

Konzept zur Analytik von gentechnisch veränderten Futtermitteln¹

Arbeitspapier des Arbeitskreises PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des Verbandes Deutscher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA)

Version 3, Stand: Dezember 2018

Aktualisiertes Arbeitspapier, ersetzt Nr. VI-Ö-32, Version 2 vom Februar 2011, erarbeitet vom AK PCR-Analytik, vertreten durch Domey, S., TLLLR Jena; Eichner, C., LAVES Braunschweig; Speck, B., LTZ Augstenberg

1	Grundsätze	3
1.1	Zielsetzung.....	3
1.2	Gesetzliche Bestimmungen	3
1.2.1	Zulassung von GVO als Futtermittel in der EU	3
1.2.2	Kennzeichnungspflichtige Futtermittel und Form der Kennzeichnung bezüglich in der EU zugelassener GVO	4
1.2.3	Ausnahmeregelung für gv-Ausgangserzeugnisse in Futtermitteln gemäß Verordnung (EU) Nr. 619/2011	7
1.2.4	Besonderheiten bei der Prüfung der Kennzeichnungspflicht für GVO mit Zulassung als „Stacked Event“	7
1.2.5	Überprüfung von mit Hilfe von GVO hergestellten Futtermittelzusatzstoffen.....	8
1.2.6	Einfluss von botanischen Verunreinigungen in Futtermitteln auf die GVO-Kennzeichnung.....	8
1.2.7	Zusatzanforderungen an Futtermittel zur „ohne Gentechnik“ -Kennzeichnung von Lebensmitteln	9
2	Probenahmeverfahren zur Analytik von gentechnisch veränderten Futtermitteln	10
3	Analytik von gentechnisch veränderten Futtermitteln	10
3.1	Analyseverfahren und –methoden	10
3.2	Probenvorbereitung	12
3.3	DNA-Extraktion.....	12
3.4	Analysensysteme – qualitative und quantitative Verfahren	13
3.4.1	Konventionelle PCR	13
3.4.2	Real-Time PCR	13
3.5	Methoden zum Nachweis von GVO und daraus hergestellten Materialien in Futtermitteln	13
3.6	Sicherung der Analysenqualität	14
3.6.1	Referenzmaterial	14
3.6.2	Ringversuche und Laborvergleichsuntersuchungen	15
3.7	Auswertung und Beurteilung der Messergebnisse.....	15
3.7.1	Auswertung der Messergebnisse bei der qualitativen Bestimmung	15
3.7.2	Auswertung der Messergebnisse bei der quantitativen Bestimmung	16
3.7.3	Angaben der Ergebnisse im Prüfbericht	17
4	Empfehlungen zur Futtermittel- und Analytauswahl für die Untersuchung	17
4.1	Einzelfuttermittel.....	18
4.2	Einfluss des Verarbeitungsgrades des Futtermittels auf die Analyse und Bewertung	19
4.3	Analyse und Bewertung von Mischfuttermitteln	19
4.4	Analysenstrategie.....	19

¹ Gentechnisch veränderte Futtermittel sind gemäß VO (EG) Nr. 1829/2003, Art. 2, Punkt 7 Futtermittel, die GVO enthalten, daraus bestehen oder hergestellt werden.

5	Glossar	20
6	Literatur.....	21
7	Übersicht Internet-Adressen.....	24
8	Anmerkungen.....	26

1 Grundsätze

1.1 Zielsetzung

Seit dem 18.04.2004 ist die Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 [1] über genetisch veränderte Lebensmittel und Futtermittel in den Mitgliedstaaten der Europäischen Union (EU) anzuwenden.

Mit der Veröffentlichung der Verordnung (EG) Nr. 65/2004 [2] über ein System für die Entwicklung und Zuweisung spezifischer Erkennungsmarker für genetisch veränderte Organismen trat in den Mitgliedstaaten am 15.04.2004 auch die Verordnung (EG) Nr. 1830/2003 [3] über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von genetisch veränderten Organismen und über die Rückverfolgbarkeit von aus genetisch veränderten Organismen hergestellten Lebens- und Futtermitteln in Kraft.

Zudem wurde am 15. 07.2011 von der Europäischen Kommission die Verordnung (EU) Nr. 619/2011 [4] zur Festlegung der Probenahme- und Analyseverfahren für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln im Hinblick auf genetisch veränderte Ausgangserzeugnisse, für die ein Zulassungsverfahren anhängig oder deren Zulassung ablaufen ist, in Kraft gesetzt.

Ein wesentlicher Punkt bei der Umsetzung dieser Verordnungen ist die Überwachung der Einhaltung der Verordnungen auch auf analytischer Ebene. Zum einen sollen Futtermittel im Zusammenhang mit gentechnisch veränderten Organismen (GVO) auf deren Deklarationspflicht hin kontrolliert werden, zum anderen, ob in der EU nicht zugelassene GVO oder daraus hergestellte Materialien im Futtermittel enthalten sind.

Das „Konzept zur Analytik von gentechnisch veränderten Futtermitteln“ dient der Information über die Hintergründe und Anforderungen sowie die Möglichkeiten zur Prüfung von Futtermitteln auf gentechnische Veränderungen. Es wurde im Jahr 2005 als Arbeitspapier des Arbeitskreises PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des VDLUFA erstellt und 2011 aktualisiert [30]. In die vorliegende 3. Version sind zum einen neuere Herausforderungen der GVO-Analytik eingeflossen, zu denen der PCR-AK des VDLUFA im Jahr 2014 öffentlich Stellung nahm [29]. Des Weiteren sind in der Zwischenzeit hinzugekommene Änderungen und Ergänzungen der rechtlichen Grundlagen und gewonnenen Erfahrungen aufgenommen, damit es dem aktuellen Stand der Wissenschaft und Technik bezüglich der Analyse und Beurteilung von GVO in Futtermitteln entspricht.

Ein regelmäßiger Informationsaustausch zwischen Vertretern der Überwachung und der Analytik bezüglich Gentechnik in Futtermitteln wird empfohlen.

