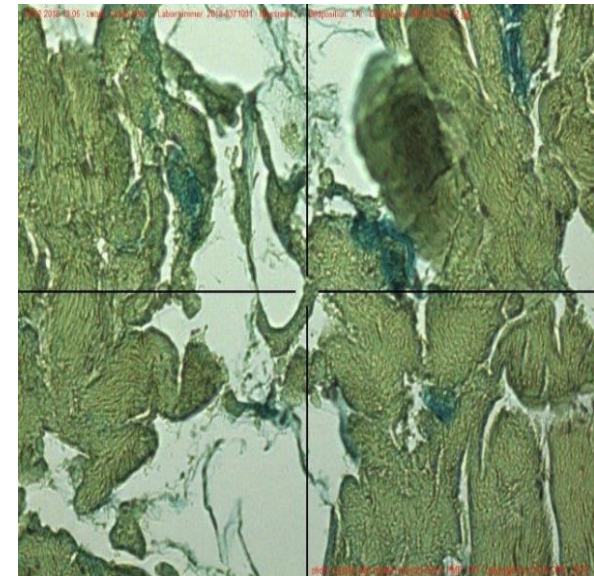
strukturlos (Steg)



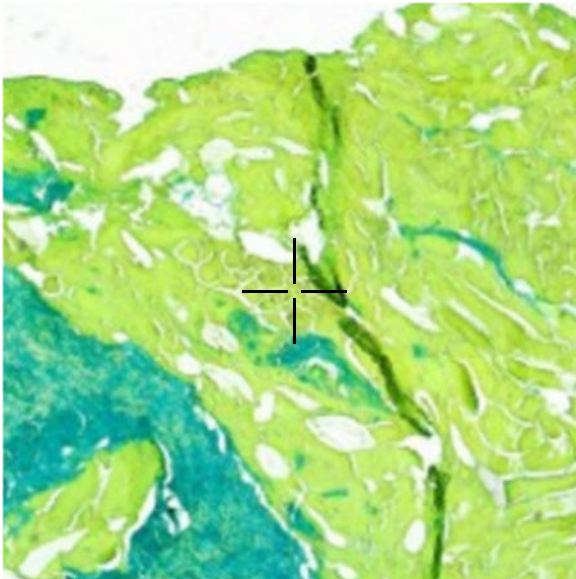
intakt



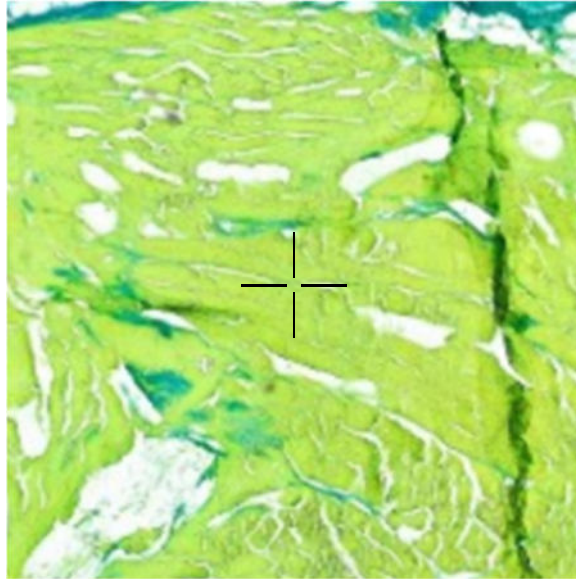
strukturlos (Steg)



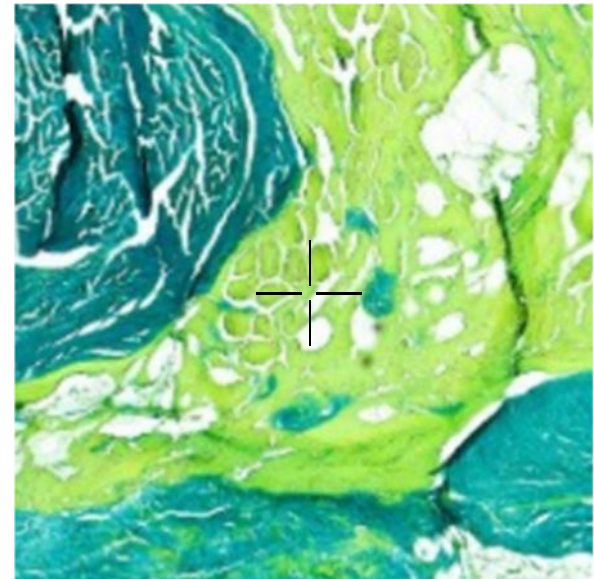
intakt



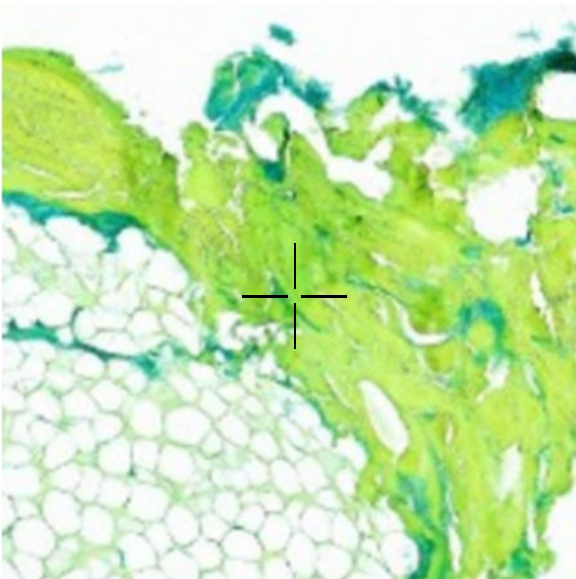
intakt



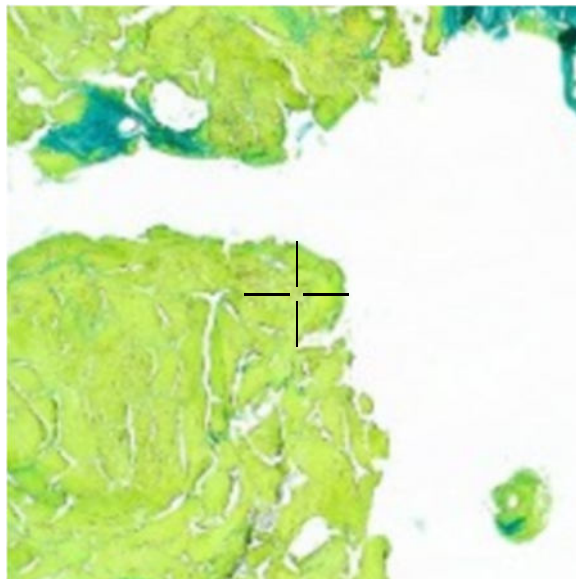
intakt



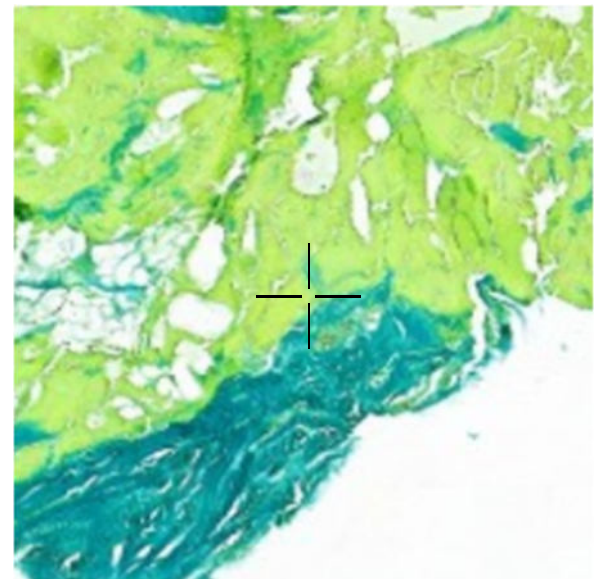
strukturlos



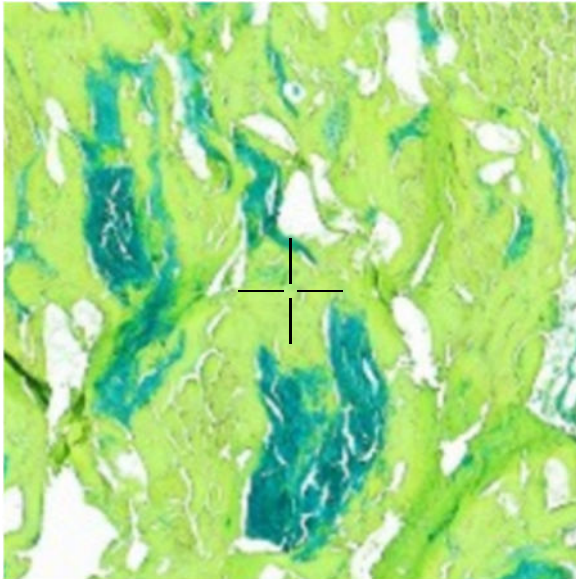
strukturlos



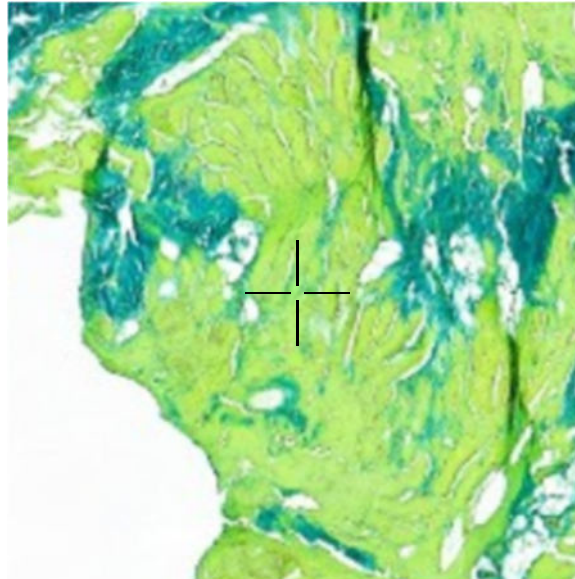
strukturlos



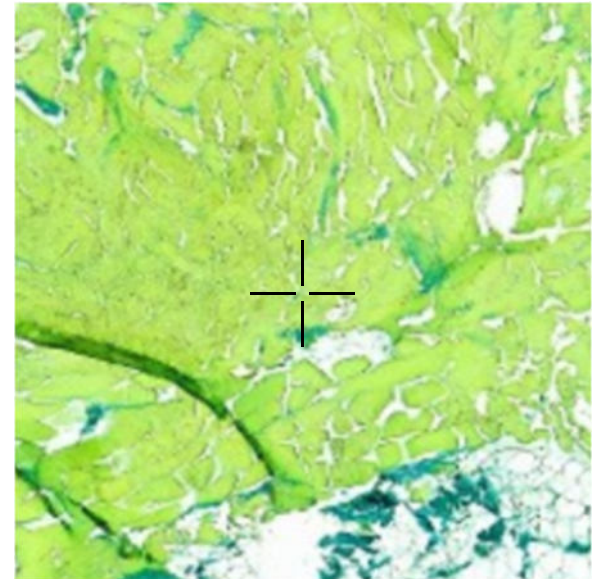
strukturlos



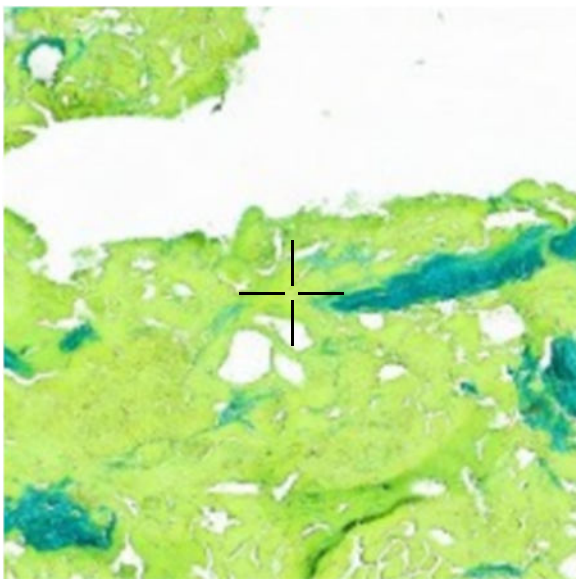
strukturlos



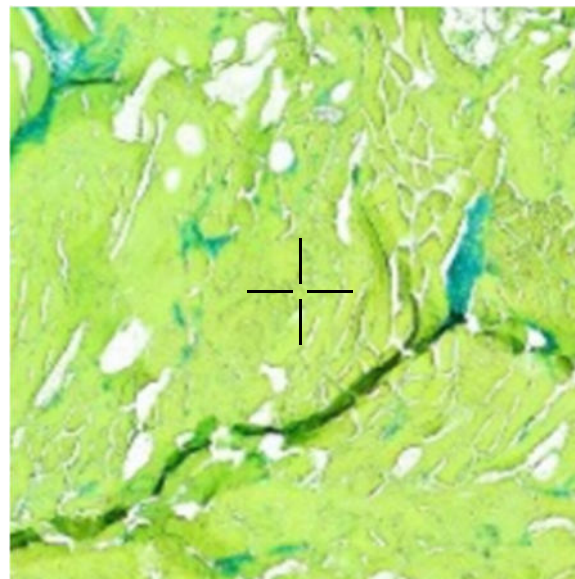
strukturlos



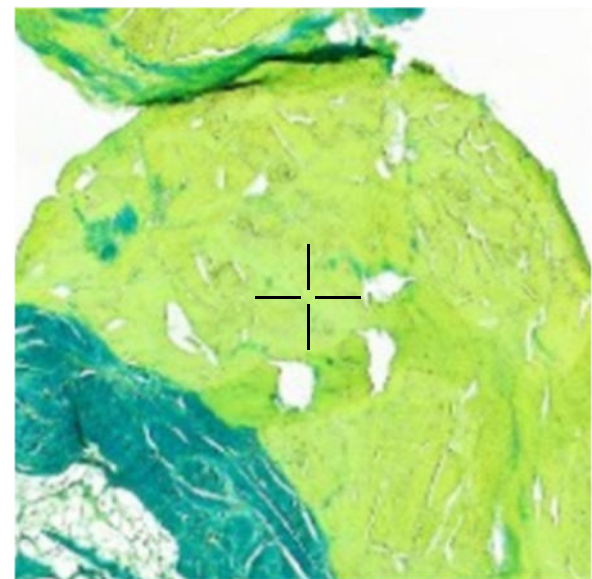
strukturlos



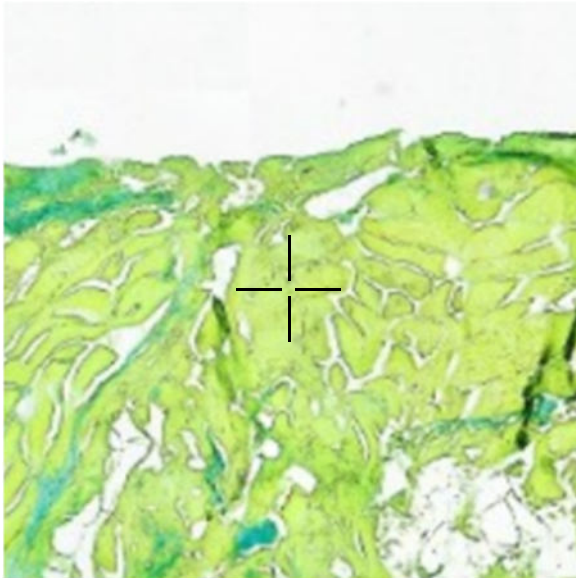
strukturlos



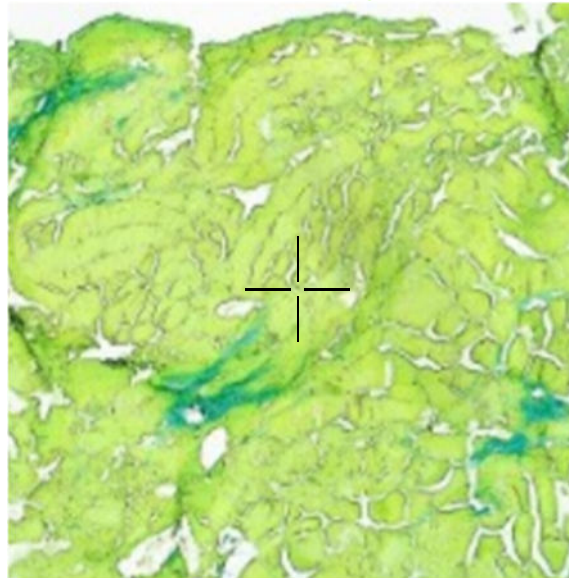
strukturlos



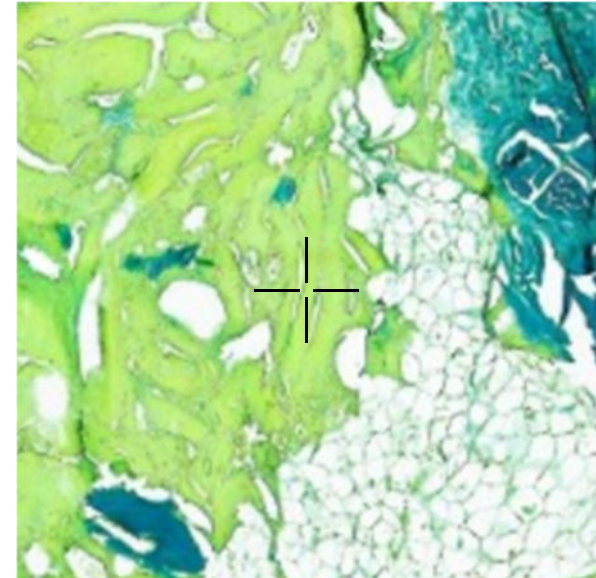
strukturlos



zweifelhaft → vergrößern



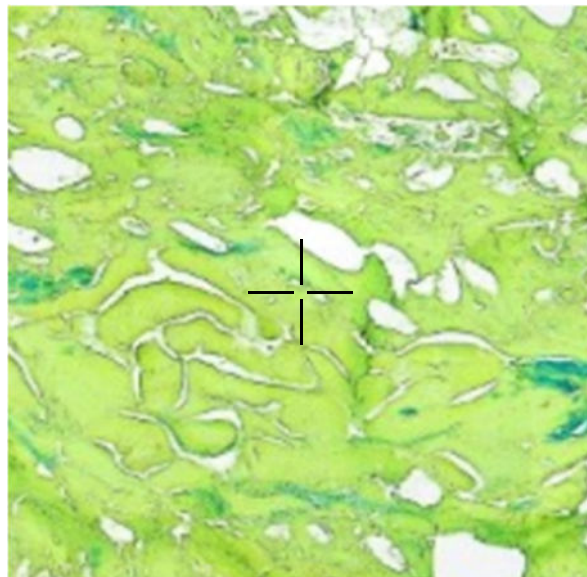
Sarkolemmrest? → vergrößern



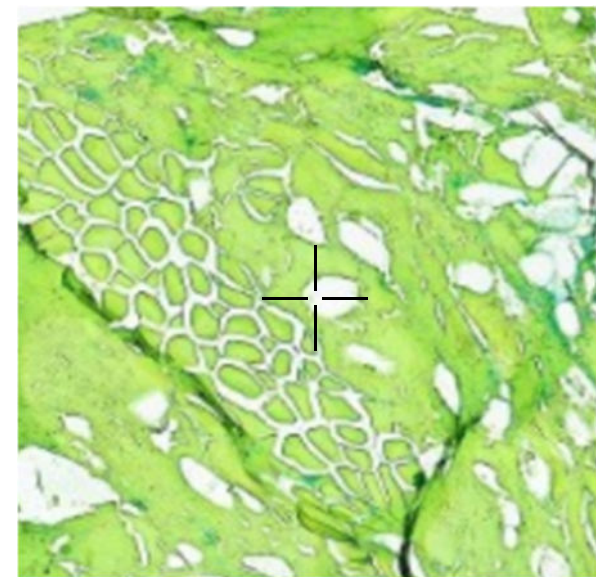
zweifelhaft → vergrößern



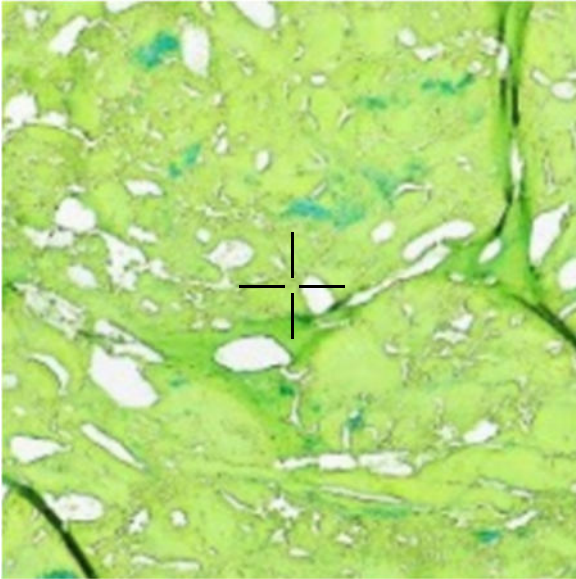
zweifelhaft → vergrößern



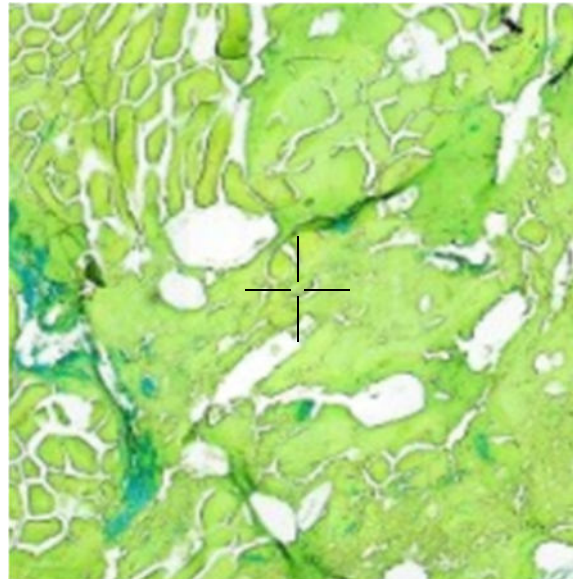
leer



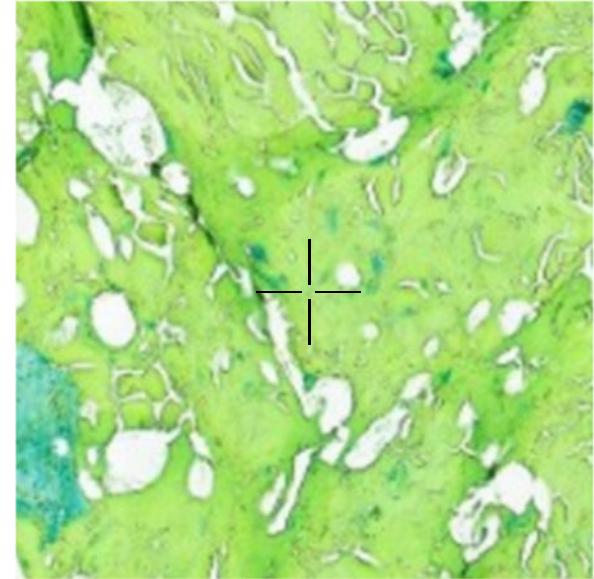
strukturlos



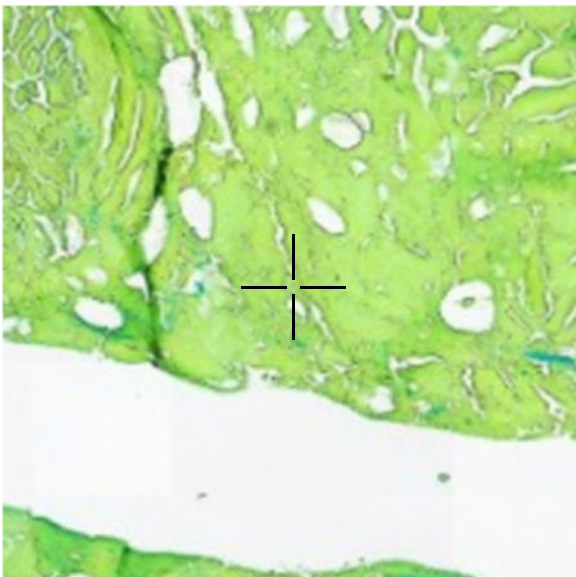
intakt



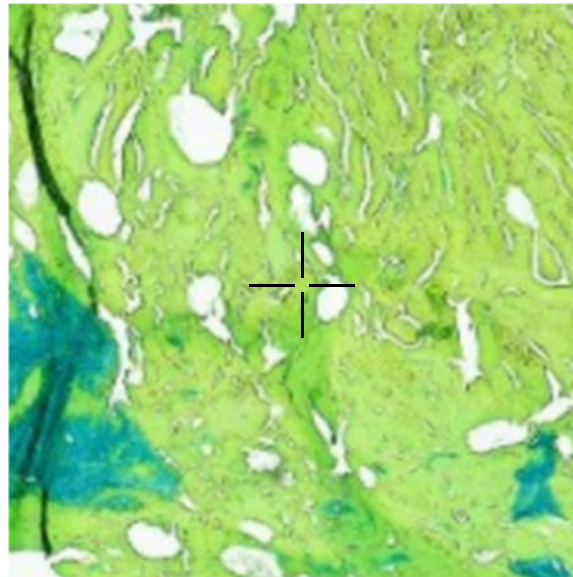
strukturlos



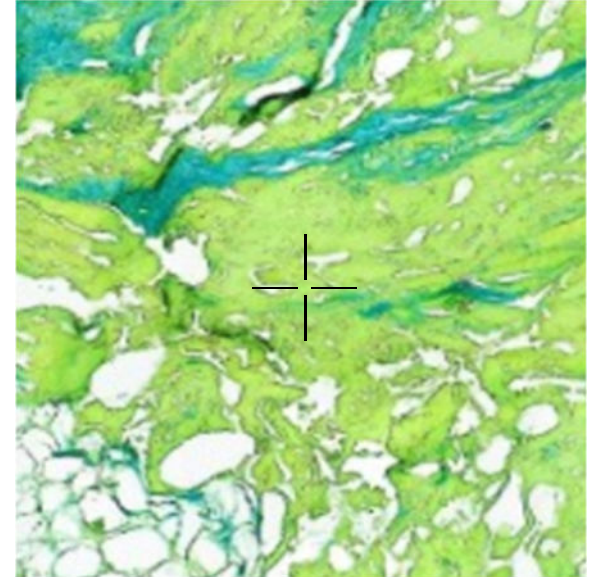
strukturlos



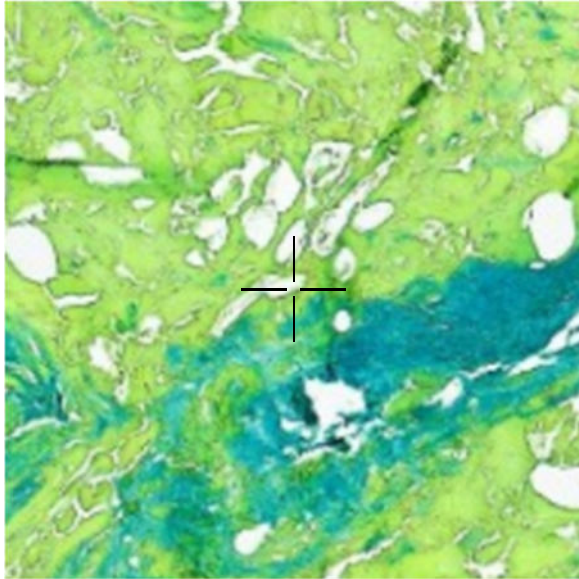
strukturlos



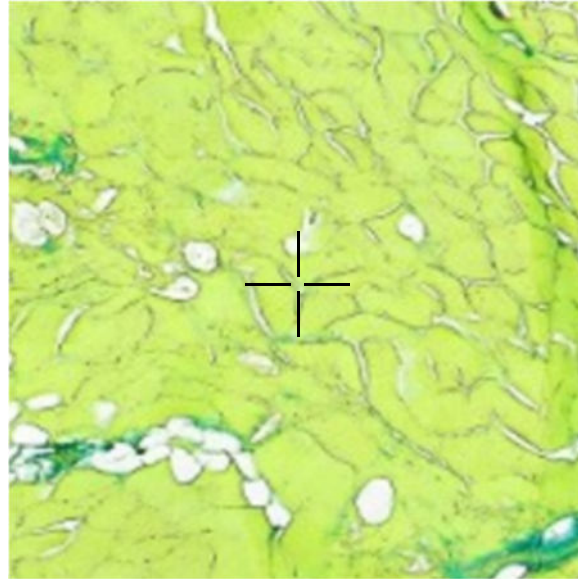
strukturlos



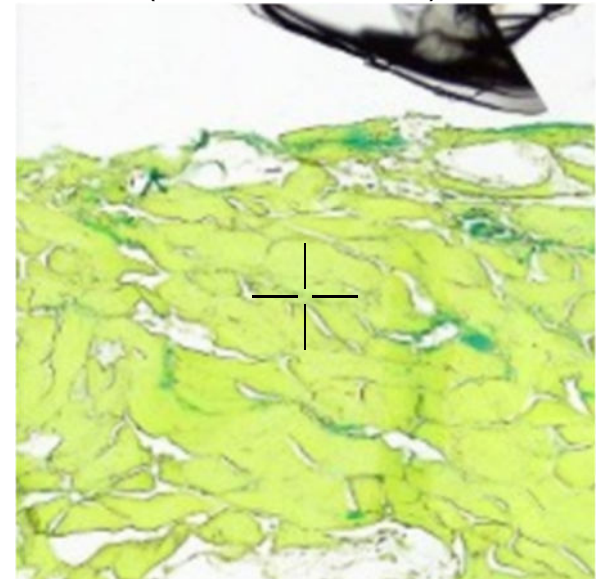
strukturlos o. Vakuole? → vergrößern



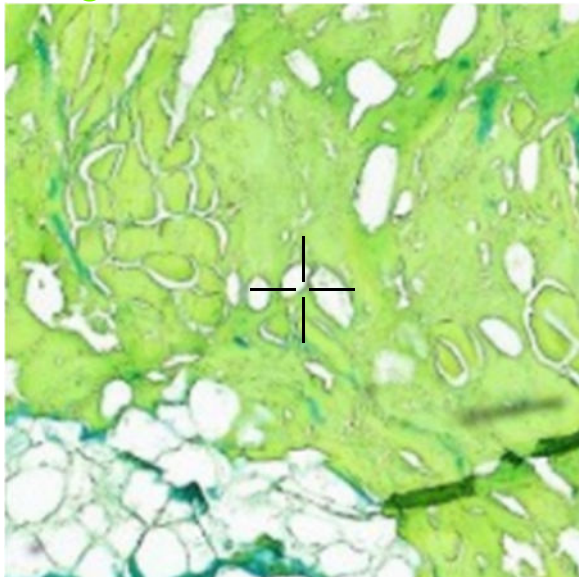
intakt



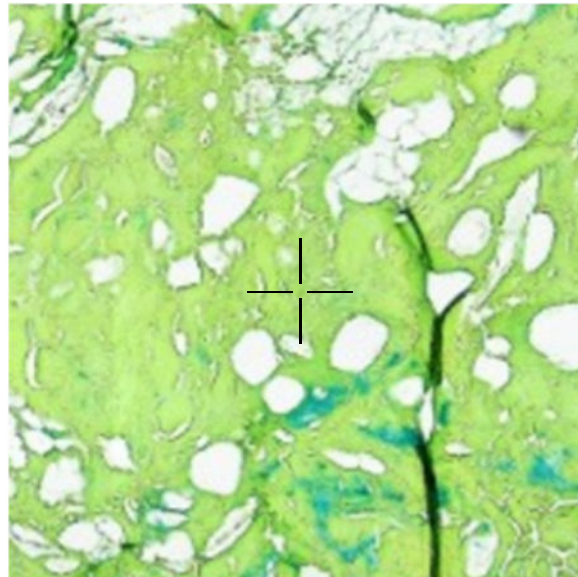
intakt (Sarkolemmreste)