1.2 Gesetzliche Bestimmungen

1.2.1 Zulassung von GVO als Futtermittel in der EU

GVO, welche zur Verwendung als bzw. in Futtermitteln bestimmt sind, sowie Futtermittel, die GVO enthalten, aus solchen bestehen oder aus GVO hergestellt sind, dürfen in der EU nur auf den Markt gebracht werden, wenn sie über eine EU-weit gültige Zulassung verfügen. Dazu müssen sie das Zulassungsverfahren gemäß VO (EG) Nr. 1829/2003 [1] durch-

laufen. Die gemäß diesem Verfahren als Futtermittel zugelassenen GVO werden in ein Gemeinschaftsregister für genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel eingetragen:

http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm

Informationen über den Stand der Zulassung von GVO, auch außerhalb der EU, sind über folgende Internetadressen zugänglich:

https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/authorisation/food_feed_en

http://www.euginius.eu/euginius/pages/authorisation_searchview.jsf

http://www.bvl.bund.de/DE/06_Gentechnik/02_Verbraucher/03_Genehmigungen/01_Inverkehrbringen/gentechnik_GenehmigungenInverkehrbringen_node.html

<http://www.transgen.de/zulassung.html>

<http://www.isaaa.org/gmaprovaldatabase/default.asp>

<http://bch.cbd.int/>

Für nicht zugelassene GVO und daraus hergestellte Materialien besteht gemäß Art. 16 Abs. 2 VO (EG) Nr. 1829/2003 [1] ein Inverkehrbringensverbot. Hierfür ist ein gesicherter Nachweis ausreichend (vgl. Leitfaden des Europäischen Netzwerks für GVO-Laboratorien (ENGL) zum Nachweis, Bericht und Interpretation des Vorkommens von nicht zugelassenen GVO, 2011 [9]).

Der Europäische Gerichtshof hat am 25.07.2018 einen Urteilsspruch verkündet (Rechtssache C-528/16 [10]), nach dem in der EU nun auch Organismen unter die gentechnikrechtliche Zulassungspflicht fallen, die durch neuere Verfahren der (gerichteten) Mutagenese entwickelt wurden. Organismen, die mittels Techniken der konventionellen (ungerichteten) Mutagenese (chemisch oder durch Strahlung induziert) entwickelt wurden, sind von der Zulassungspflicht gem. VO (EG) Nr. 1829/2003 [1] ausgenommen. Durch gerichtete Mutagenese können Organismen entwickelt werden, die gegenüber ihren Ausgangsorganismen nur minimale Unterschiede in ihrer Nukleinsäuresequenz aufweisen. Ohne ergänzende Informationen ist analytisch nicht feststellbar, ob sie durch gerichtete (neuere Verfahren) oder ungerichtete Verfahren erzielt wurden, oder spontan entstanden sind. Dies wird die Untersuchung von Futtermitteln auf gentechnisch veränderte Bestandteile vor neue Herausforderungen stellen.

1.2.2 Kennzeichnungspflichtige Futtermittel und Form der Kennzeichnung bezüglich in der EU zugelassener GVO

Die VO (EG) Nr. 1829/2003 (Kapitel III) [1] besagt, dass grundsätzlich alle Futtermittel, die in der EU zugelassene GVO enthalten, daraus bestehen oder aus solchen hergestellt wurden, zu kennzeichnen sind. Dies ist unabhängig von der analytischen Nachweisbarkeit (nachweisunabhängige Kennzeichnung).

Der gesetzlich festgelegte Kennzeichnungsschwellenwert von 0,9 % gilt laut VO (EG) Nr. 1829/2003 Art. 24 Abs. 2 [1] im Kontext mit VO (EG) Nr. 641/2004 Art. 19 Abs. 2 [5] für das Futtermittel und jeden Futtermittelbestandteil, aus dem es besteht.

Dies bedeutet, dass auch die einzelnen deklarierten Komponenten eines Mischfuttermittels selbst den Anforderungen der oben genannten Verordnung bezüglich des Kennzeichnungsschwellenwertes unterliegen, auch wenn mehrere Komponenten einer Pflanzenart (wie z. B. Maiskleber, Maisschrot, Maismehl) im Futtermittel enthalten sind.

Ausnahmen davon gelten nur unterhalb des Kennzeichnungsschwellenwertes bei Nachweis des Unternehmers, dass diese Gehalte zufällig oder technisch unvermeidbar in das Futtermittel gelangt sind (Tab. 1).

Tab. 1: Kennzeichnung gemäß VO (EG) Nr. 1829/2003 [1]

Zulassungsstatus	Kennzeichnungsschwellenwert	Folgen
in der EU zugelassen	> 0,9 %	Kennzeichnungspflicht
	≤ 0,9 %	Kennzeichnungspflicht, wenn nicht zufällig oder technisch vermeidbar
in der EU nicht zugelassen	kein	Inverkehrbringensverbot ^{*)}

^{*)} Ausnahmen siehe Kapitel 1.2.3

Bei Vorliegen mehrerer unterschiedlicher GVO-Linien (Events) oder daraus hergestellter Materialien einer Pflanzenart in einem Futtermittelbestandteil sind zur Überprüfung des Kennzeichnungsschwellenwertes die festgestellten Anteile der einzelnen Events gemäß Erwägungsgrund 25 der VO (EG) Nr. 1829/2003 [1] zu addieren.

Die Anforderungen an die Form der Kennzeichnung von Futtermitteln sind im Art. 25 der VO (EG) Nr. 1829/2003 [1] beschrieben. Die Kennzeichnung ist deutlich sichtbar, lesbar und unauslöschlich auf einem Begleitpapier oder gegebenenfalls auf der Verpackung, dem Behältnis oder einem daran befestigten Etikett vorzunehmen.

Für Futtermittel bzw. Futtermittelbestandteile, die einen GVO enthalten oder aus einem GVO bestehen, hat die Kennzeichnung mit den Worten „genetisch veränderter [Bezeichnung des Organismus]“ unmittelbar nach dem spezifischen Namen des Futtermittels zu erfolgen. Futtermittel bzw. Futtermittelbestandteile, die aus GVO hergestellt wurden, müssen mit den Worten „aus genetisch verändertem [Bezeichnung des Organismus] hergestellt“ gekennzeichnet werden.

Zusätzlich ist der bzw. sind die GVO-spezifische(n) Erkennungsmarker schriftlich mitzuteilen (Art. 4 der VO (EG) Nr. 1830/2003 [3]), wenn das Futtermittel bzw. dessen Bestandteile GVO im Sinne der Richtlinie 2001/18/EG [6] ist bzw. sind oder solche enthalten. Die Mitteilungspflicht der Erkennungsmarker gilt nicht für verarbeitete, nicht mehr vermehrungsfähige gentechnisch veränderte Materialien. Eine Übersicht zur Kennzeichnung ist in Tabelle 2 gegeben.

Tab. 2: Form der Kennzeichnung von Futtermitteln und Futtermittelbestandteilen gemäß VO (EG) Nr. 1829/2003 [1] und VO (EG) Nr. 1830/2003 [3]

	Futtermittel/ Futtermittelbestandteil	Beispiel	Form der Kennzeichnung	gesetzliche Bestimmungen
zu kennzeichnen				
1	das Futtermittel besteht aus einem GVO	vermehrungsfähige gv-Körner, z. B. vermehrungsfähige gv-Sojabohnen oder gv-Maiskörner als Einzelfuttermittel	„genetisch veränderter“ [Bezeichnung des Organismus] zusätzlich: Angabe des spezifischen Erkennungsmarkers	Art. 25 Abs. 2 a der VO (EG) Nr. 1829/2003 Art. 4 Abs. 1 bis 3 der VO (EG) Nr. 1830/2003
2	das Futtermittel enthält GVO	Einzel- und Mischfutter mit vermehrungsfähigen gv-Körnern	„genetisch veränderter“ [Bezeichnung des Organismus] zusätzlich: Angabe des spezifischen Erkennungsmarkers	Art. 25 Abs. 2 a der VO (EG) Nr. 1829/2003 Art. 4 Abs. 1 bis 3 der VO (EG) Nr. 1830/2003
3	das Futtermittel ist aus GVO hergestellt (unabhängig von der Nachweisbarkeit im Endprodukt)	Sojaöl aus gv-Sojabohnen oder Mischfuttermittel, das Sojaextraktionsschrot aus gv-Sojabohnen enthält	„aus genetisch verändertem [Bezeichnung des Organismus] hergestellt“	Art. 25 Abs. 2b der VO (EG) Nr. 1829/2003; Art. 5 Abs. 1 bis 4 der VO (EG) Nr. 1830/2003
4	Produkte eines Tieres, das ein GVO ist *: aus GVO hergestellt	Fleisch und Milch von einem gentechnisch veränderten (transgenen) Tier	„aus genetisch verändertem [Bezeichnung des Organismus] hergestellt“	Art. 13 Abs. 1 der VO (EG) Nr. 1829/2003
nicht zu kennzeichnen				
5	Produkte von Tieren, die „mit“ GVO gefüttert werden	Tier gefüttert mit gv-Mais	keine Kennzeichnung von tierischen Produkten, wie z. B. Eier, Milch, Fleisch	Erwägungsgrund 16 der VO (EG) Nr. 1829/2003
6	Produkte, von einem nicht-GVO durch metabolische Umsetzung eines gv-Substrats erzeugt	Enzym, Vitamin oder Aminosäure als Zusatzstoff, produziert von einem konventionellen Mikroorganismus aus einem gv-Substrat (z. B. gv-Mais). gv-Substrat ist im Endprodukt nicht enthalten	keine Kennzeichnung	
7	Produkte, die „mit Hilfe“ eines GVO hergestellt sind	Enzym, Vitamin oder Aminosäure als Zusatzstoff, produziert von gv-Mikroorganismus aus einem konventionellen Substrat (z. B. Mais). gv-Mikroorganismus oder Bestandteile des gv-Mikroorganismus sind im Endprodukt nicht enthalten	keine Kennzeichnung	

gv: gentechnisch verändert

* Derzeit (2018) ist kein gentechnisch verändertes Tier in der EU zur Lebensmittelproduktion zugelassen.

1.2.3 Ausnahmeregelung für gv-Ausgangserzeugnisse in Futtermitteln gemäß Verordnung (EU) Nr. 619/2011 [4]

Für nicht zugelassene GVO und daraus hergestellte Futtermittel besteht innerhalb der EU ein grundsätzliches Inverkehrbringensverbot. Eine Ausnahme davon stellen aber gentechnisch veränderte Futtermittelausgangserzeugnisse dar, die die Bedingungen nach Verordnung (EU) Nr. 619/2011 [4] erfüllen. Diese Verordnung gilt für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln auf das Vorhandensein folgender Erzeugnisse:

- Die genetisch veränderten Ausgangserzeugnisse sind in einem Drittland für den Handel zugelassen und:
- Für dieses Erzeugnis ist in der EU seit mehr als drei Monaten ein Zulassungsverfahren gemäß Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 [1] anhängig.
- Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat bei einem Vorhandensein unter der Mindestleistungsgrenze (MRPL) keine nachteiligen Folgen für die Gesundheit oder die Umwelt festgestellt.
- Vom Referenzlabor der Europäischen Union für gentechnisch veränderte Futter- und Lebensmittel (EURL-GMFF) ist ein quantitatives, Event-spezifisches Verfahren validiert und veröffentlicht worden.
- Es steht ein (als Massenfraktion oder ggf. als Zahl der Kopien) zertifiziertes GVO-Referenzmaterial zur Verfügung.

Des Weiteren gilt diese Verordnung für GVO, deren Zulassung in der EU abgelaufen ist und für die kein Neuantrag gemäß Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 [1] gestellt wird, da sie nicht mehr in den Verkehr gebracht werden, sofern weiterhin zertifiziertes Referenzmaterial zur Verfügung steht.