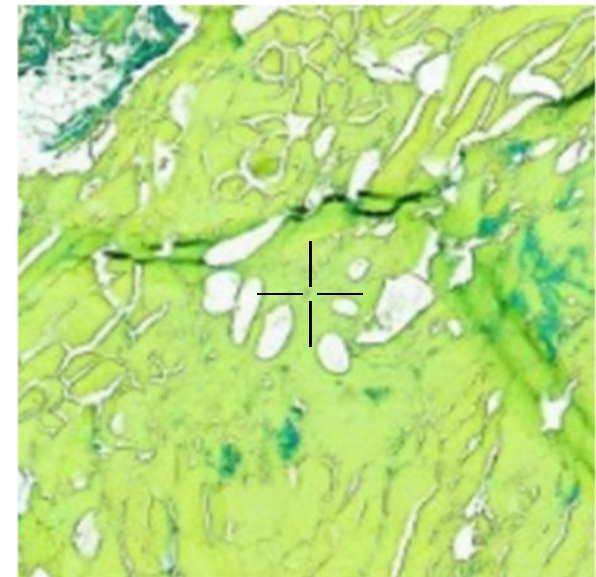
Steg o. Vakuole → vergrößern



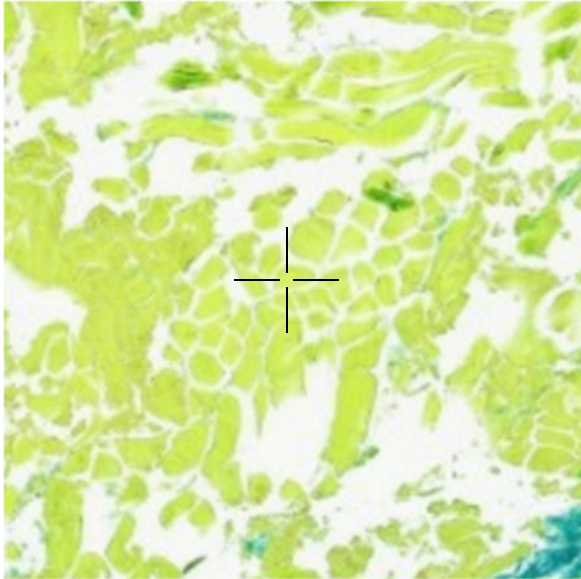
strukturlos



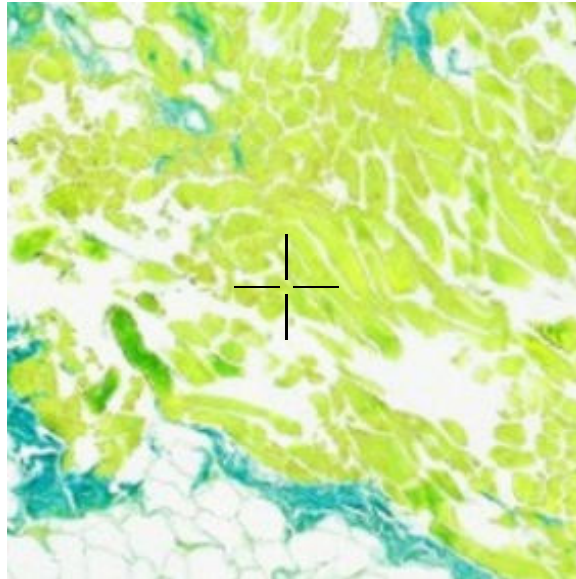
strukturlos



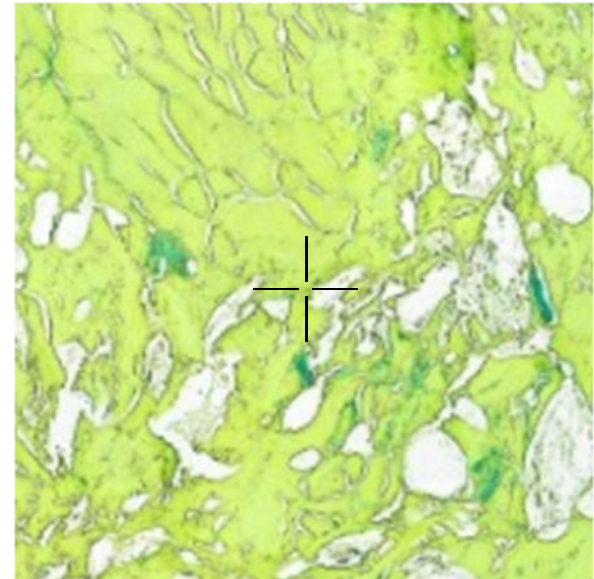
intakt



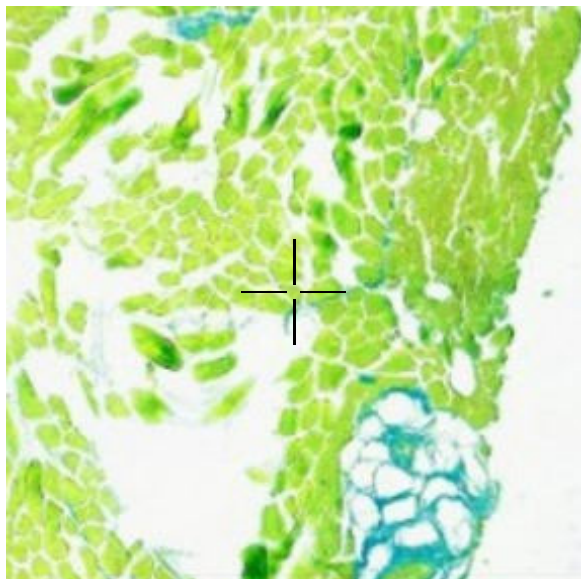
intakt



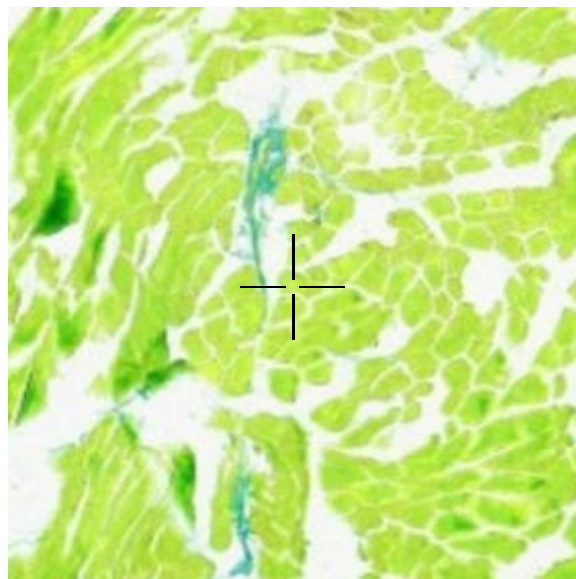
strukturlos? → vergrößern



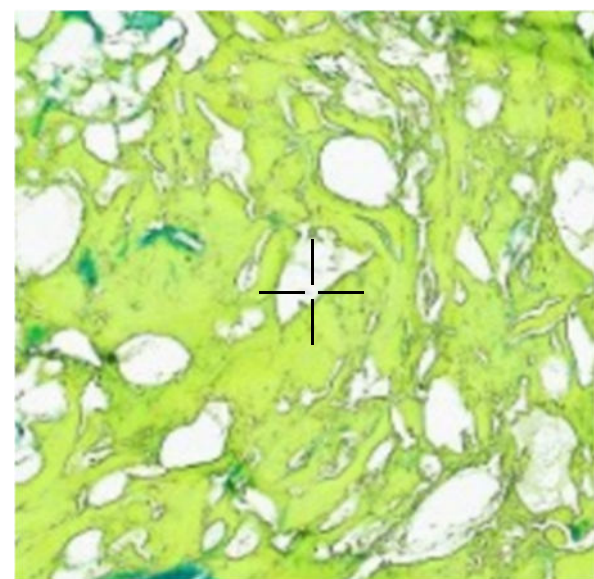
intakt



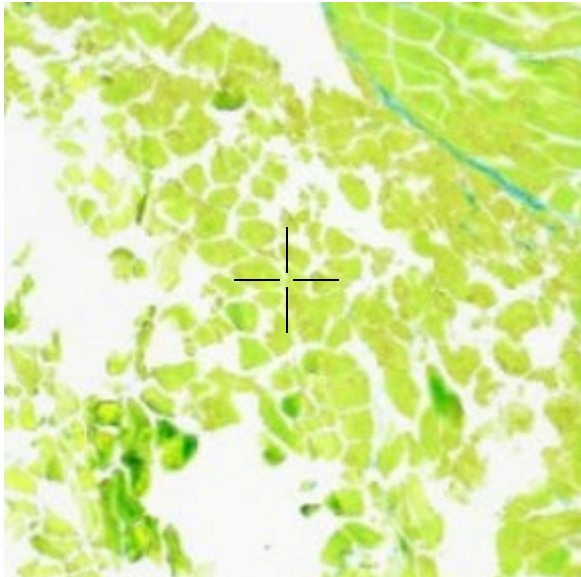
intakt



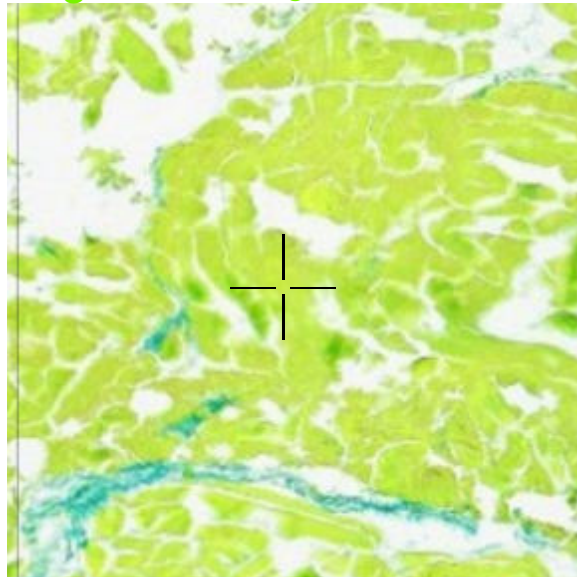
leer



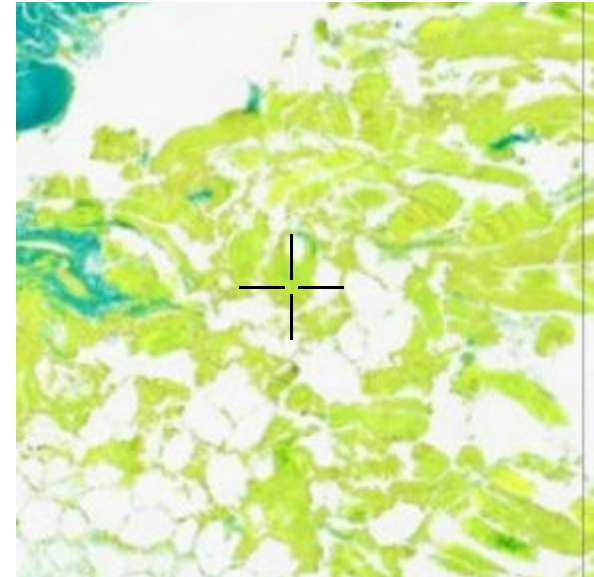
intakt



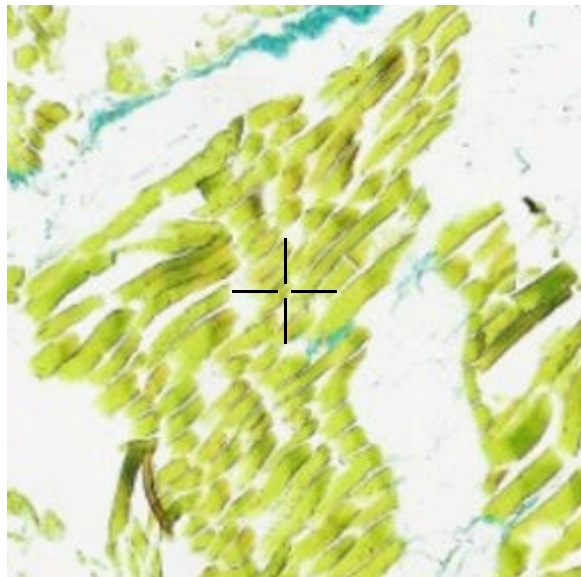
fraglich → vergrößern



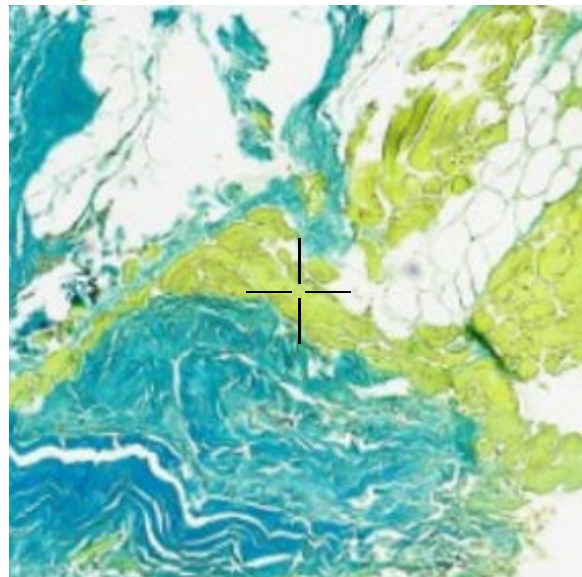
strukturlos



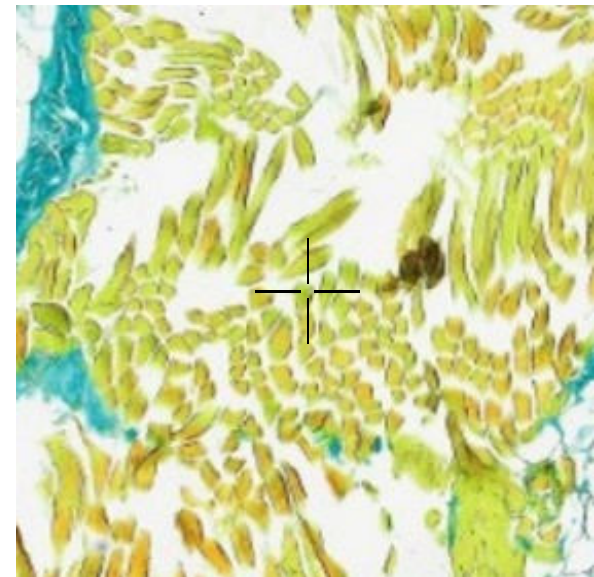
intakt



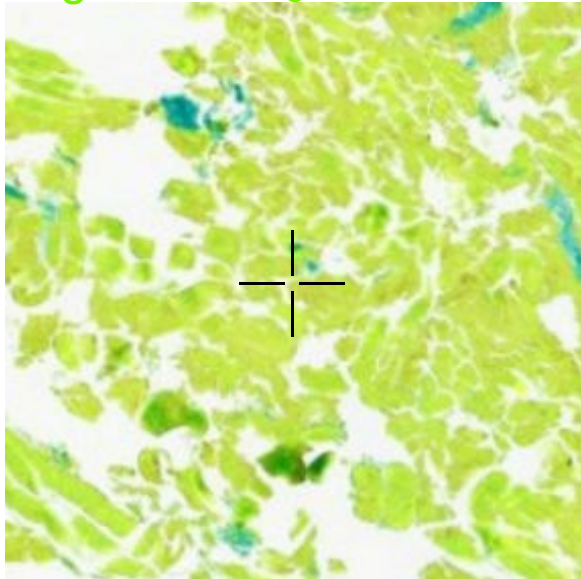
fraglich → vergrößern



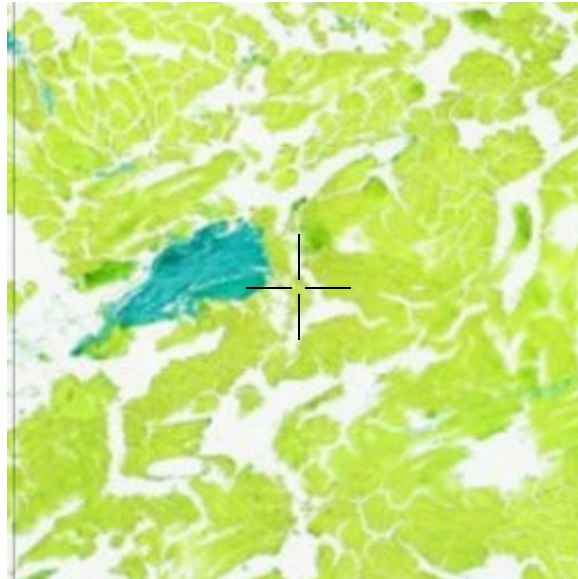
intakt



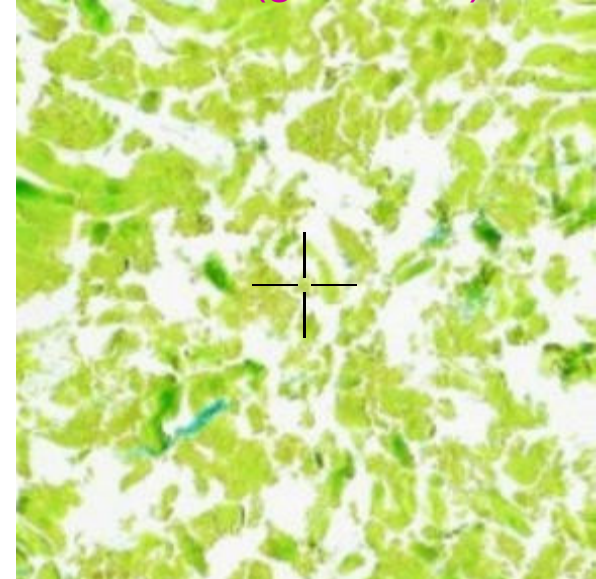
fraglich → vergrößern



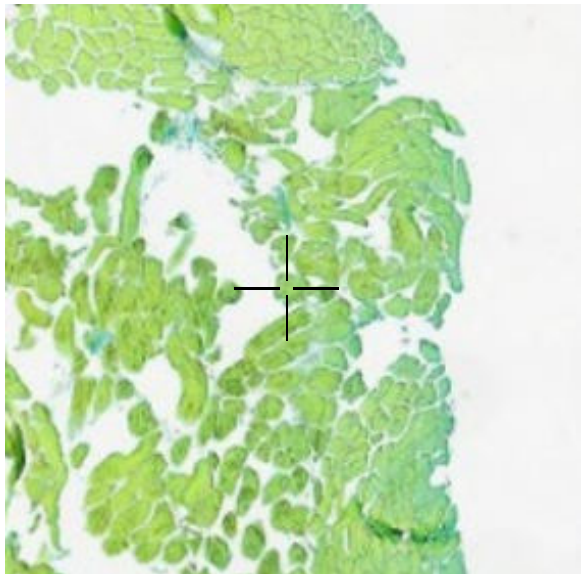
strukturlos



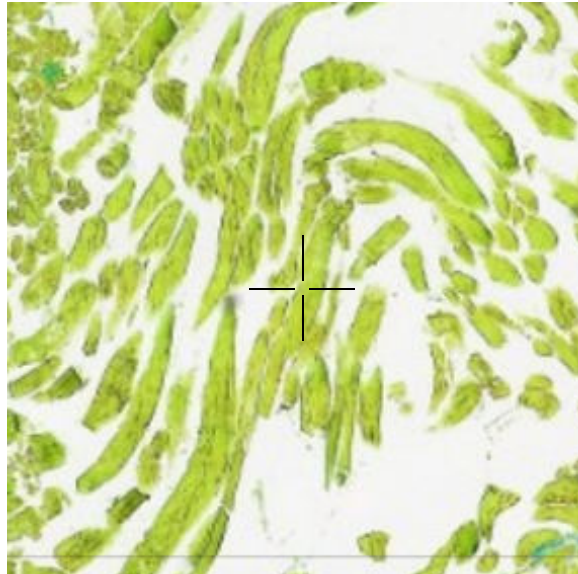
strukturlos (granuliert)