Die unter diese Verordnung fallenden GVO werden mit einem Gehalt von $< 0,1 \%$ (m/m) im Futtermittelausgangserzeugnis toleriert. Liegt der Gehalt dieser GVO bei $0,1 \%$ (m/m) oder darüber, dann sind diese GVO nicht verkehrsfähig.

Die EU-Kommission veröffentlicht ein Verzeichnis der Ausgangserzeugnisse, die unter die Verordnung (EU) Nr. 619/2011 [4] fallen, auf einer Webseite: http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm.

Werden bei Kontrollen Futtermittel mit gv-Anteilen identifiziert, die unter die Verordnung (EU) Nr. 619/2011 [4] fallen, und liegt deren Anteil $< 0,1 \%$ (m/m), müssen diese Funde einmal jährlich (im Juni) über das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) an die Europäische Kommission gemeldet werden. Ist der GVO-Anteil $\geq 0,1 \%$ (m/m), muss eine Meldung über das Europäische Schnellwarnsystem für Lebens- und Futtermittel (RASFF) erfolgen.

1.2.4 Besonderheiten bei der Prüfung der Kennzeichnungspflicht für GVO mit Zulassung als „Stacked Event“

Als GVO und in Futtermitteln zugelassen sind auch so genannte „Stacked Events“, welche durch konventionelle Kreuzung von bereits existierenden Einzel-Events erzeugt werden. Es stehen zurzeit keine Analyseverfahren zur Verfügung, um zu überprüfen, ob die nachgewiesene gentechnische Veränderung auf ein „Stacked Event“ zurückgeht oder ob es sich um die einzelnen zugelassenen und nicht gekreuzten Events handelt (vgl. Bericht der Working Group for identification of stacked GM events des ENGL (2014) [26] und Stellung-

nahme des PCR-Arbeitskreises des VDLUFA zur Nachweisbarkeit von gentechnisch verändertem SmartStax-Mais (DAS-59122-7 x MON-88017-3 x MON-89034-3 x DAS-01507-1) [18]. Hieraus ergibt sich die Problematik für die Überwachung der Kennzeichnungspflicht bezüglich des 0,9 %-Kennzeichnungsschwellenwertes. Nach dem „Leitfaden zur Kontrolle von GVO in Futtermitteln“ [12] werden die Werte nachweisbarer Events addiert. Problematisch wird dies insbesondere bei der Prüfung auf Anwesenheit von in der EU nicht zugelassenen „Stacked Events“, die aus zugelassenen Einzel-Events bestehen. Die Beweislast dafür, dass es sich um ein „Stacked Event“ handelt, liegt beim Produzenten bzw. allgemein formuliert beim Rechtsunterworfenen.

Anmerkung:

Der Nachweis der in den „Stacked Events“ enthaltenen Einzel-Events ist möglich. Werden aber alle Einzel-Events nachgewiesen, kann man keine Aussage darüber treffen, ob das „Stacked Event“ vorliegt oder lediglich die Einzel-Events vorliegen. Wird dagegen ein Einzel-Event aus einem „Stacked Event“ nicht nachgewiesen, dann kann dieses „Stacked Event“ ausgeschlossen werden.

1.2.5 Überprüfung von mit Hilfe von GVO hergestellten Futtermittelzusatzstoffen

Futtermittelzusatzstoffe, wie z. B. Vitamine, Aminosäuren, Enzyme oder Aromastoffe, dürfen in der EU nur auf den Markt gebracht werden, wenn sie über eine Zulassung gemäß VO (EG) Nr. 1831/2003 [15] verfügen. Werden Futtermittelzusatzstoffe „mit Hilfe von GVO“ hergestellt, beispielsweise Vitamin B2 mit Hilfe von gv-*Bacillus subtilis*-Stämmen, unterliegen sie nicht der Zulassungspflicht nach Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 [1]. Dementsprechend unterliegen diese Futtermittelzusatzstoffe auch nicht der gentechnikrechtlichen Kennzeichnungspflicht nach dieser Verordnung oder der Verordnung (EG) Nr. 1830/2003 [3]. Voraussetzung ist hier, dass der Futtermittelzusatzstoff keine vermehrungsfähigen gv-Mikroorganismen oder Bestandteile dieser enthält. Zur Untersuchung von Produkten und dem Nachweis von gv-Mikroorganismen mittels molekularbiologischer und mikrobiologischer Verfahren wird die Anwendung der Methode G 00.00-6 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §28b GenTG empfohlen [21].

1.2.6 Einfluss von botanischen Verunreinigungen in Futtermitteln auf die GVO-Kennzeichnung

Der gesetzlich festgelegte Kennzeichnungsschwellenwert gilt laut VO (EG) Nr. 1829/2003 Art. 24 Abs. 2 [1] im Kontext mit VO (EG) Nr. 641/2004 Art. 19 Abs. 2 [5] für das Futtermittel und jeden Futtermittelbestandteil, aus dem es besteht.

Daher sind nicht nur die deklarierten Futtermittelbestandteile, sondern auch das gesamte Futtermittel bezüglich GVO zu deklarieren, wenn der Kennzeichnungsschwellenwert überschritten ist.

Futtermittel können botanische Verunreinigungen enthalten, die somit nicht als Futtermittelkomponente oder Zutat deklariert sind, in vielen Fällen aber, bezogen auf die Verunreinigung, einen hohen GVO-Anteil (> 0,9 %) aufweisen. Anhang I Nr. 2 der Verordnung (EG) Nr. 767/2009 [24] über das Inverkehrbringen und die Verwendung von Futtermitteln regelt die Anforderungen an die botanische Reinheit von Einzelfuttermitteln. Danach sind nachfolgende Anforderungen zu erfüllen:

„Die botanische Reinheit von Einzelfuttermitteln muss mindestens 95 % betragen, sofern nicht ein anderer Anteil in dem Katalog gemäß Artikel 24 festgelegt ist. Zu den botanischen