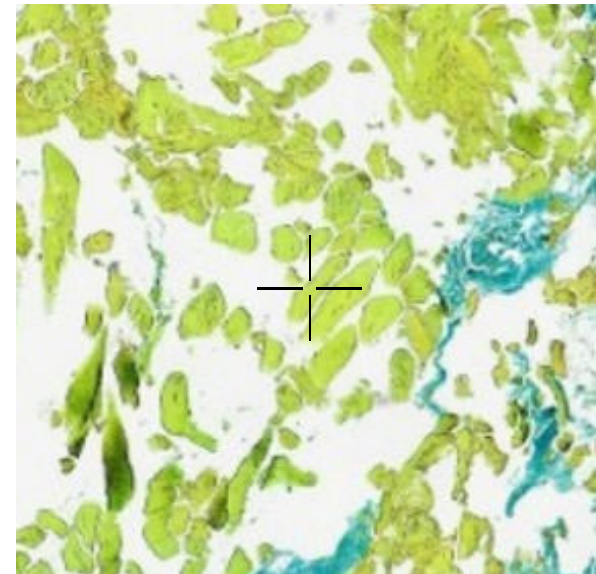
intakt



intakt

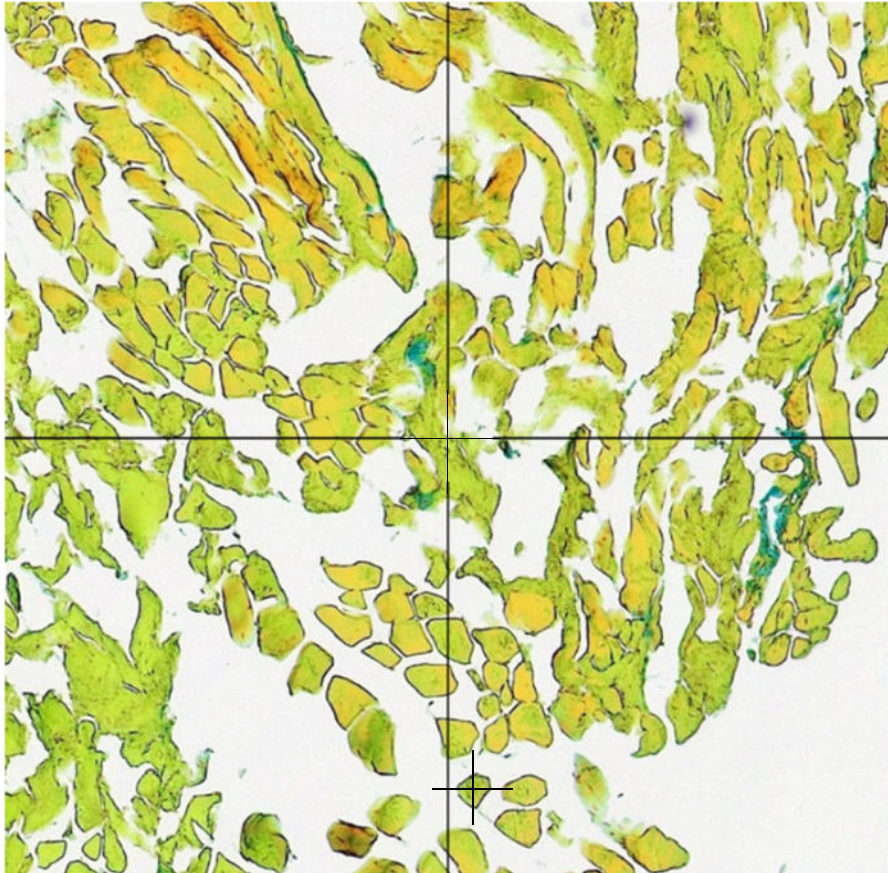


intakt

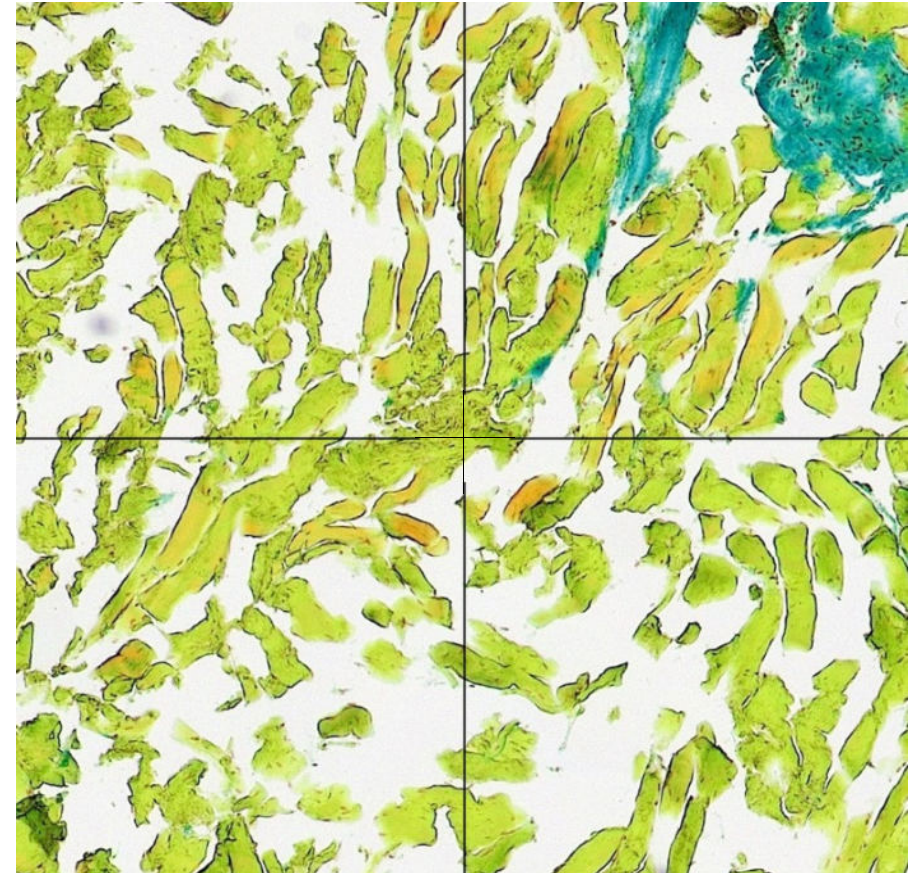




fraglich (Fitzelchen Sarkolemm?) →
vergrößern



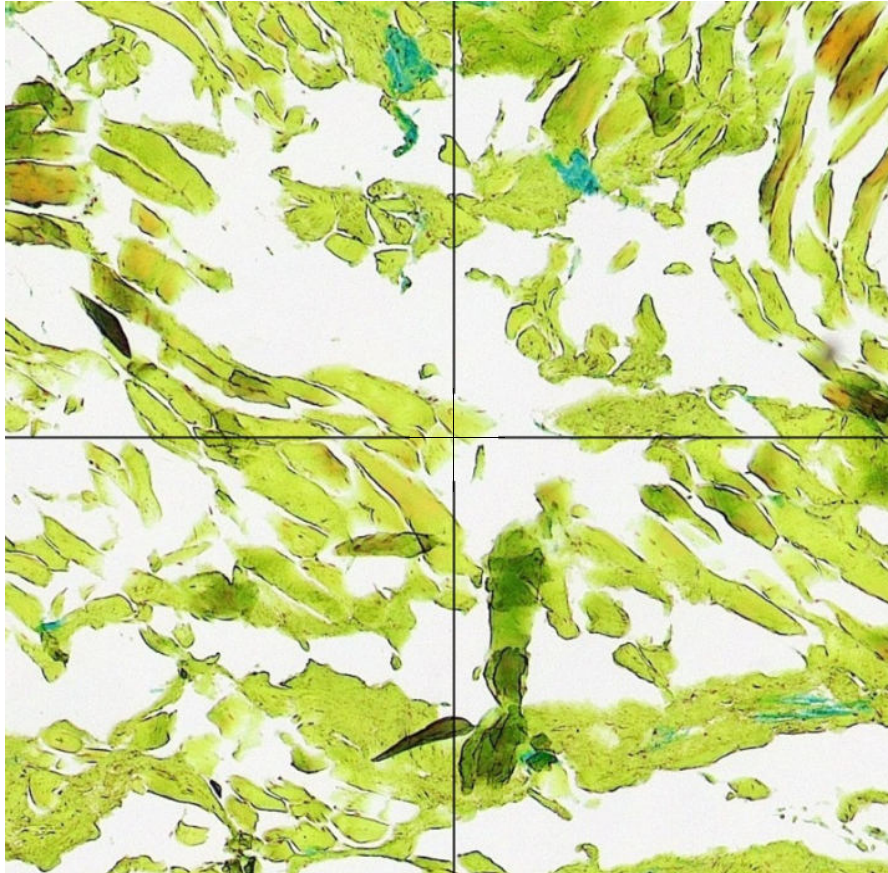
strukturlos



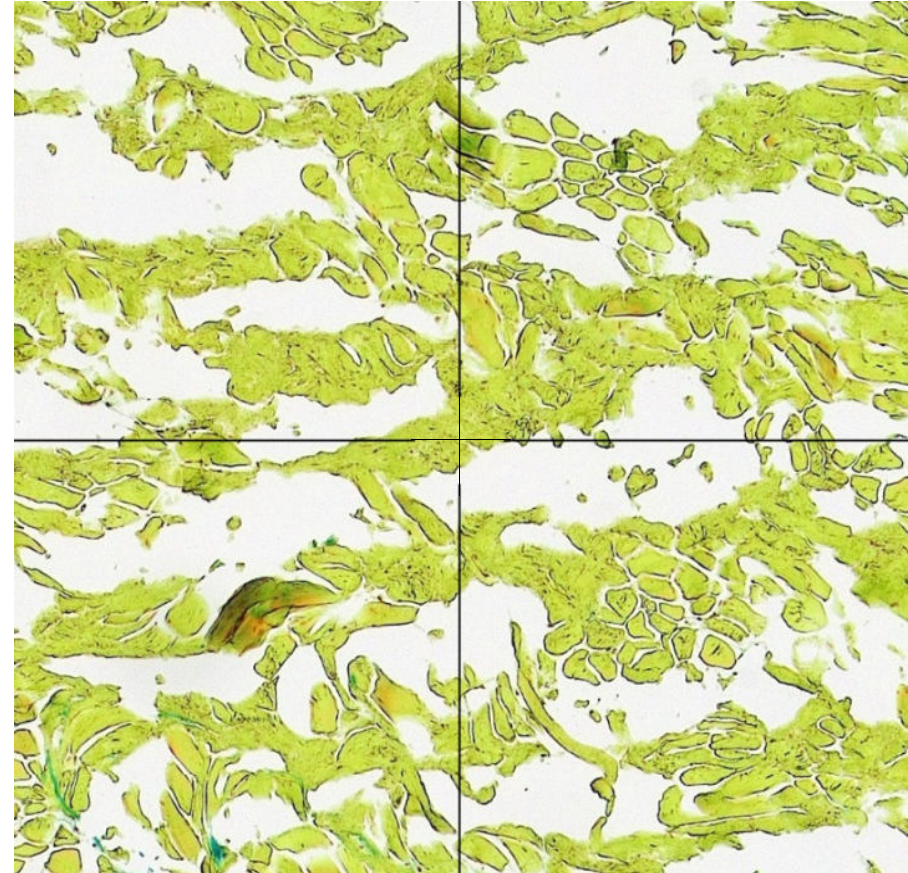
Bilder: CVUA Detmold



intakt (abgebrochene Faser)



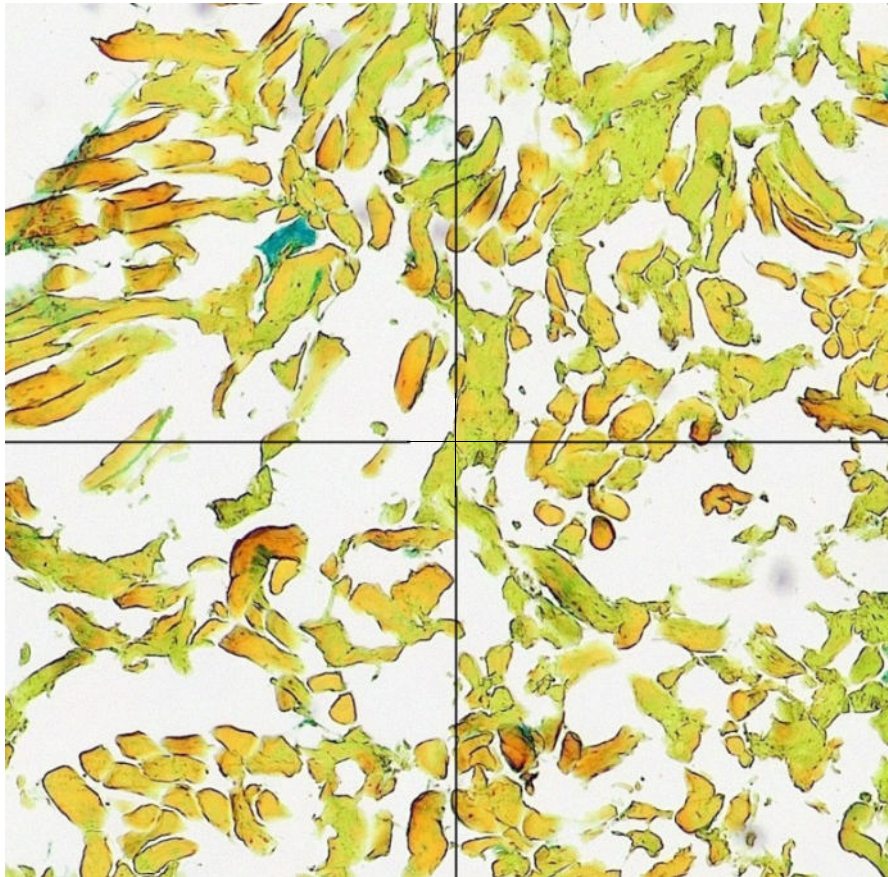
strukturlos



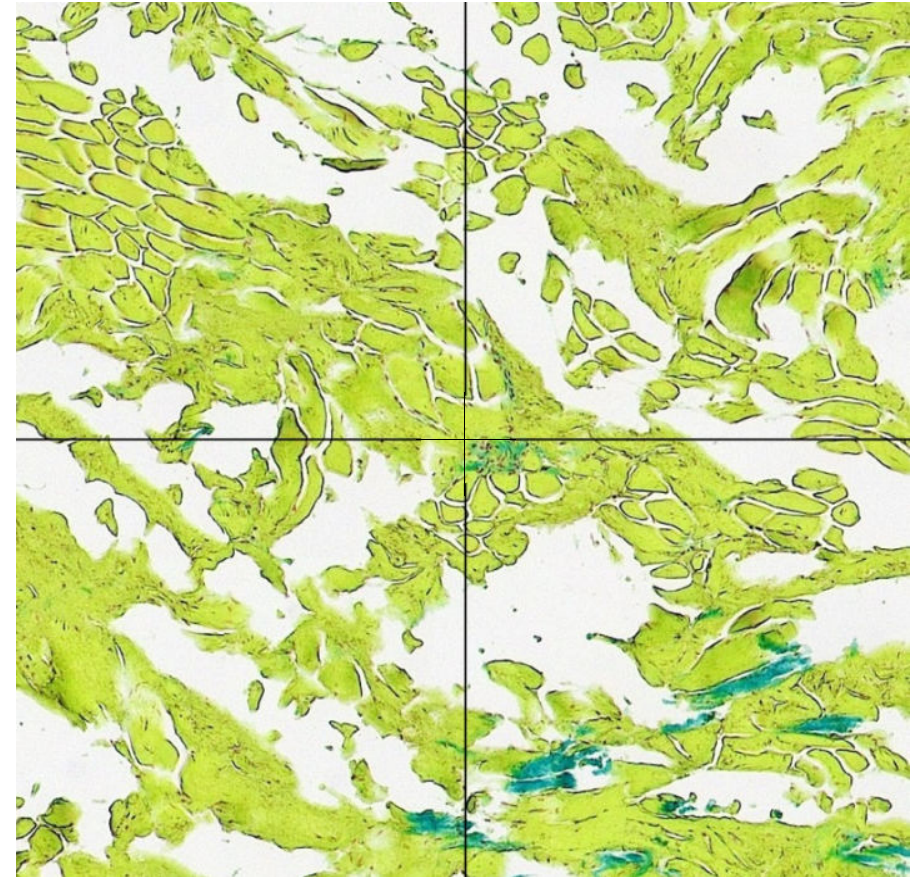
Bilder: CVUA Detmold



intakt (Sarkolemmreste)



strukturlos



Bilder: CVUA Detmold



Übersicht
(40x Vergrößerung)
und jeweils
Ausschnitt daraus mit
Markierungen
(100x Vergrößerung)

Hackfleisch, gemischt – überwiegend intakt

Übersicht: 40x

Gemischtes Hackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, Calleja-Färbung

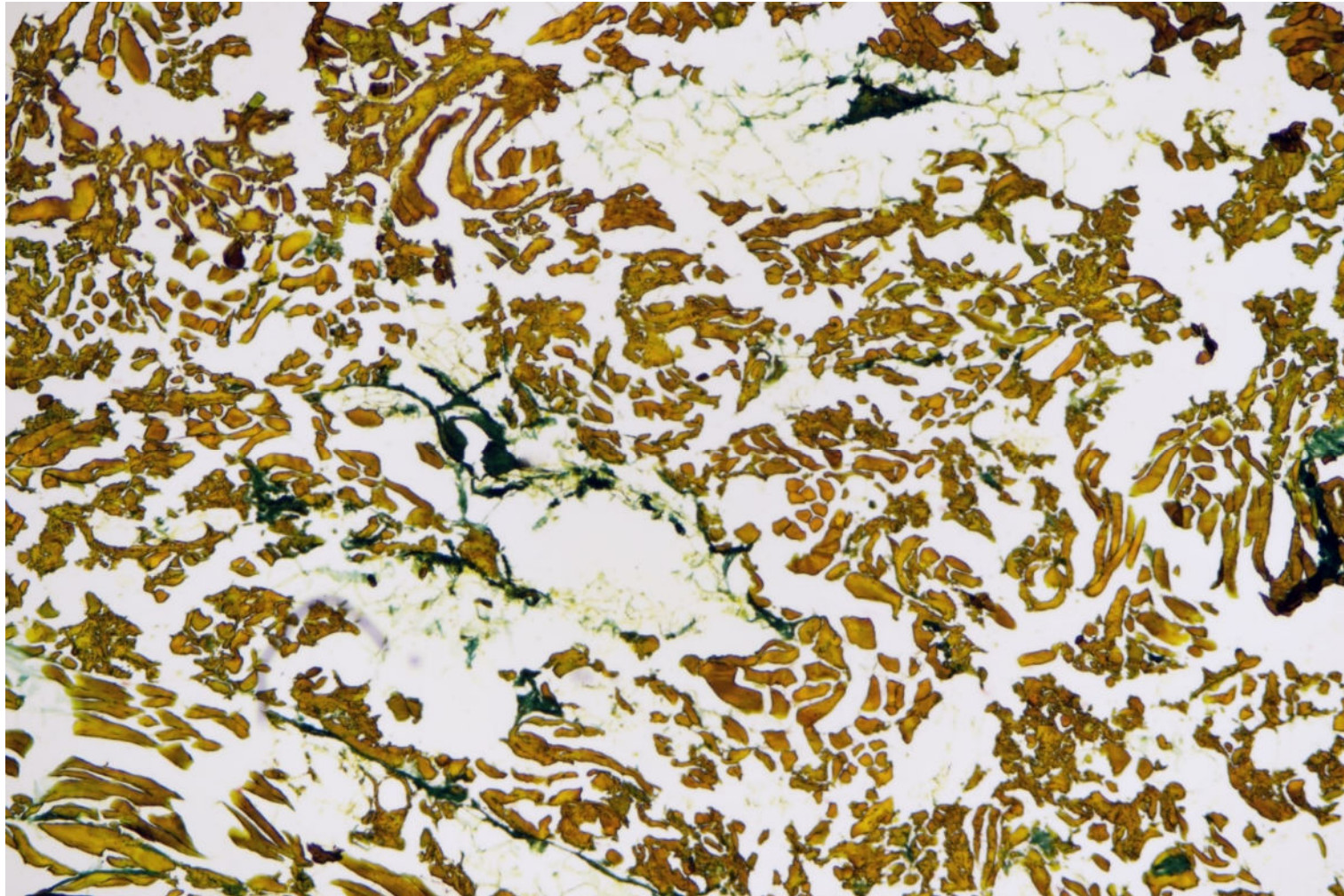
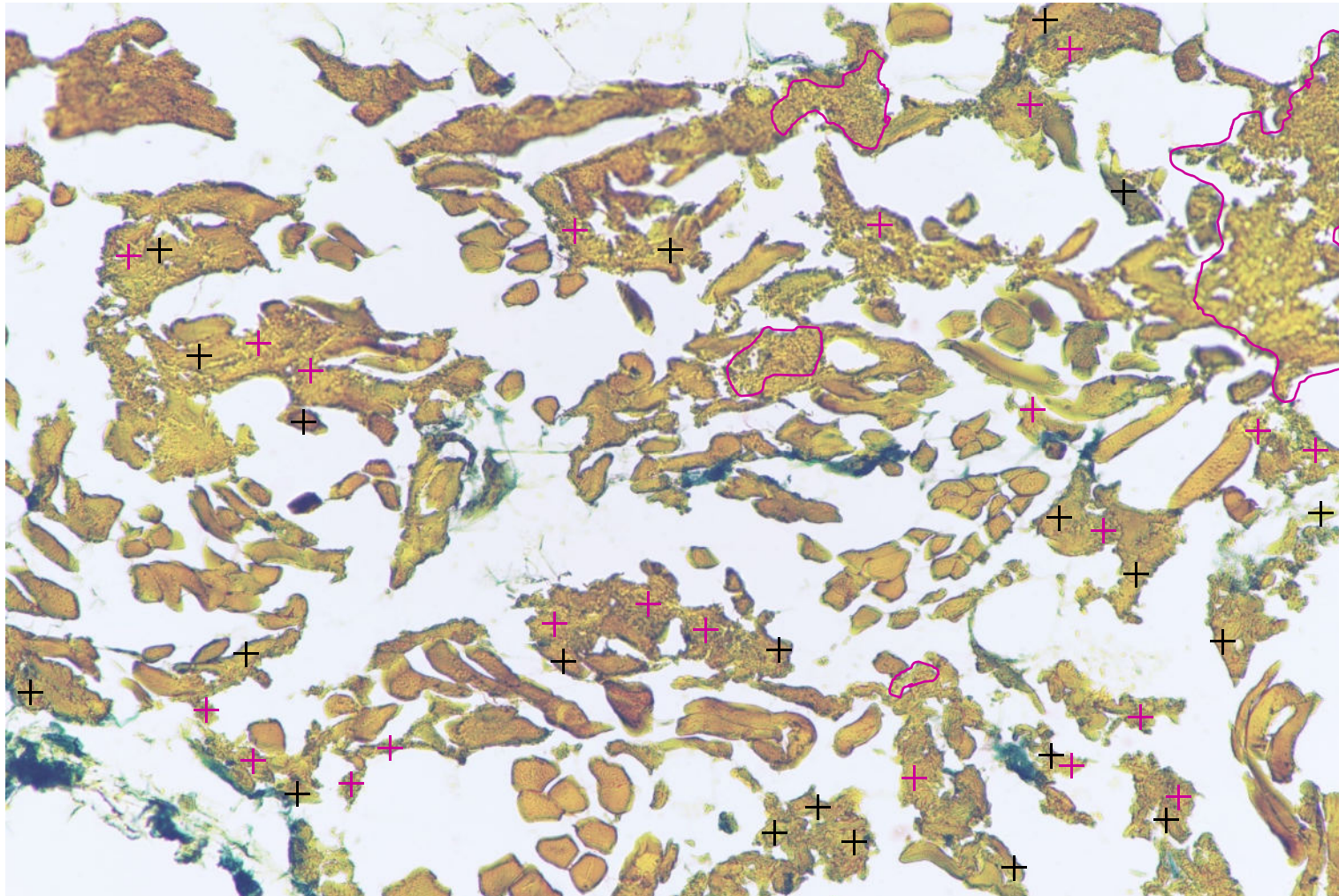


Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, gemischt

Gemischtes Hackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, Calleja-Färbung, **100x**



- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, Rind – überwiegend intakt

Übersicht: 40x

Rinderhackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, Calleja-Färbung,