Verunreinigungen zählen Verunreinigungen mit Pflanzenmaterial ohne schädliche Auswirkungen auf die Tiere, z.B. Stroh und Samen von anderen Kulturen oder von Unkraut. Der Anteil an botanischen Verunreinigungen, wie etwa Rückstände anderer Ölsaaten oder Ölfrüchte, die aus einem vorangegangenen Herstellungsverfahren stammen, darf für jede Art Ölsaat oder Ölfrucht höchstens 0,5 % betragen.“

Zur Harmonisierung der Überwachung des Herstellens, Behandelns, Verwendens und Inverkehrbringens von GVO in Futtermitteln hat eine Projektgruppe der LAV- Arbeitsgruppe Futtermittel unter Beteiligung des Bundes und des VDLUFA unter dem Titel „Leitfaden zur Kontrolle von GVO in Futtermitteln“ einen Leitfaden zur Anwendung der Rechtsvorschriften erarbeitet [12]. Der Leitfaden bietet u.a. auch Orientierung für den Umgang mit GVO-Anteilen in Futtermitteln durch einen Eintrag als botanische Verunreinigung. Es sind z.B. auch die nachfolgenden praxisbezogenen Angaben und Beispiele aufgeführt (Auszug):

„Bei Einzelfuttermitteln mit botanischen Verunreinigungen anderer Pflanzenarten, die wiederum GVO-Anteile enthalten, ist die Einhaltung des Kennzeichnungsschwellenwertes von 0,9% für das Einzelfuttermittel (= 100%) zu überprüfen. Dazu ist der Anteil der botanischen Verunreinigung durch geeignete Methoden zu bestimmen.“

Beispiele:

GVO-Soja in Mais, Anteil $\leq 5\%$ = botanische Verunreinigung:

- *der Sojaanteil muss nicht als Komponente angegeben werden,*
- *der GVO-Sojananteil muss auf die Gesamtmenge Mais berechnet und ggf. gekennzeichnet werden, wenn $> 0,9\%$.*

GVO-Soja in Mais, Anteil $> 5\%$ = keine botanische Verunreinigung

- *der Sojaanteil muss als Komponente in der Zusammensetzung angegeben werden,*
- *der GVO-Sojaanteil muss auf die Gesamtmenge Soja berechnet werden und ggf. gekennzeichnet werden, wenn $> 0,9\%$.*

Sofern der Kennzeichnungsschwellenwert in einem Einzelfuttermittel, das Bestandteil eines Mischfuttermittels ist, überschritten wird, muss dieses Einzelfuttermittel auf der Mischfutterdeklaration als „genetisch veränderter [Bezeichnung des Organismus]“ angegeben werden.“

Anmerkung:

Der o.g. Leitfaden befindet sich z.Zt. in Revision. Da sich in den letzten Jahren in der Praxis herausgestellt hat, dass vor allem die in den Anhängen I und II des o.g. Leitfadens aufgeführten Bewertungs- und Berechnungsbeispiele zur Thematik GVO und botanische Verunreinigung insbesondere in Mischfuttermitteln nicht auf jeden Fall anwendbar sind, wurde vom AK „PCR-Analytik“ angeregt, auch diesen Abschnitt entsprechend zu überarbeiten und an die aktuellen Entwicklungen anzupassen“ [31].

1.2.7 Zusatzanforderungen an Futtermittel zur „ohne Gentechnik“ -Kennzeichnung von Lebensmitteln

Die Kennzeichnung von Lebensmitteln, bei deren Herstellung auf die Anwendung gentechnischer Verfahren verzichtet wurde, wird in Deutschland durch das EG-Gentechnik Durchführungsgesetz (EGGenTDurchfG) [7] geregelt.

Lebensmittel dürfen demnach und ausschließlich als „ohne Gentechnik“ gekennzeichnet werden, wenn unter anderem im Falle eines Lebensmittels oder einer Lebensmittelzutat tierischer Herkunft dem Tier, von dem das Lebensmittel gewonnen worden ist, kein Futtermittel verabreicht wurde, das nach Artikel 24 und 25 der Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 [1] oder Artikel 4 oder 5 der Verordnung (EG) Nr. 1830/2003 [3] gekennzeichnet ist oder, soweit es in den Verkehr gebracht würde, zu kennzeichnen wäre. Für den Zeitraum vor

Gewinnung des Lebensmittels, innerhalb dessen eine Verfütterung von gentechnisch veränderten Futtermitteln unzulässig ist, sind im EGGenTDurchfG Anforderungen (Fristen) für verschiedene Tierarten geregelt (siehe EGGenTDurchfG, Anlage zu § 3a Abs. 4 Satz 2 [7]). Die Einhaltung dieser Vorgaben ist laut diesem Gesetz durch den Unternehmer nachzuweisen.

Futtermittelzusatzstoffe, die mit Hilfe von gentechnisch veränderten Mikroorganismen hergestellt wurden, müssen laut Verordnungen (EG) Nr. 1829/2003 [1] und Nr. 1830/2003 [3] nicht gekennzeichnet werden. Sie finden folglich auch in dem EGGenTDurchfG [7] keine Berücksichtigung.

Weitere Informationen zu den rechtlichen Grundlagen und den Anforderungen für die „ohne Gentechnik“- Kennzeichnung sind in dem „Leitfaden zur Kontrolle gentechnischer Veränderungen in Futtermitteln“ [12] zu finden:

https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/02_Futtermittel/fm_leitfaden_kontrolle_GVO.html.

2 Probenahmeverfahren zur Analytik von gentechnisch veränderten Futtermitteln

Die VO (EG) Nr. 152/2009 [8] ist hinsichtlich der Probenahmeverfahren und Analysemethoden in Bezug auf GVO durch die VO (EU) Nr. 691/2013 [28] geändert worden.

Die Probenahme für die Untersuchung von Futtermitteln im Hinblick auf gv-Ausgangserzeugnisse, für die ein Zulassungsverfahren anhängig ist oder deren Zulassung abgelaufen ist, ist im Anhang I der VO (EU) Nr. 619/2011 [4] festgelegt. Die VO (EU) Nr. 691/2013 [28] zur Änderung der VO (EG) Nr. 152/2009 [8] enthält Angaben zu den Mengen von Sammelprobe und Endprobe für die amtliche Kontrolle von Futtermitteln auf GVO und berücksichtigt die VO (EU) Nr. 619/2011 [4]. Sie ersetzen das Probenahmeschema des Arbeitskreises PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des VDLUFA aus 2010 [11].

3 Analytik von gentechnisch veränderten Futtermitteln

3.1 Analyseverfahren und -methoden

Durch eine gentechnische Veränderung unterscheidet sich ein gv-Organismus in mindestens einer Eigenschaft von seinem Elter. Prinzipiell kann der Nachweis der gentechnischen Veränderungen direkt auf der Ebene der Erbinformation (DNA), der Proteinebene oder auf der physiologischen Ebene erfolgen.

Für den Nachweis von GVO oder daraus hergestellten Materialien hat sich in der Praxis die PCR-Methode, heute vorrangig die Real-Time PCR, als Standardverfahren zur Untersuchung auf der Ebene der Erbinformation durchgesetzt.

Als Voraussetzung für den PCR-Nachweis muss amplifizierbare DNA in der Probe vorhanden sein, und die DNA-Sequenz der nachzuweisenden gentechnischen Veränderung muss zumindest teilweise bekannt sein.

Für den Nachweis und die Identifizierung einer gentechnischen Veränderung wird die Probe auf das Vorhandensein einer dafür charakteristischen DNA-Sequenz untersucht. In der Regel erfolgt die Untersuchung stufenweise- (modular) mit steigender Spezifität des GVO-Nachweises (siehe Abb. 1).

Folgende Nachweise kommen zur Anwendung (siehe Abb. 1):

1. Element-spezifischer PCR-Nachweis:

Mit dieser Untersuchung wird eine regulatorische DNA-Sequenz (z. B. Promotor oder Terminator) oder ein proteincodierender Genabschnitt nachgewiesen, die in verschiedenen GVO (auch artübergreifend) vorkommen können.

2. Konstrukt-spezifischer PCR-Nachweis:

Mit dieser Untersuchung wird eine Genkassette (Kombination eingefügter DNA-Sequenzen) nachgewiesen, die dem Organismus eine neue Eigenschaft vermittelt und in unterschiedlichen GVO (auch artübergreifend) vorkommen kann.

3. Event-spezifischer PCR-Nachweis:

Mit dieser Untersuchung wird der Integrationsort der Genkassette in das Genom des Empfängerorganismus nachgewiesen, der nur spezifisch in einem GVO vorkommen kann.

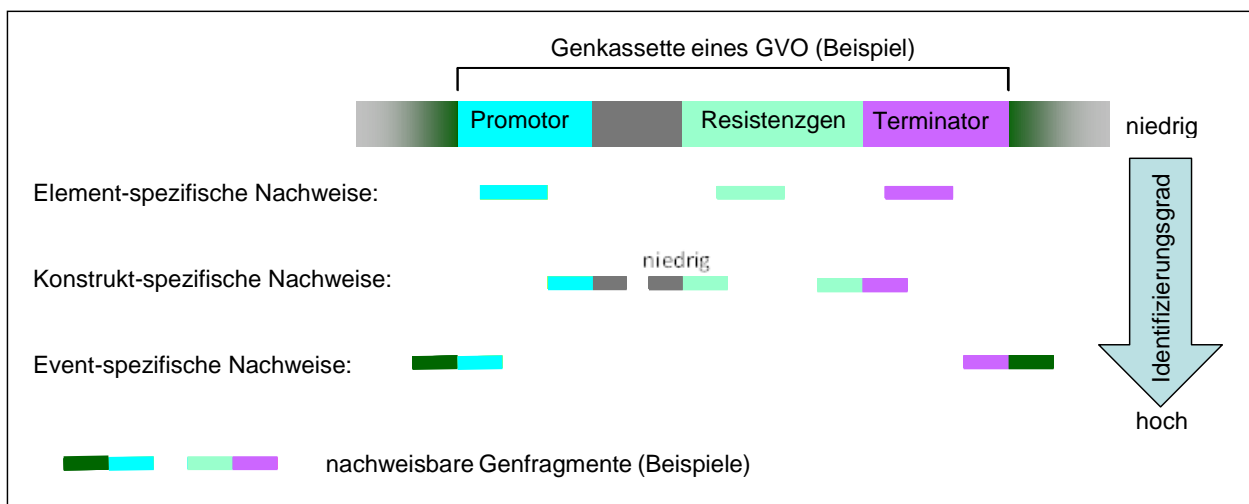


Abb. 1: Beispiel der Lokalisation von nachweisbaren Genabschnitten und Identifizierungsgrad der verschiedenen Nachweisverfahren

Der Identifizierungsgrad der genannten Nachweisverfahren nimmt in absteigender Reihenfolge zu und ist bei den Event-spezifischen Verfahren am größten.

Zum Screening können in Abhängigkeit von dem zu untersuchenden Organismus sowohl Element- als auch Konstrukt-spezifische Nachweise eingesetzt werden. Mit diesen Nachweisen werden in GVO häufig eingesetzte genetische Elemente und Konstrukte nachgewiesen. Dadurch wird die Anzahl der durchzuführenden Analysen reduziert, da bei einem negativen Screeningergebnis die Anwesenheit mehrerer Events ausgeschlossen werden kann. Bei einem positiven Screeningergebnis sind weitere Untersuchungen (ggf. Konstrukt- oder Event-spezifische Nachweise) notwendig. Bei einigen GVO stehen zurzeit keine Screeningverfahren zur Verfügung. In diesen Fällen muss direkt der Event-spezifische Nachweis durchgeführt werden. Bei anderen GVO stehen derzeit nur Konstrukt-spezifische Verfahren zum Nachweis zur Verfügung, so dass kein Event-spezifischer Nachweis möglich ist.