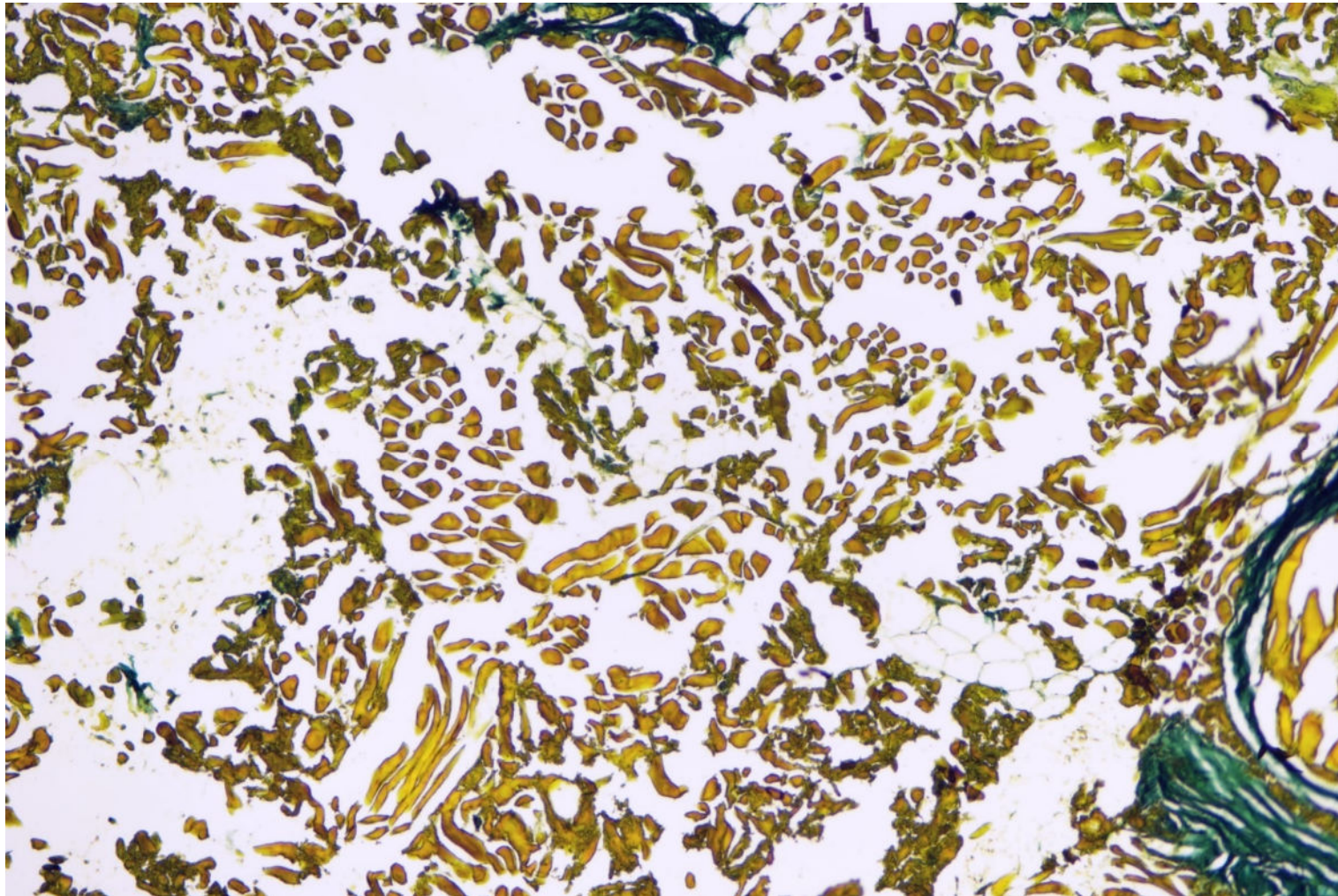
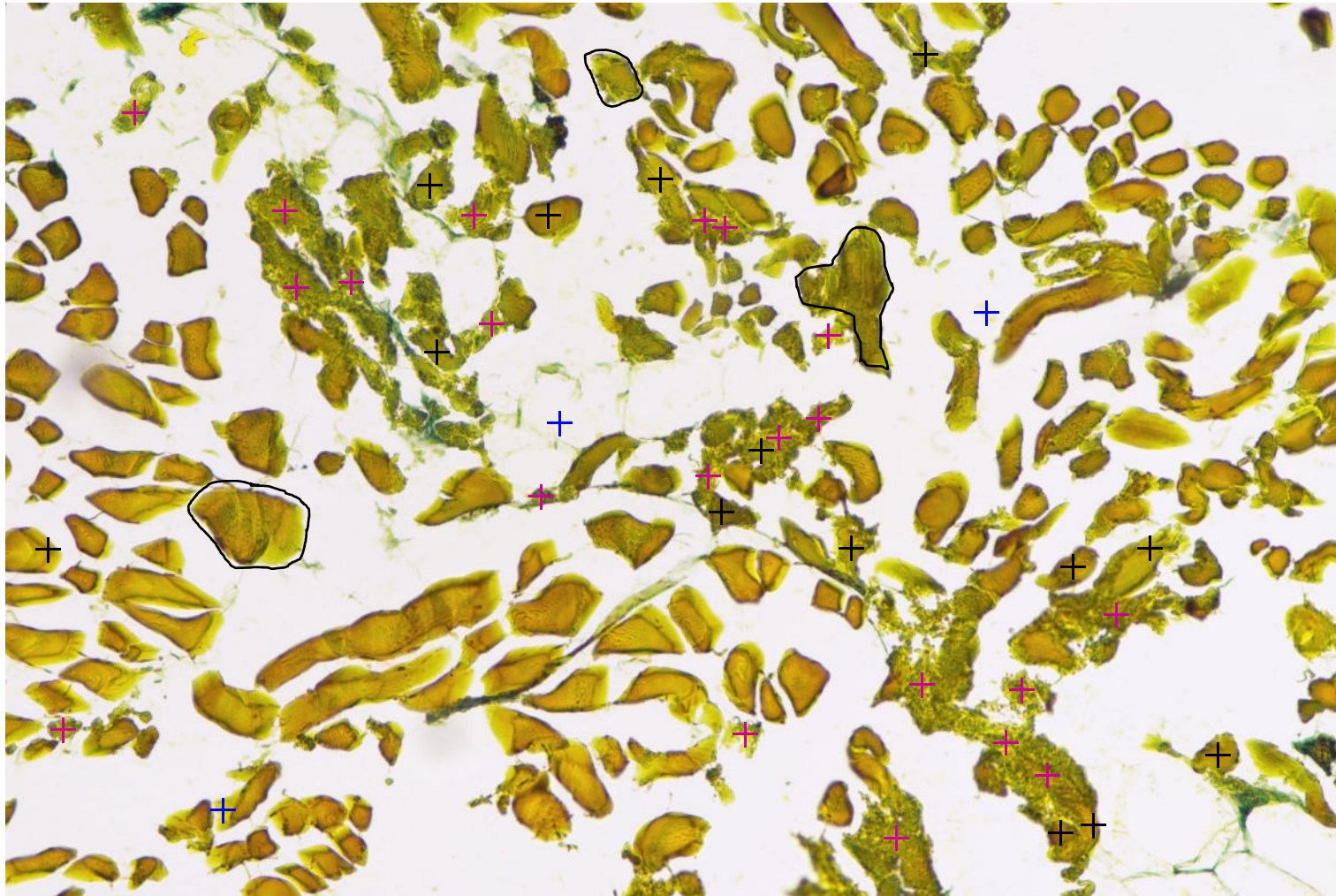


Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, Rind

Rinderhackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, Calleja-Färbung, 100x



- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, gemischt – überwiegend intakt

Übersicht: 40x

Gemischtes Hackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, HE-Färbung

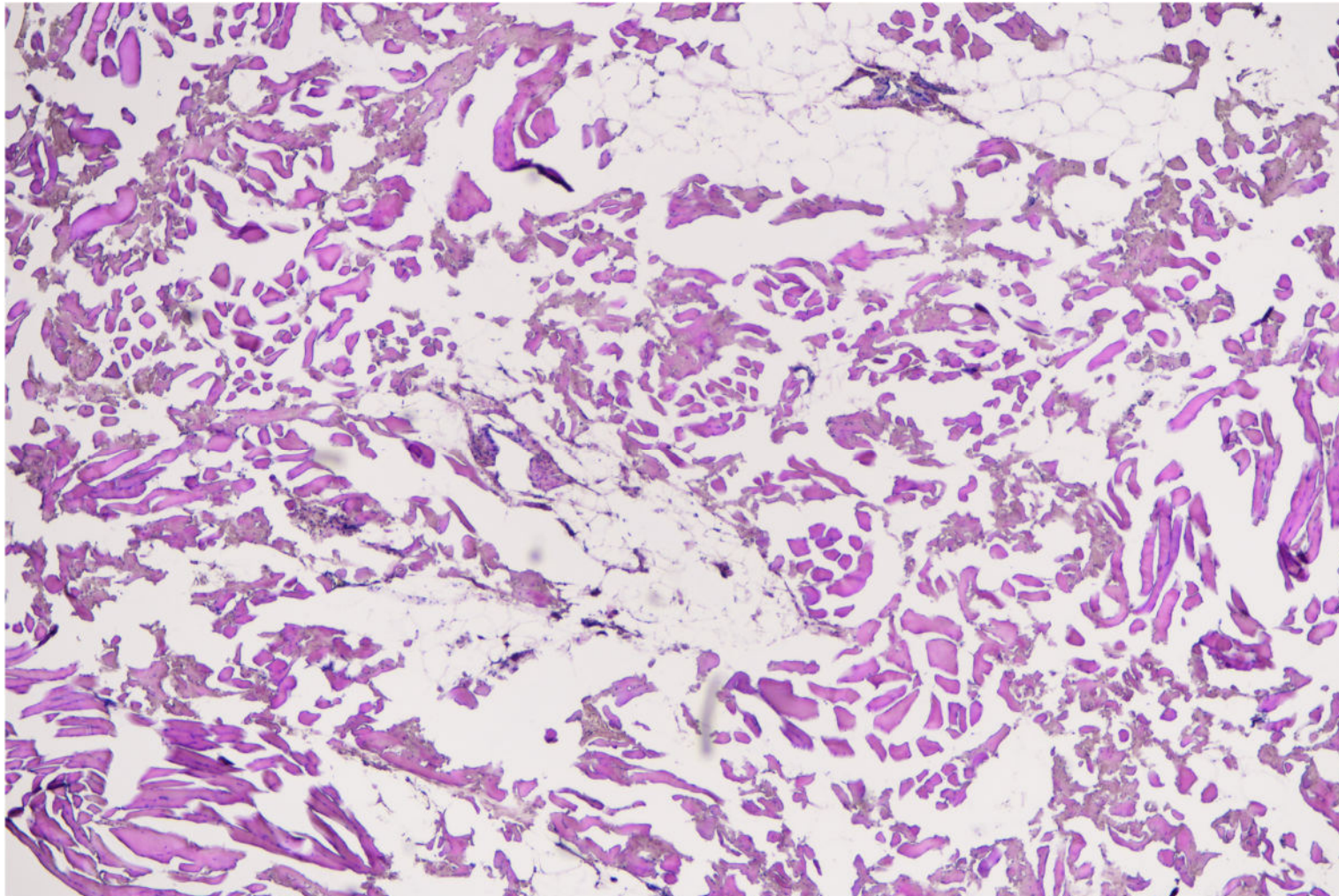
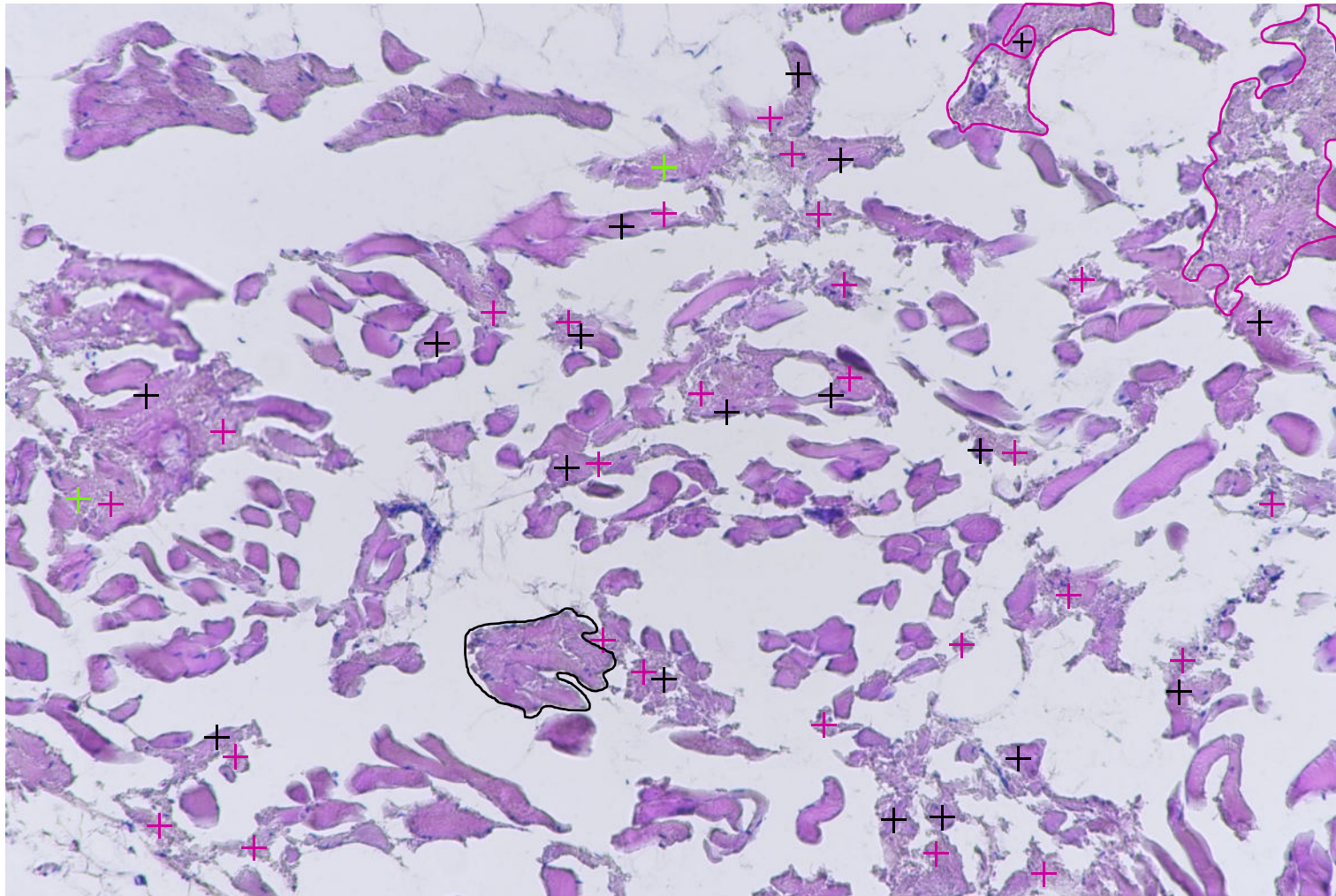


Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, gemischt

Gemischtes Hackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, HE-Färbung, **100x**



- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, Rind – überwiegend intakt

Übersicht: 40x

Rinderhackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, HE-Färbung

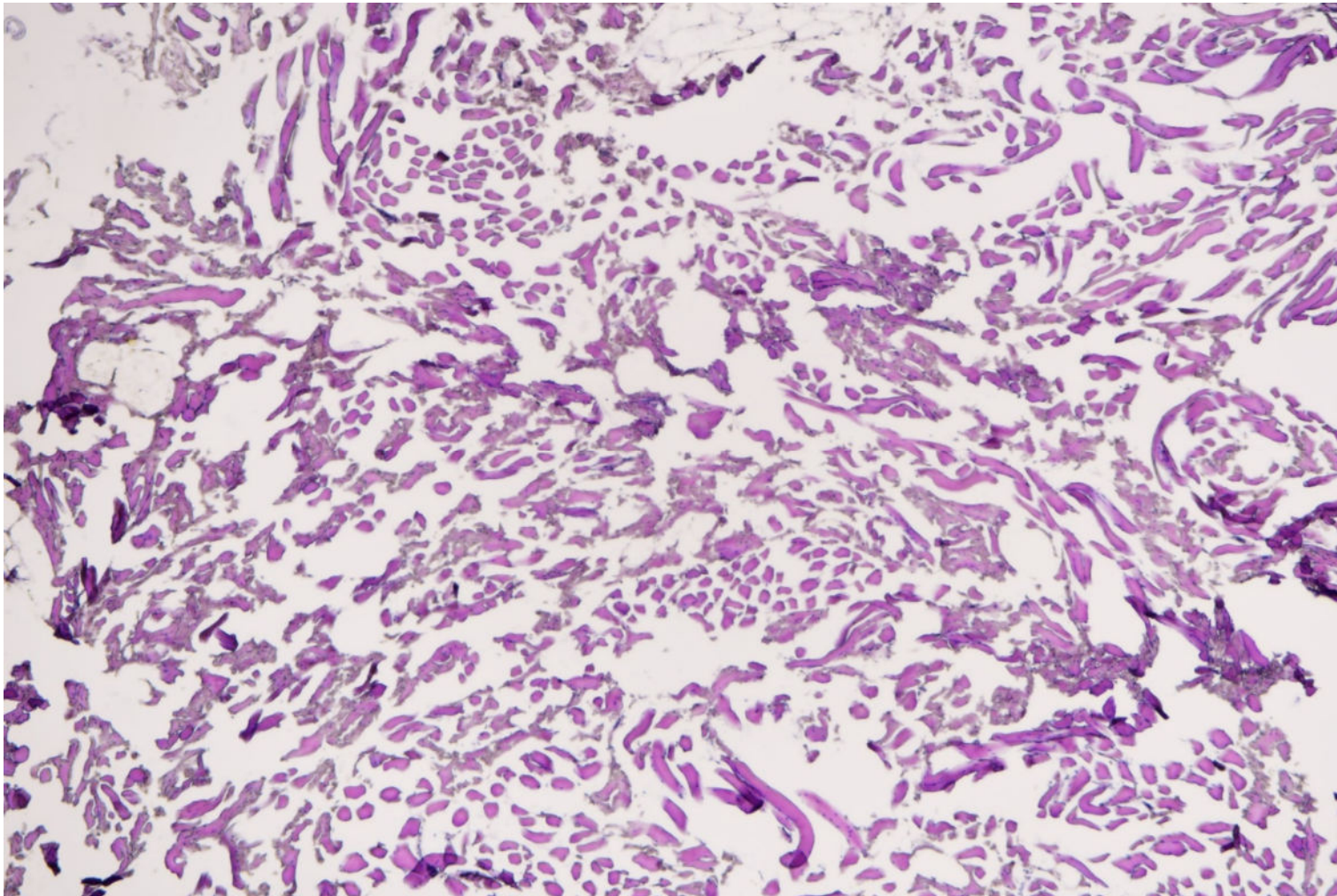
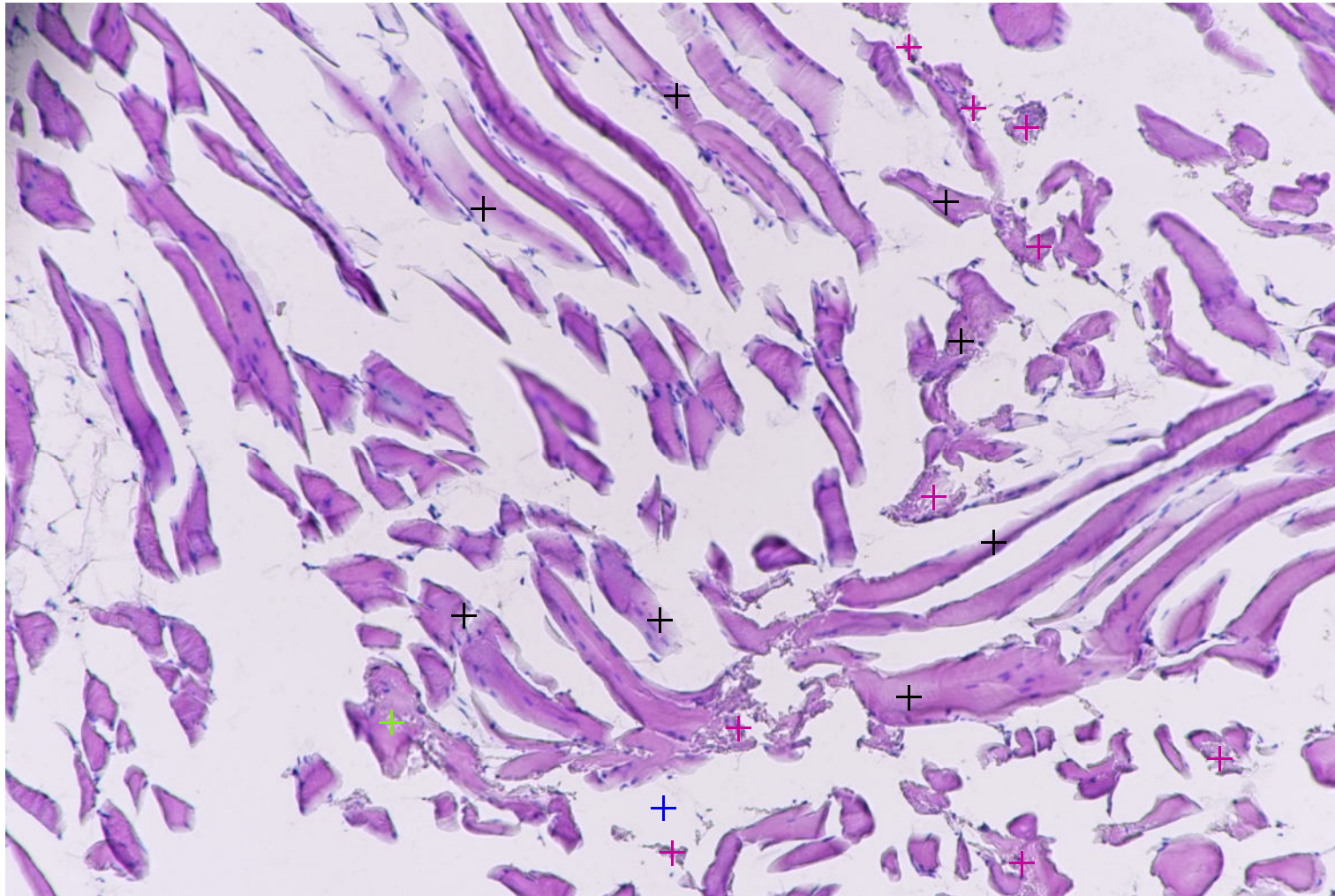


Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, Rind

Rinderhackfleisch, 1 x gewolft,
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, HE-Färbung, 100x