Organismen, die durch neue Verfahren der gerichteten Mutagenese entwickelt wurden, unterliegen als Folge des Urteilspruchs des Europäischen Gerichtshofs der gentechnischen Zulassungspflicht in der EU (siehe 1.2.1). Die oben dargestellte Herangehensweise an die Futtermittelanalyse auf GVO-Bestandteile wird durch diese Organismen an ihre Grenzen geführt (vgl. auch wissenschaftlichen Bericht der Fachbehörden im Geschäftsbereich des BMEL zu den neuen Techniken:

https://www.bvl.bund.de/DE/06_Gentechnik/02_Verbraucher/09_Monitoring_Molekulare_Techniken/Bericht_Neue_Zuechtungstechniken/gentechnik_Neue_Zuechtungstechniken_node.html.

3.2 Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung kann gemäß DIN EN ISO 21571: Lebensmittel – Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten – Nukleinsäureextraktion erfolgen [20].

Vom Joint Research Centre der Europäischen Kommission (JRC) wurde zudem im Jahr 2014 ein Technical Report „Guidelines for sample preparation procedures in GMO analysis“ [13] veröffentlicht. Dieses Dokument beschreibt Leitlinien für eine korrekte Probenvorbereitung von Lebensmittel-, Futtermittel-, Saatgut- und Pflanzenproben für die GVO-Analyse. Die Struktur des Dokuments basiert auf dem Standard DIN EN ISO 6498 (Futtermittel – Leitfaden für die Probenvorbereitung [34]). Das Dokument umfasst die wichtigsten Schritte der Probenvorbereitung, d. h. die Größe der Laborprobe, die Probenteilung sowie die Probenzerkleinerung.

Auch in den Methoden G 00.00-3 (Probenahmeverfahren - Allgemeine Hinweise und Anforderungen) und G 30.00-1 (Nachweis gentechnisch veränderter Pflanzen - Allgemeine Hinweise und Anforderungen) der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §28b GenTG [21] werden allgemeine Hinweise und Anforderungen in Bezug auf die Probenvorbereitung von unterschiedlichen Pflanzenmaterialien gegeben.

Matrixabhängig sind geeignete Zerkleinerungs- und Homogenisierungsverfahren anzuwenden (z. B. Schlagmühle, Kugelmühle). Es ist zu berücksichtigen, dass der Zerkleinerungs- bzw. Vermahlungsgrad der Probenpartikel einen Einfluss auf die Extrahierbarkeit von genetischem Material hat. Es ist die höchstmögliche Zerkleinerung der Probe anzustreben (vgl. „Guidelines for sample preparation procedures in GMO analysis“ der ENGL ad hoc Arbeitsgruppe “sample preparation” [13]).

3.3 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion muss sicherstellen, dass DNA in ausreichender Menge und Qualität für die PCR zur Verfügung steht.

Die Extraktion erfolgt gemäß DIN EN ISO 21571 Lebensmittel – Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten – Nukleinsäureextraktion [20].

Als Methoden zur DNA-Isolierung aus Futtermitteln werden z.B. die CTAB-Methode gemäß DIN EN ISO 21571 [20] oder § 64 LFGB L 00.00-31 [22] oder andere geeignete Verfahren (z.B. kommerziell erhältliche Kits) empfohlen. Zudem wird auf die VDLUFA-Verbandsmethode „Nachweis tierischer Bestandteile - PCR Methode“ [33] sowie auf die

vom EURL-GMFF veröffentlichten Methoden zur Extraktion von DNA aus verschiedenen Pflanzenmaterialien [<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/StatusOfDossiers.aspx>] hingewiesen. Der AK PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des VDLUFA hat in Ringversuchen verschiedene Extraktionsmethoden bezüglich ihrer Eignung für die DNA-Extraktion aus hochprozessierten Futtermitteln getestet. Im Ergebnis dessen hat der PCR-AK eine herstellerunabhängige CTAB-basierte DNA-Extraktionsmethode für Maiskleber validiert, die stellvertretend auch für andere proteinreiche Futtermittel angewendet werden kann (Publikation in Arbeit).

Neben der DNA-Extraktionsmethode haben insbesondere folgende Faktoren einen Einfluss auf die Ausbeute und Reinheit der aus der Untersuchungsprobe extrahierten DNA:

- Pflanzenart
- Art des Pflanzengewebes
- Verarbeitungsgrad des Futtermittels (Eliminierung / Fragmentierung der DNA)
- Zusammensetzung des Futtermittels (die Extraktion störende Matrixbestandteile)
- Partikelgrößenverteilung in der Probe
- Homogenität der Probe

3.4 Analysensysteme – qualitative und quantitative Verfahren

3.4.1 Konventionelle PCR

Qualitative Nachweise können mit konventioneller PCR (Endpunkt-PCR) durchgeführt werden. Anschließend werden die z. B. gelelektrophoretisch aufgetrennten PCR-Produkte (Amplifikate) nach Färbung mit einem interkalierenden Fluoreszenzfarbstoff im UV-Licht nachgewiesen. Es erfolgt ein Längenvergleich der PCR-Produkte von Proben und PCR-Kontrollproben in Bezug auf einen Längenstandard. Positive Ergebnisse sind zu bestätigen. Geeignete Verfahren hierfür sind Hybridisierung des PCR-Produktes mit einer spezifischen DNA-Sonde, Restriktionsanalyse oder DNA-Sequenzierung des PCR-Produktes.

3.4.2 Real-Time PCR

Die Real-Time PCR eignet sich zum qualitativen und quantitativen Nachweis gentechnischer Veränderungen. Durch die Verwendung einer spezifischen DNA-Sonde erfolgt eine Bestätigung des PCR-Produktes bereits während der Amplifikation. Eine relative Quantifizierung ist möglich, indem die Kopienzahl aus dem GVO-Nachweis mit der Kopienzahl eines Zieltaxon-spezifischen Gens ins Verhältnis gesetzt wird (Bestimmung des Anteils gentechnisch veränderter DNA an Zieltaxon-spezifischer DNA).

Das Ergebnis kann je nach Art des verwendeten Referenz- bzw. Kontrollmaterials auf Basis von Masseanteilen, Anteilen an haploiden Genomkopien oder Körneranteilen in Prozent angegeben werden. In der Regel wird die Angabe auf der Basis von Masseprozenten (m/m %) bevorzugt.