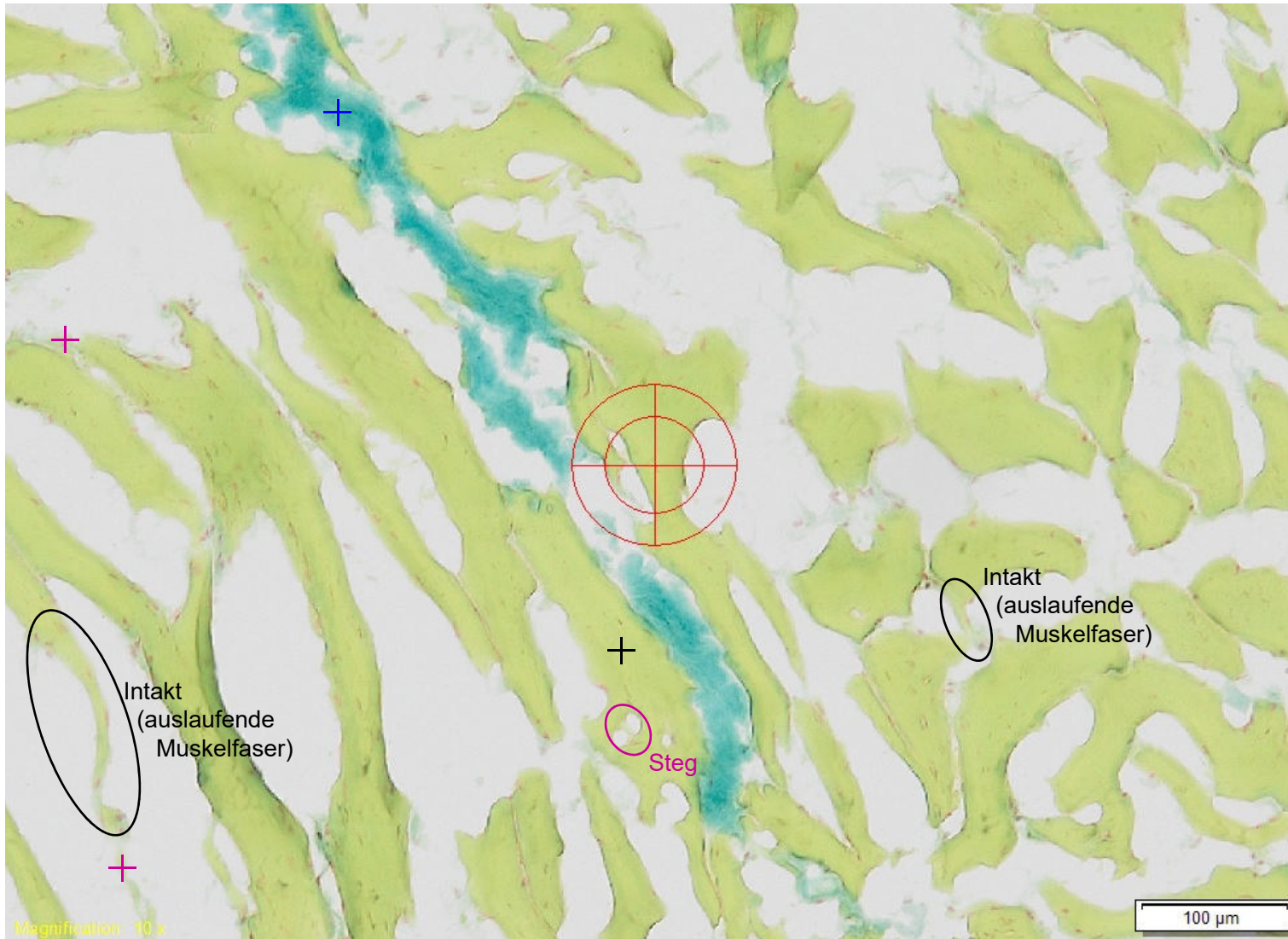
- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Bild:
LHL Gießen



Detailaufnahmen mit Markierungen (100x Vergrößerung)

Hackfleisch, Rind



 **intakt**
(rechts und links Sarko-lemmreste)

- intakt**
- strukturlos**
- leer**
- zweifelhaft**

Intakt
(auslaufende Muskelfaser)

Intakt
(auslaufende Muskelfaser)

Steg

Rinderhackfleisch
Gefrierschnitt, nativ
geschnitten, **100x**
Calleja-Färbung

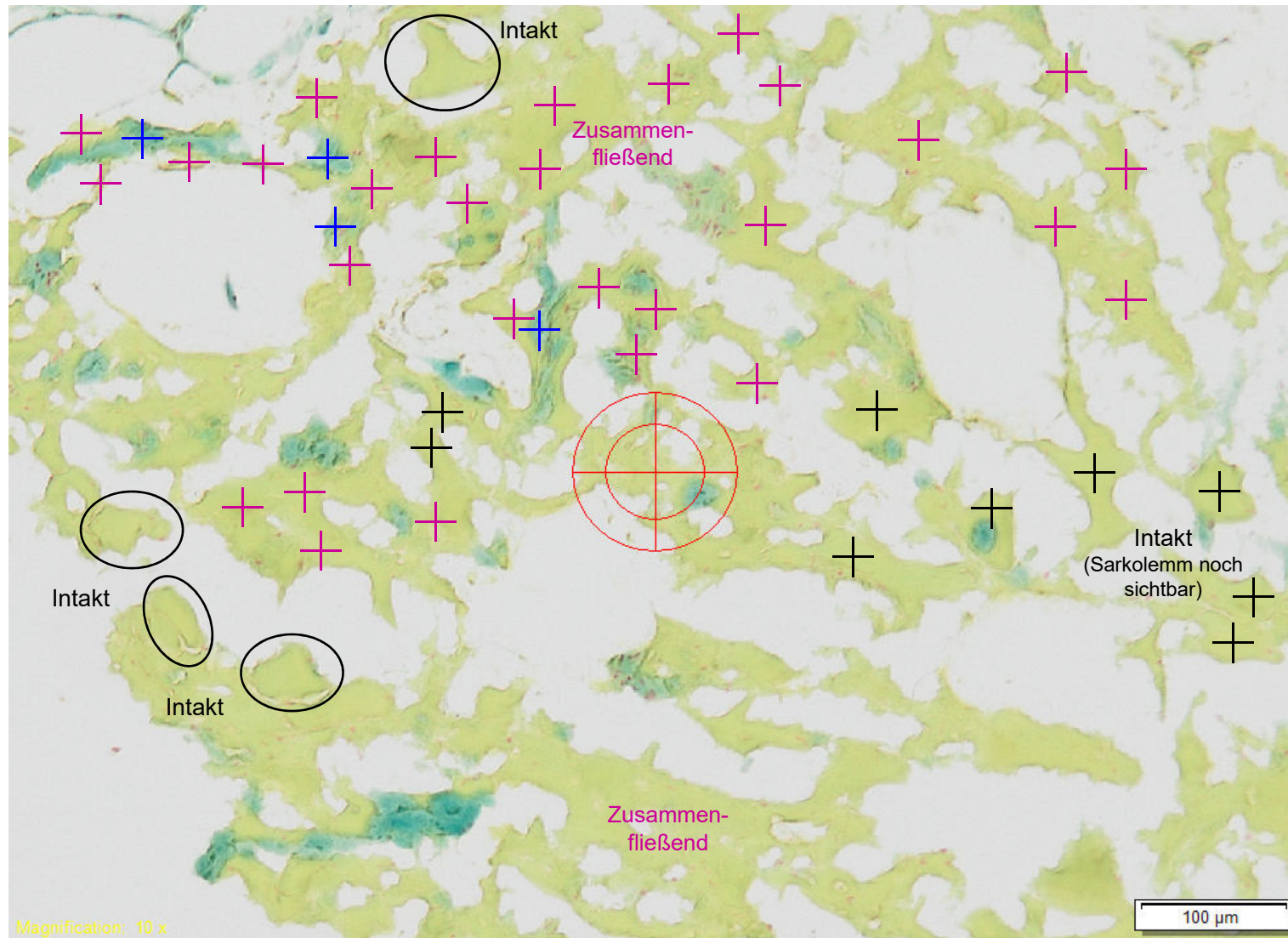
Bild: LGL Erlangen

Hackfleisch, Rind – überwiegend strukturlos



strukturlos

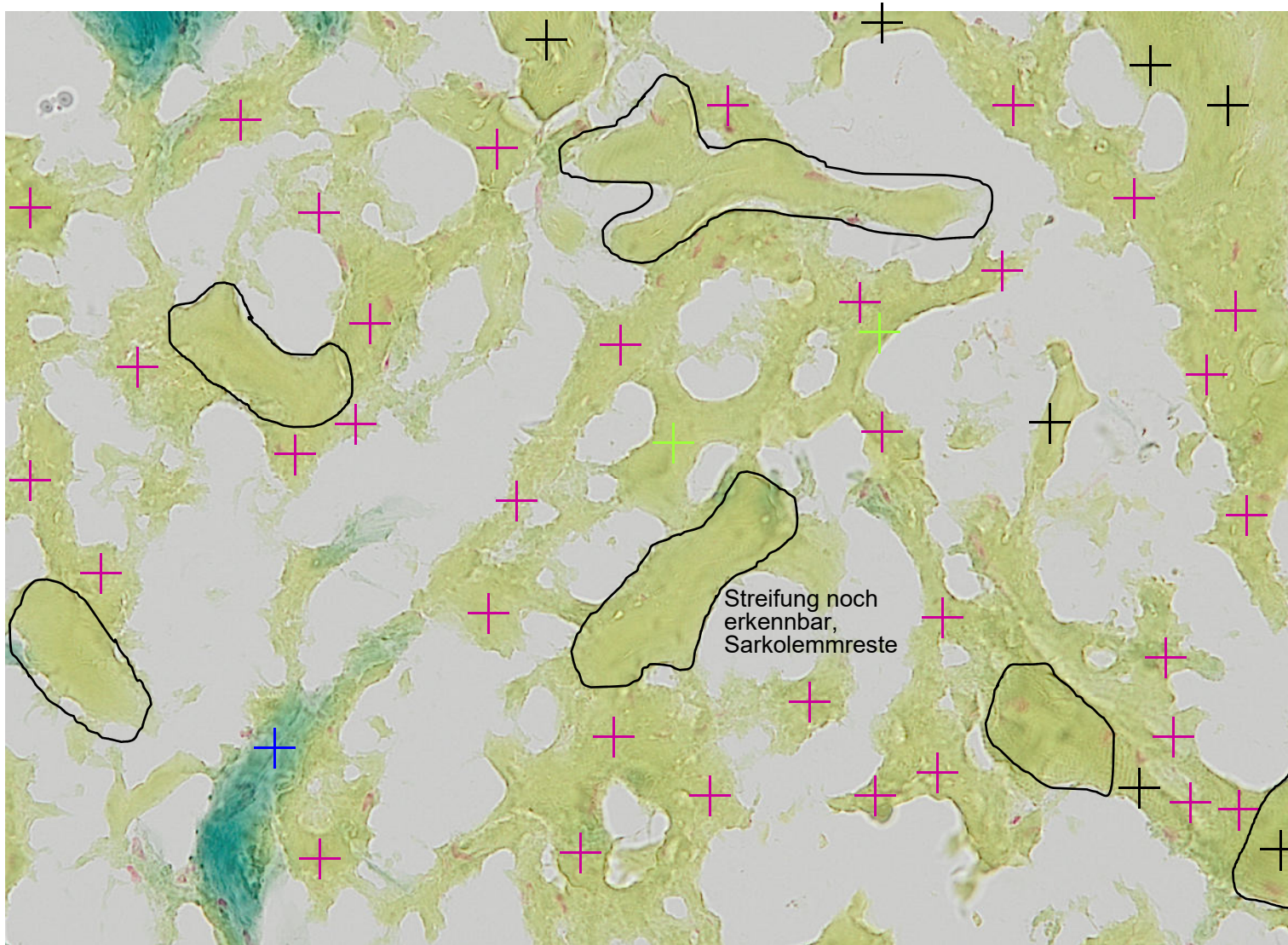
- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft



Rinderhackfleisch
 Gefrierschnitt, nativ
 geschnitten, **100x**
 Calleja-Färbung

Bild: LGL Erlangen

Hackfleisch, Rind

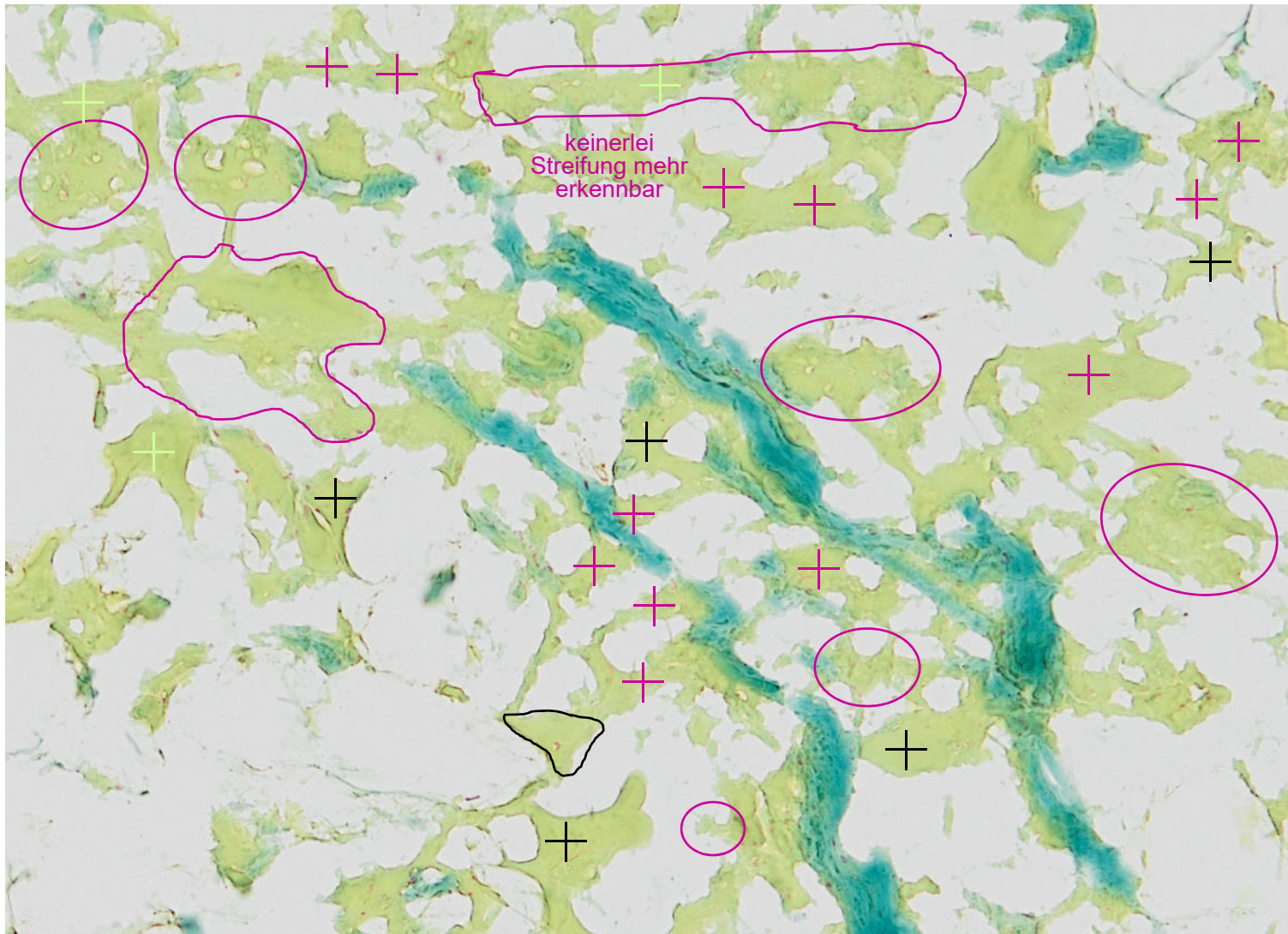


- intakt**
- strukturlos**
- leer**
- zweifelhaft**
(fehlende Querstreifung)

Rinderhackfleisch
Gefrierschnitt, nativ
geschnitten, **100x**
Calleja-Färbung,

Bild: LGL Erlangen

Hackfleisch, Rind – überwiegend strukturlos

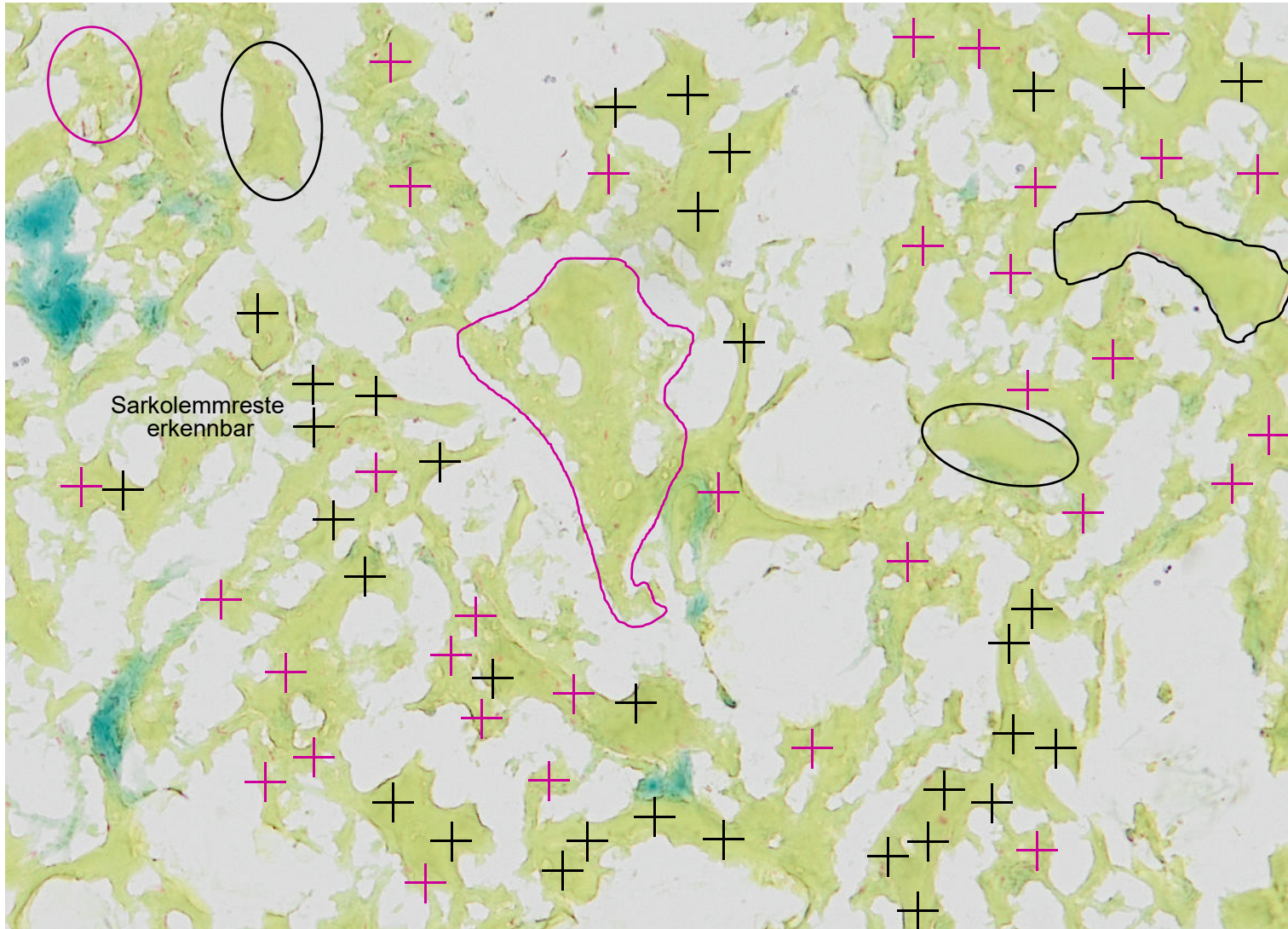


- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Rinderhackfleisch
Gefrierschnitt, nativ
geschnitten, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: LGL Erlangen

Hackfleisch, Rind – überwiegend strukturlos

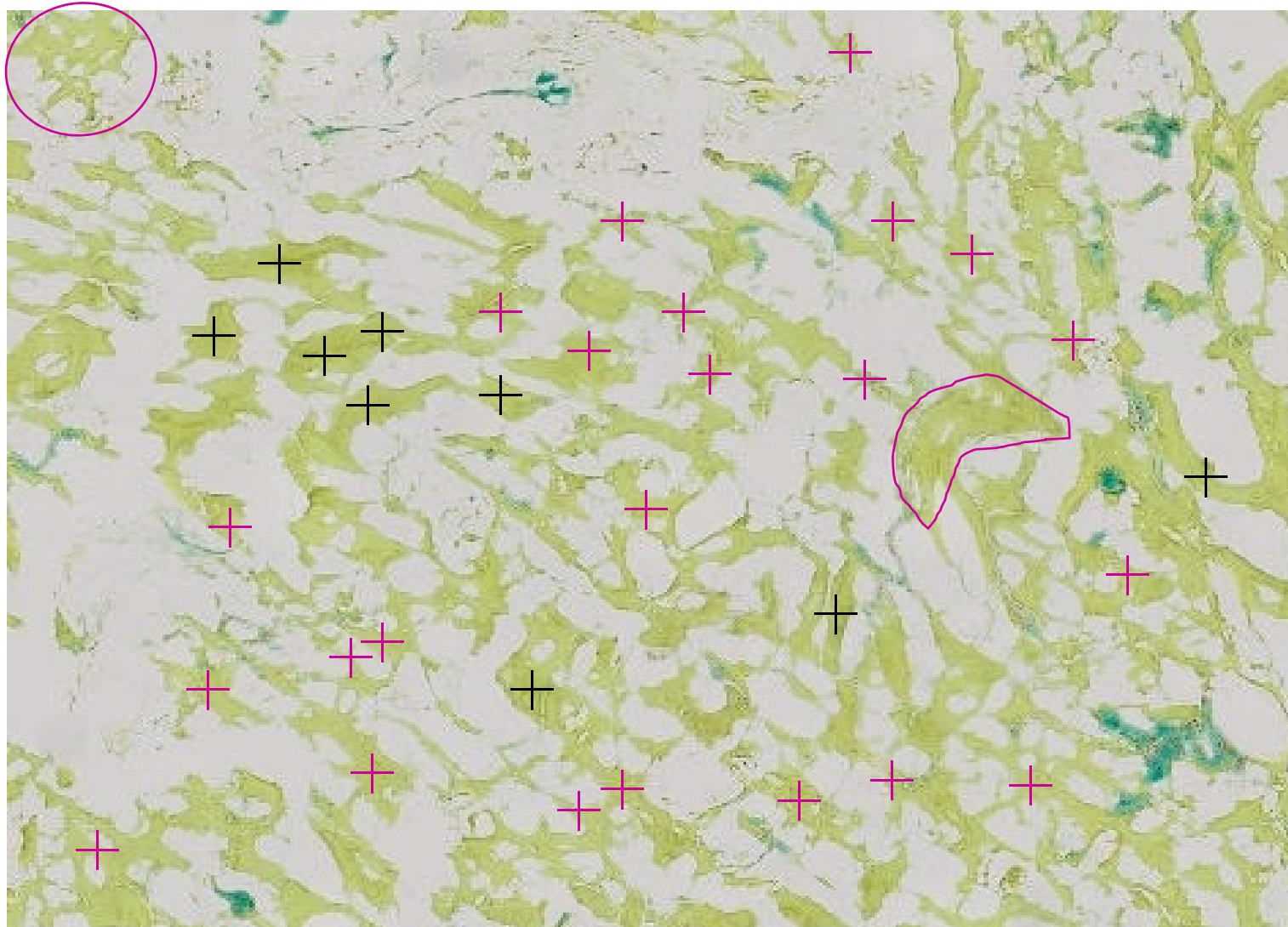


- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Rinderhackfleisch
Gefrierschnitt, nativ
Geschnitten, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: LGL Erlangen

Hackfleisch, Rind – überwiegend zerstört

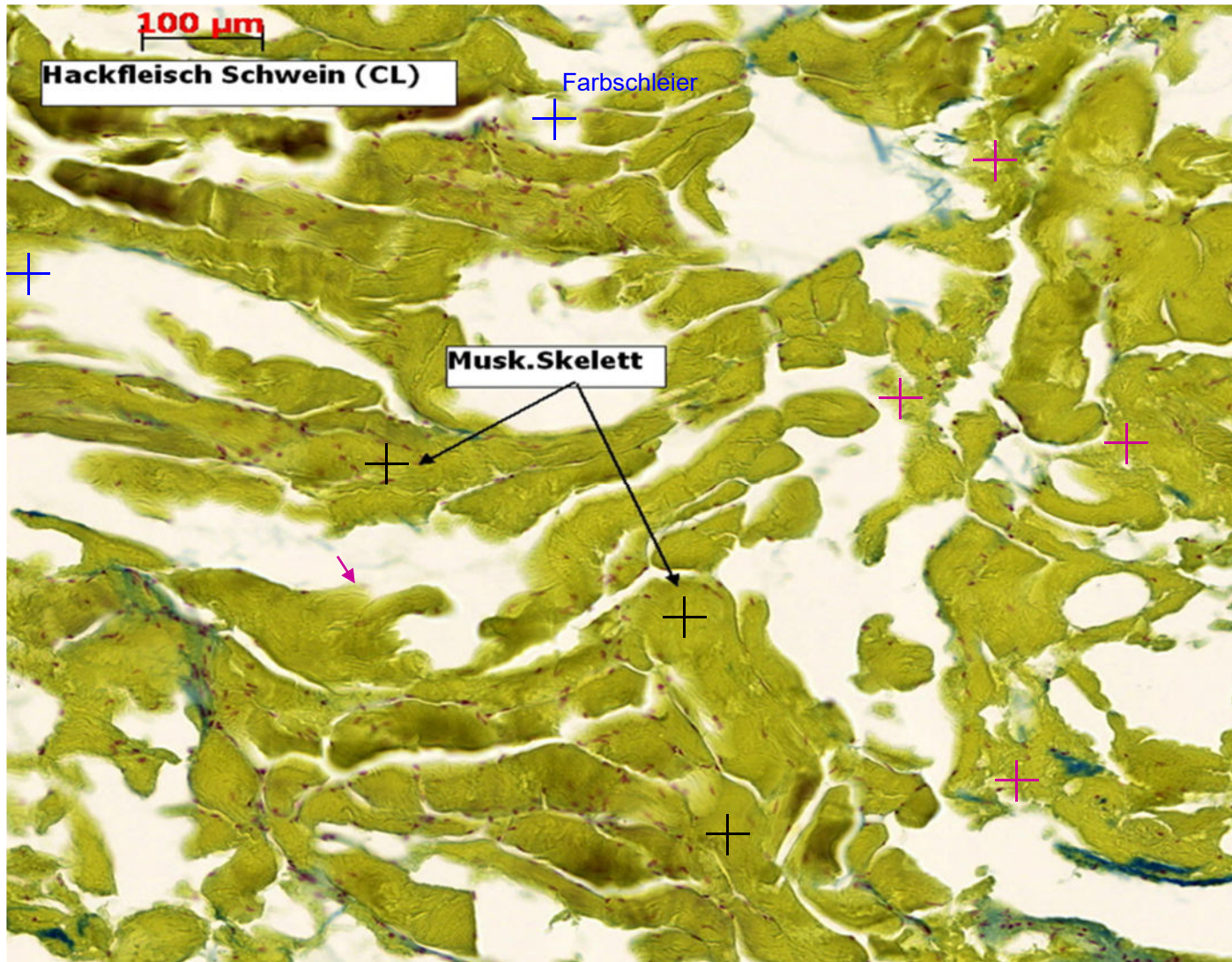


- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Rinderhackfleisch
Gefrierschnitt, nativ
geschnitten, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: LGL Erlangen

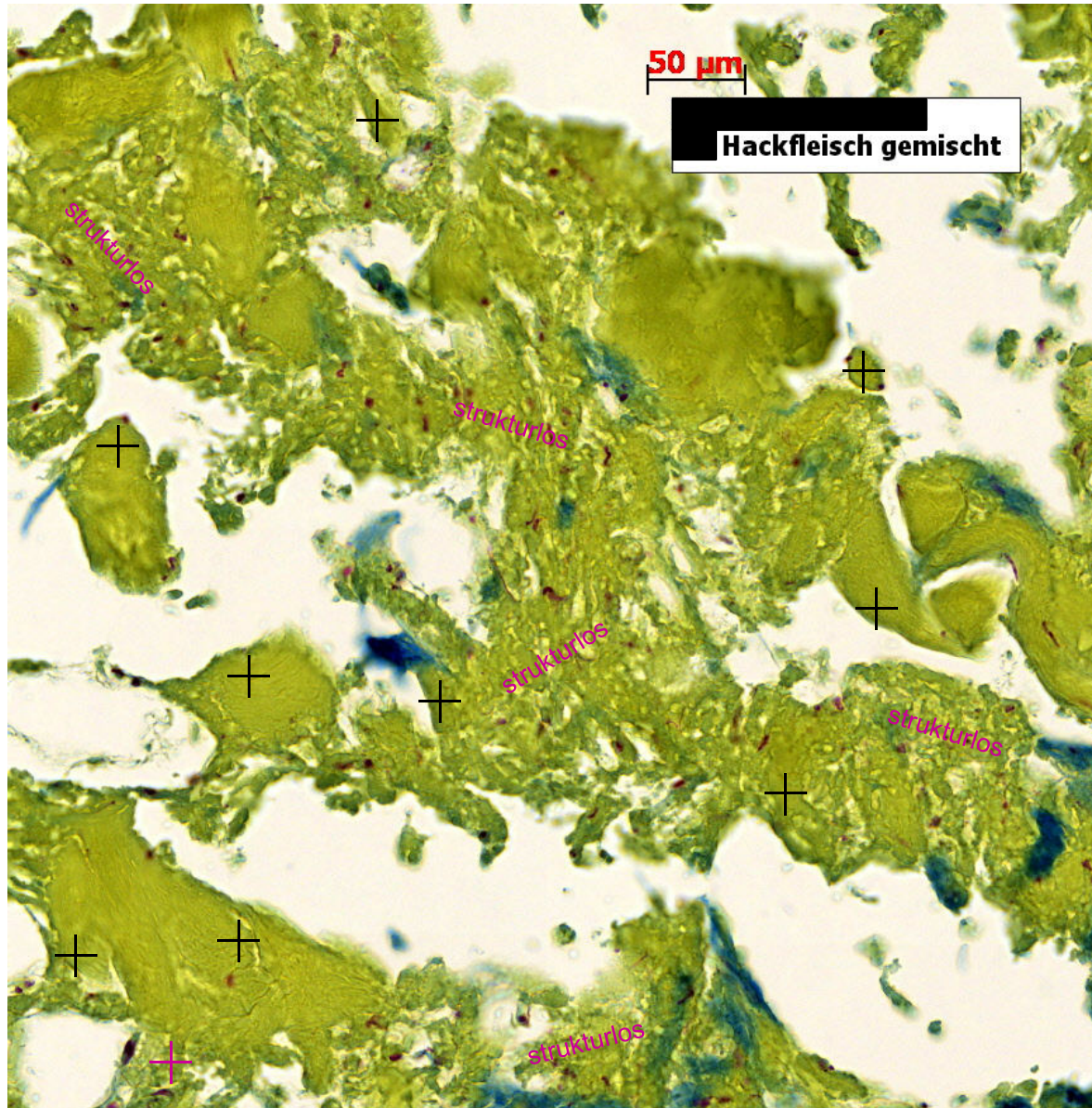
Hackfleisch, Schwein – überwiegend intakt



- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Schweinehackfleisch
Strukturlose Masse, granuliert
Paraffinschnitt, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: CVUA Detmold



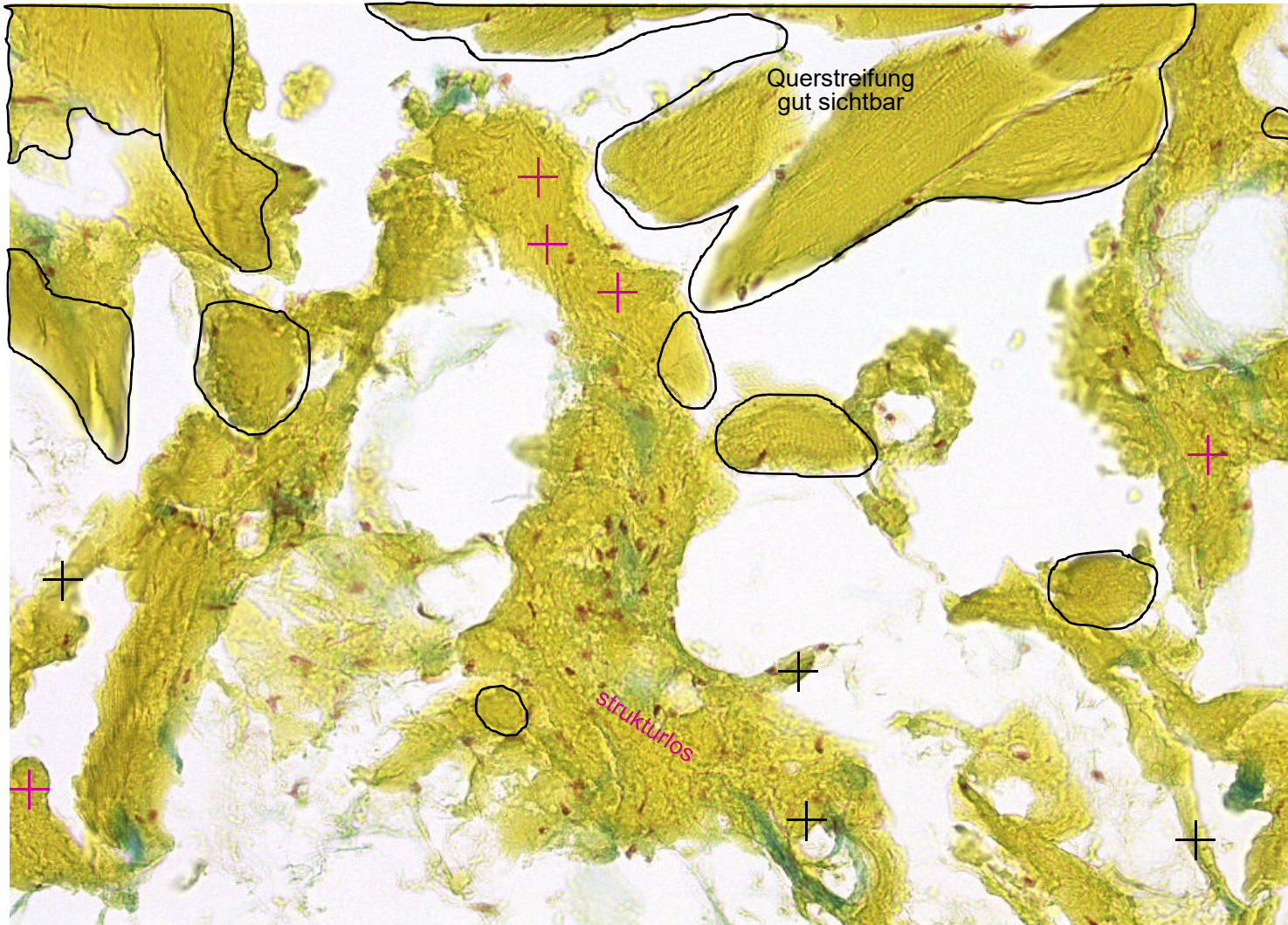
Hackfleisch, gemischt, - überwiegend strukturlos

- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Gemischtes Hackfleisch, bio
Strukturlose Masse, granuliert
Paraffinschnitt, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: CVUA Detmold

Hackfleisch

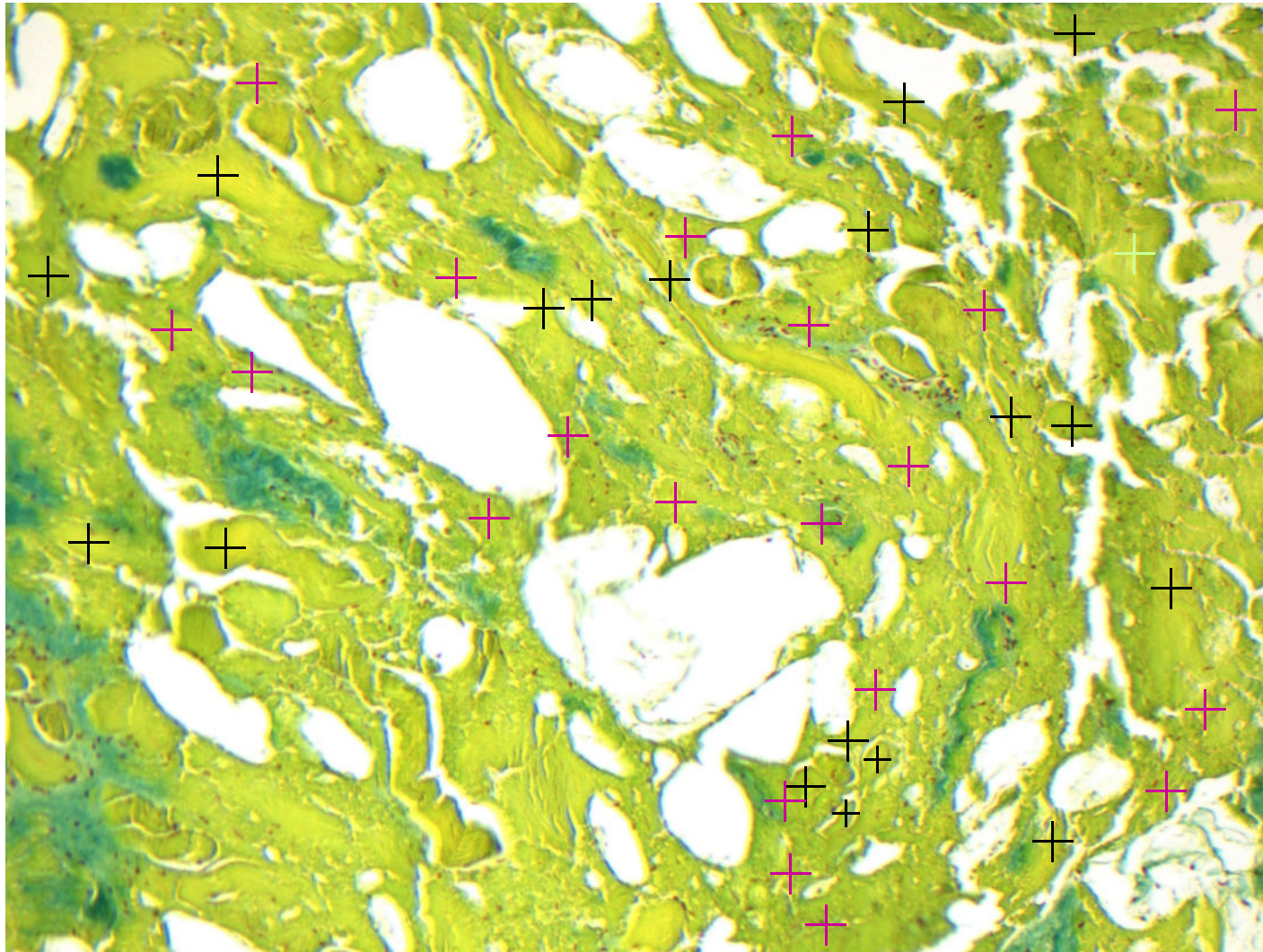


- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Hackfleisch
Strukturlose Masse,
granuliert
Paraffinschnitt, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: CVUA Detmold

Hackfleisch – überwiegend zerstört



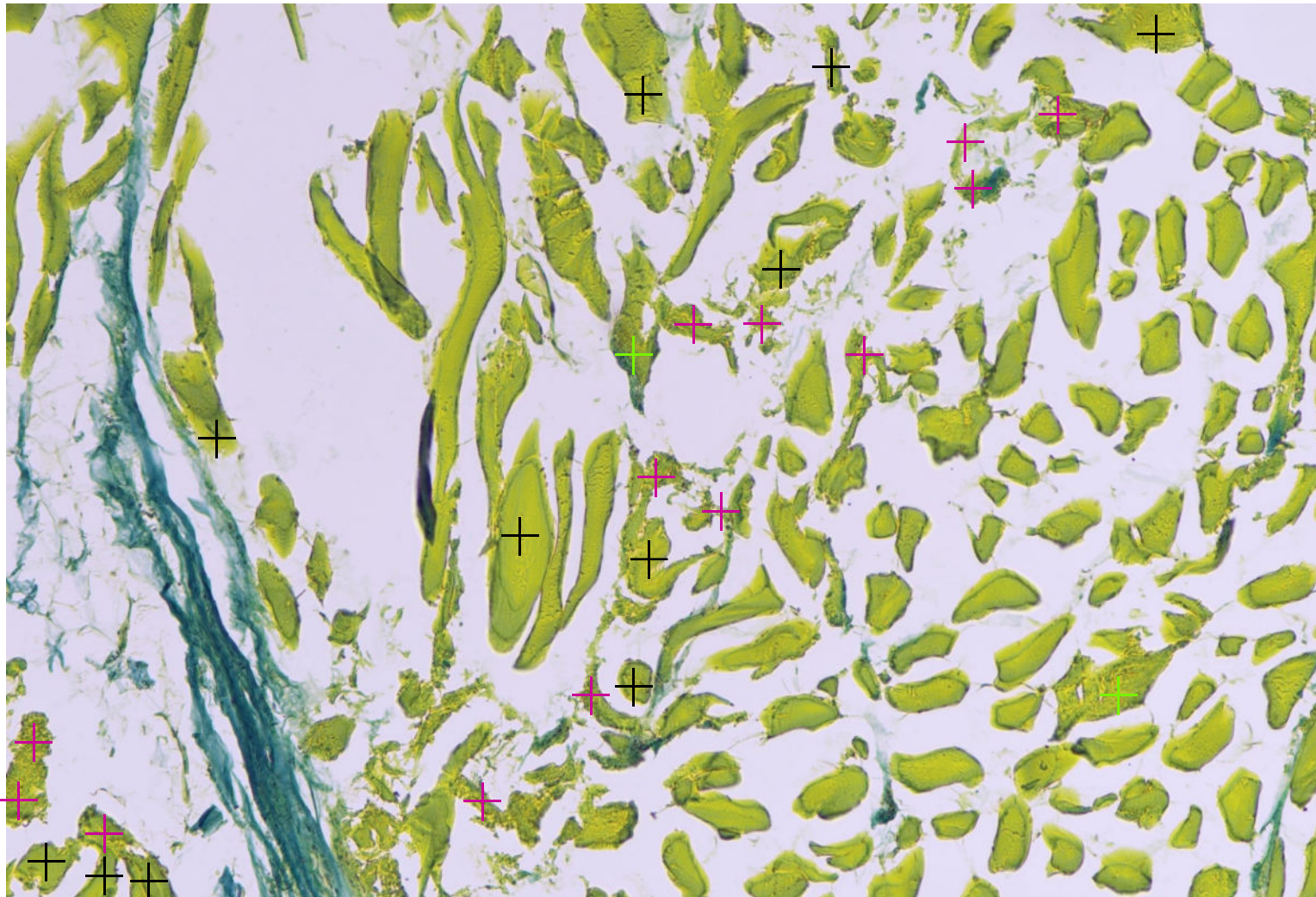
- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Hackfleisch
Strukturlose Masse
Paraffinschnitt, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: CVUA Detmold

Hackfleisch, gemischt – überwiegend intakt

Gemischtes Hackfleisch, 3 mm gewolft, Stufenkontrolle
Gefrierschnitt, Formalin-fixiert, Calleja-Färbung, 100x

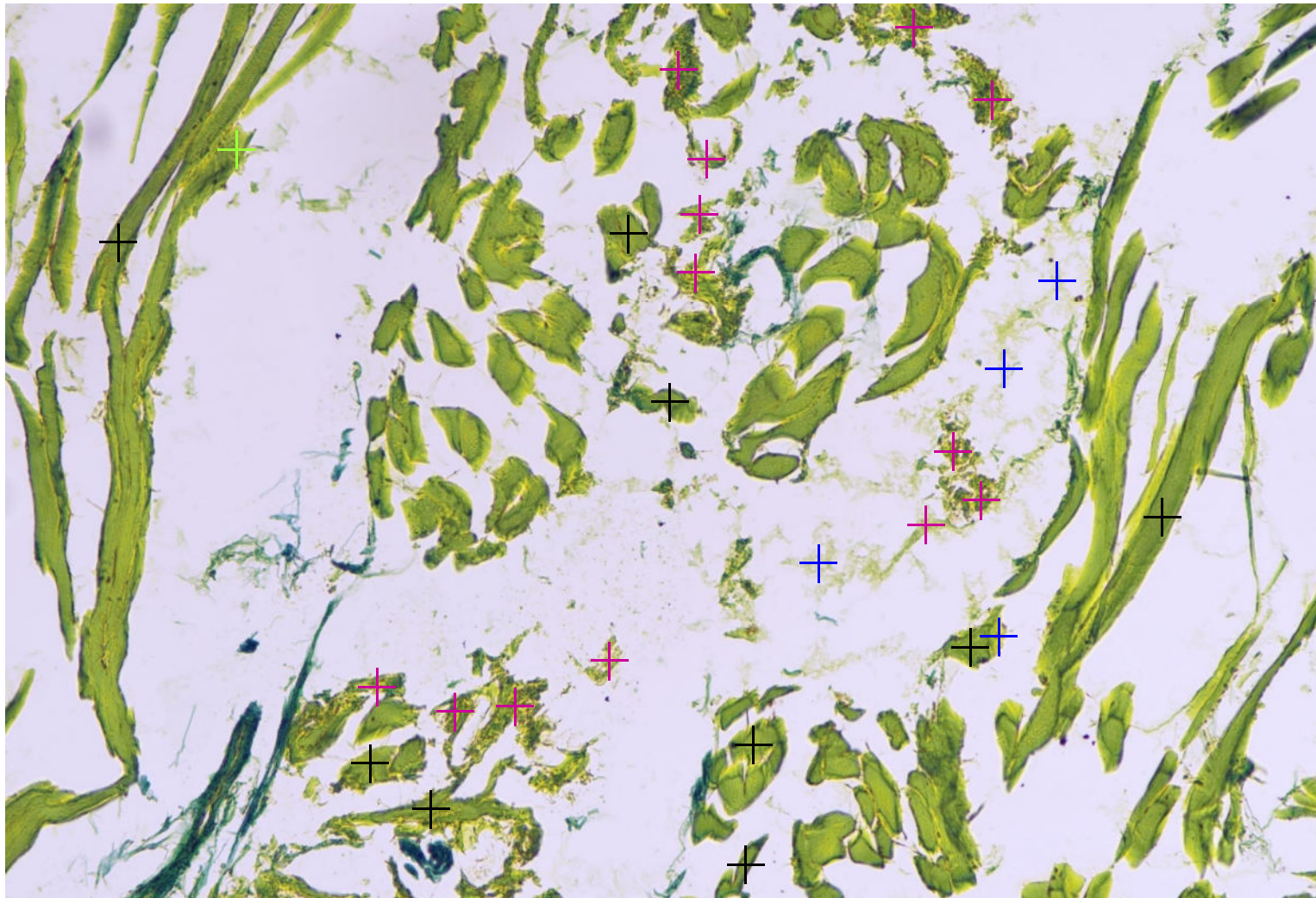


- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch-Vorstufe, Rind – überwiegend intakt

Rinderhackfleisch, 20 mm gewolft, Stufenkontrolle
Gefrierschnitt, Formalin-fixiert, Calleja-Färbung, 100x



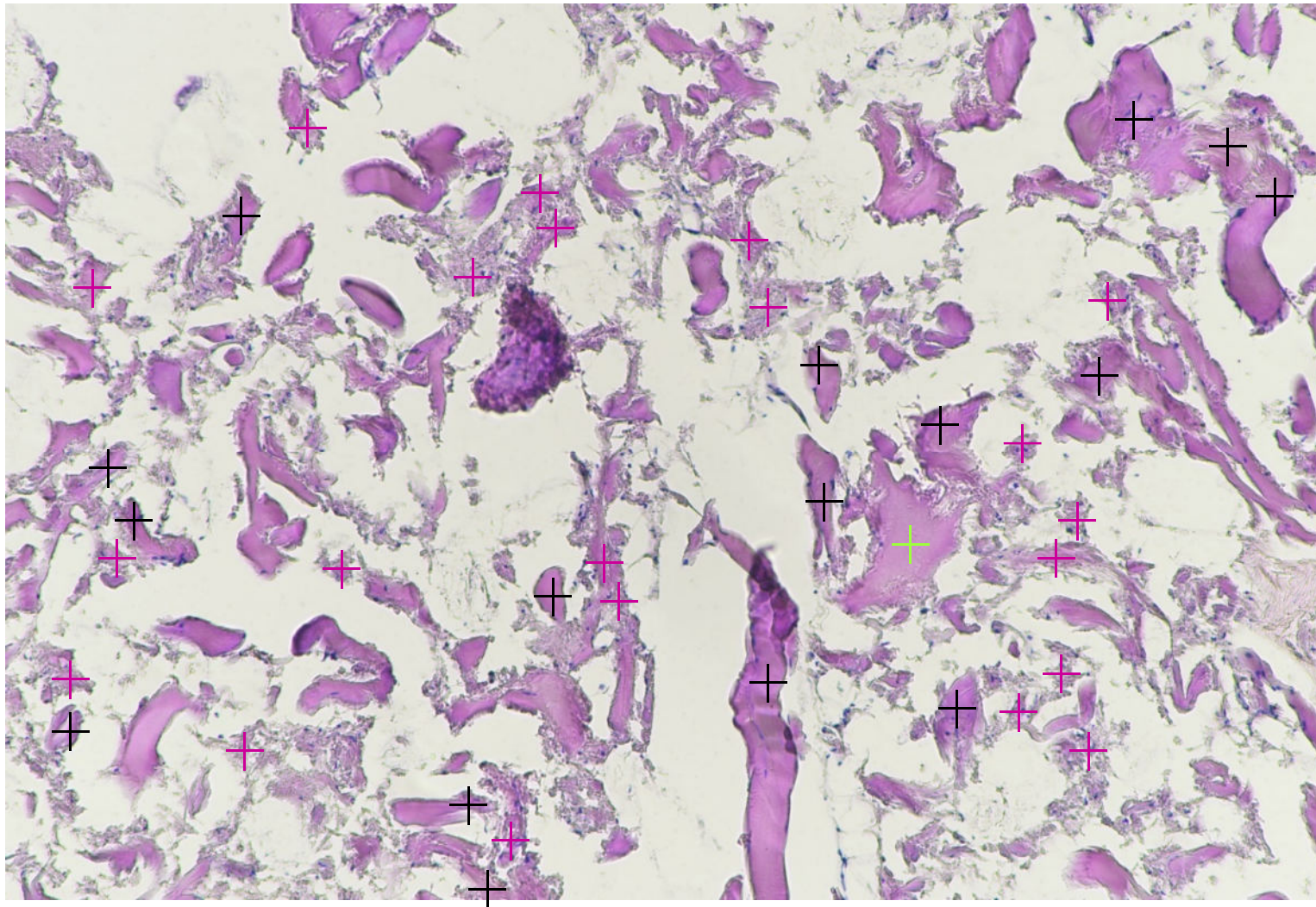
- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch, gemischt – überwiegend strukturlos

Gemischtes Hackfleisch

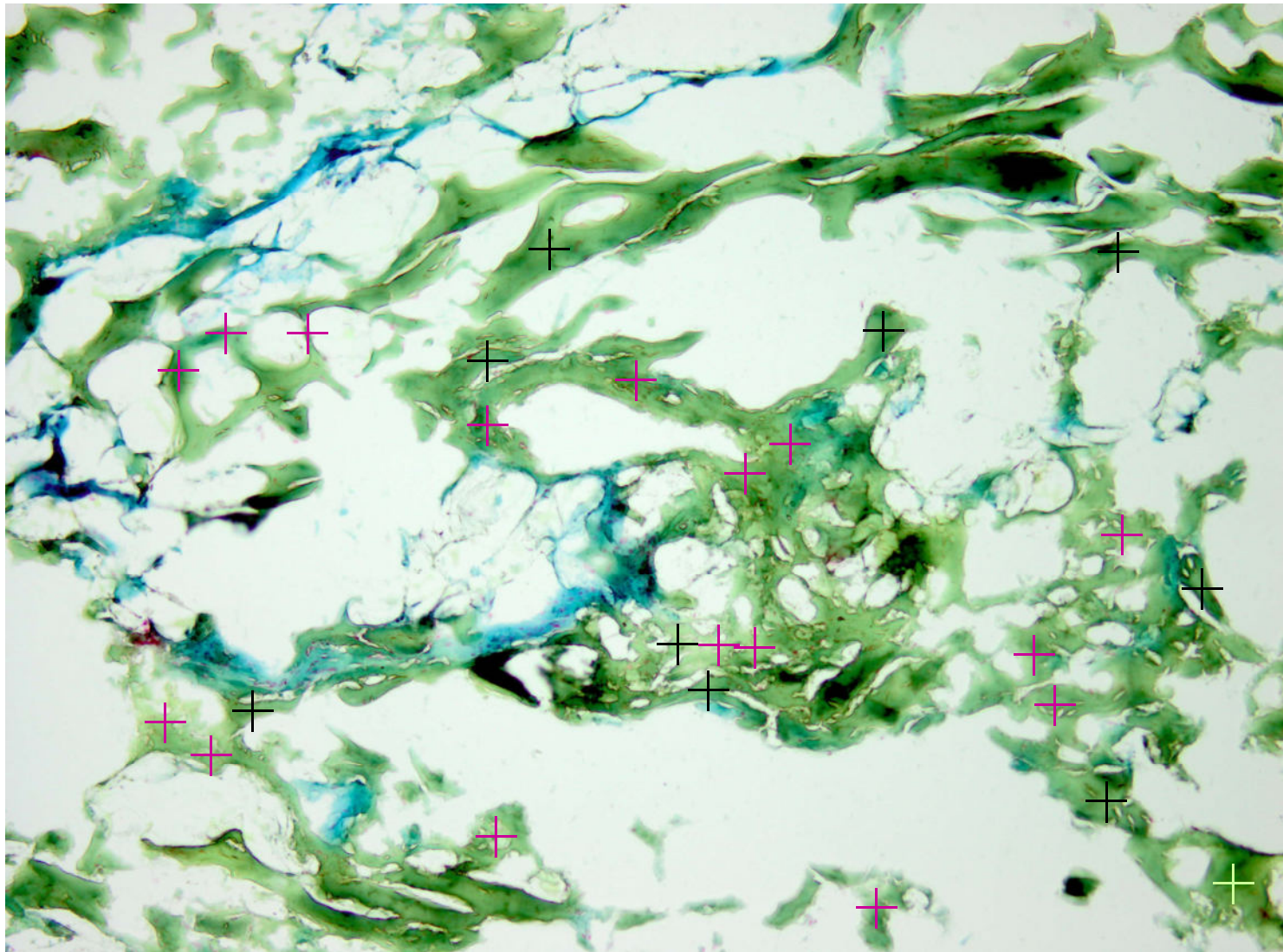
Gefrierschnitt, nativ geschnitten, HE-Färbung, 100x



- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Bild:
LHL Gießen

Hackfleisch

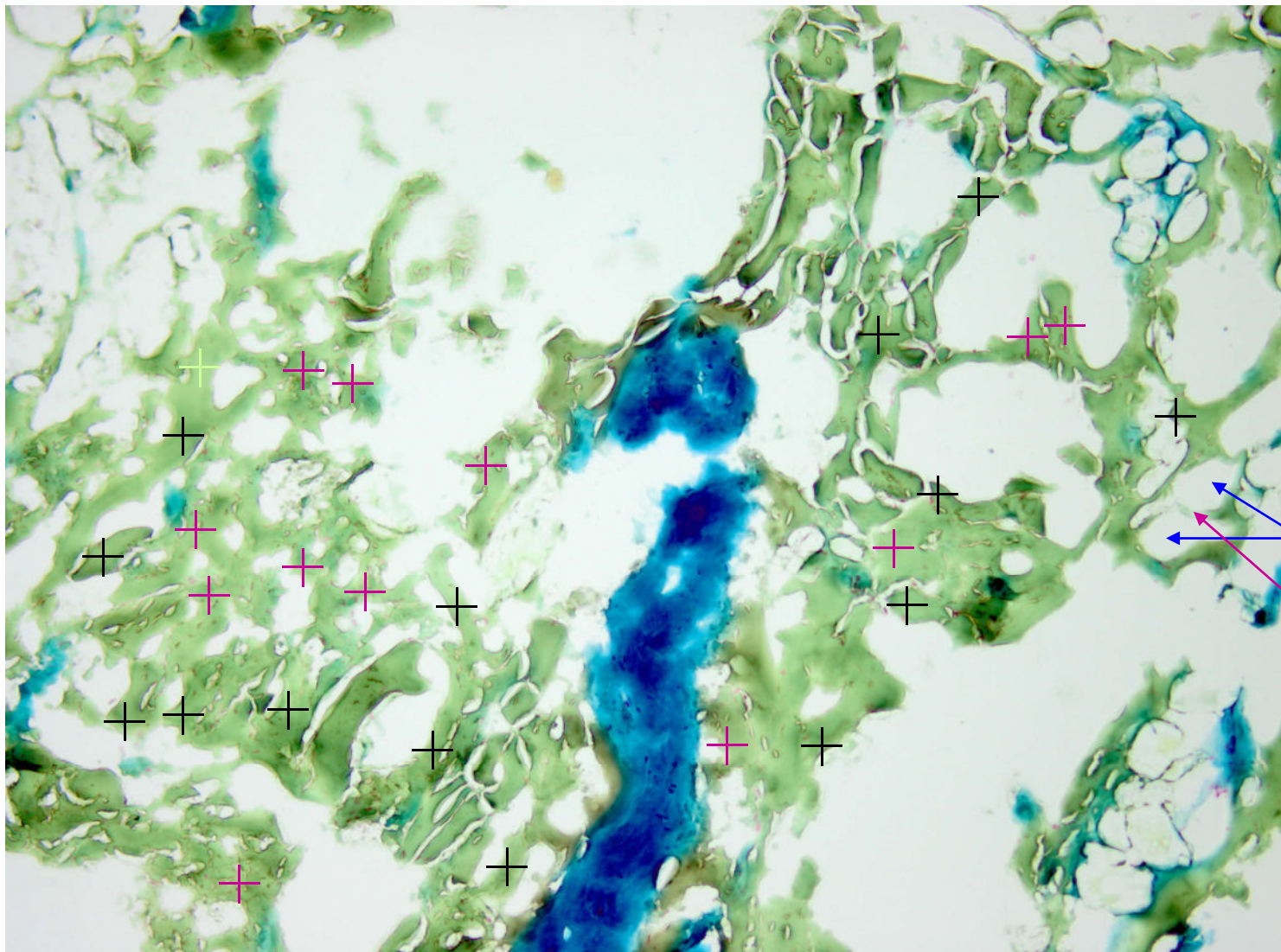


- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Hackfleisch
Gefrierschnitt, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: LAVES Oldenburg

Hackfleisch – überwiegend strukturlos



- intakt
- strukturlos
- leer
- zweifelhaft

Vakuolen (= leer)
Steg zw. Vakuolen = strukturlos

Hackfleisch
Gefrierschnitt, **100x**
Calleja-Färbung

Bild: LAVES Oldenburg