3.5 Methoden zum Nachweis von GVO und daraus hergestellten Materialien in Futtermitteln

Grundsätzlich sind für die Futtermittelanalytik offizielle Normen und amtliche Methoden gemäß Art.34 der VO (EU) 2017/625 [16] anzuwenden. Stehen entsprechende Methoden

nicht zur Verfügung, kann auf kommerziell erhältliche Testsysteme mit entsprechenden Standards oder validierte Hausmethoden zurückgegriffen werden.

Vom EURL-GMFF validierte Event-spezifische Methoden zur Bestimmung von in der EU zugelassenen GVO und daraus hergestellten Materialien sind in der jeweils aktuellen Version auf der Homepage des EURL-GMFF zu finden (<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/StatusOfDossiers.aspx>).

Darüber hinaus werden vom EURL-GMFF bei aktuellen Anlässen Nachweismethoden für in der EU nicht zugelassene GVO veröffentlicht. Diese können ebenfalls auf der Homepage des EURL-GMFF eingesehen werden:

<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/emerg-unauth.html>.

Die Normen zur Lebensmitteluntersuchung können auch zur Untersuchung von Futtermitteln angewendet werden: DIN EN ISO 21569 [17], 21570 [19], 21571 [20], 24276 [14]; DIN CEN/TS 16707 [32].

In der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach **§ 64 LFGB** [22] und **§28b GenTG** [21] sind zahlreiche Methoden zum Screening und zum Nachweis von gentechnischen Veränderungen veröffentlicht.

Der Ausschuss Methodenentwicklung der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG) hat auf seiner Homepage (<http://www.blag-gentechnik.de>) die von ihm erarbeiteten Methoden zur Untersuchung von Pflanzen auf gentechnische Veränderungen veröffentlicht.

Auch über die Datenbank EUginius können Informationen zu spezifischen Nachweismethoden für GVO unter http://www.euginius.eu/euginius/pages/detection_index.jsf abgefragt werden.

Zur Analytik von Proben, die unter die Verordnung (EU) Nr. 619/2011[4] fallen, gibt ein technischer Leitfaden des EURL-GMFF besondere Hinweise: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/Technical%20Guidance%20from%20EURL%20on%20LLP.pdf>.

Die Auswahl der anzuwendenden Nachweisverfahren erfolgt durch das Untersuchungslabor in Abhängigkeit der zu untersuchenden Pflanzenart bzw. des Untersuchungsauftrags.

3.6 Sicherung der Analysenqualität

Bei der Analytik von Futtermitteln sind geeignete Maßnahmen zu treffen, um die Aussagekraft der ermittelten Ergebnisse abzusichern. Die Untersuchungen werden gemäß VO (EU) 2017/625 [16] nur von akkreditierten Laboren durchgeführt. Die damit verbundenen Vorgaben der ISO 17025 [35] sind zu befolgen.

3.6.1 Referenzmaterial

Zertifizierte GVO-Referenzmaterialien in Form von Körnern, Mehlen, genomischer DNA oder synthetischen DNA-Plasmiden sind kommerziell u. a. bei folgenden Einrichtungen erhältlich:

- IRMM <https://ec.europa.eu/jrc/en/reference-materials/catalogue>
- American Oil Chemists' Society (AOCS) <https://www.aocs.org/crm>
- SIGMA-ALDRICH (Merck) <https://www.sigmaaldrich.com/germany.html>
- LGC Standards GmbH <https://www.lgcstandards.com>.

Von LGC und SIGMA-ALDRICH werden die zertifizierten Referenzmaterialien des IRMM vertrieben.

Das Nationale Referenzlabor für gentechnisch veränderte Organismen des BVL (NRL-GVO) und das EURL-GMFF stellen auf Anfrage amtlichen Untersuchungslaboren weitere Referenzmaterialien zur Verfügung.

Weitere matrixspezifische Referenzmaterialien sind bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht verfügbar.

3.6.2 Ringversuche und Laborvergleichsuntersuchungen

Eine regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen und Laborvergleichsuntersuchungen wird empfohlen. Diese werden gegenwärtig durchgeführt u.a. von:

- USDA/GIPSA – Untersuchungen von Mehlen
<https://www.gipsa.usda.gov/fgis/proficiencyprogram.aspx>
- European Union Reference Laboratory - Proficiency Testing
<https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/Proficiency-tests.html>
- kommerzielle Laborvergleichsuntersuchungen, z. B. Genetically Modified Material Analysis Scheme (GeMMA), Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR (DLA)

Auch vom AK PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des VDLUFA werden regelmäßig interne Laborvergleichsuntersuchungen und Ringversuche zur Methodvalidierung von Futtermitteln durchgeführt und sind auf der Homepage des VDLUFA gelistet (www.vdlufa.de/de).

3.7 Auswertung und Beurteilung der Messergebnisse

3.7.1 Auswertung der Messergebnisse bei der qualitativen Bestimmung

Gemäß DIN EN ISO 21569 [17] sollten die erhaltenen Ergebnisse einschließlich der Kontrollen eindeutig sein und zu den erwarteten Ergebnissen führen, ansonsten ist das Verfahren zu wiederholen.

Das Ergebnis der Real-Time PCR ist entweder

- positiv, wenn ein spezifisches Amplifikat nachgewiesen wurde und sämtliche Kontrollreaktionen die erwarteten Ergebnisse liefern oder
- negativ, wenn kein spezifisches Amplifikat nachgewiesen wurde und sämtliche Kontrollreaktionen die erwarteten Ergebnisse liefern.

Im Falle von uneindeutigen Ergebnissen (d.h. Ergebnisse der Doppelbestimmung aus derselben Einwaage stimmen nicht überein, +/-) muss die PCR für diese Einwaagen gemäß DIN EN ISO 24276 [14] wiederholt werden. Ist das Ergebnis erneut nicht eindeutig (+/-), so ist eine Wiederholung beginnend bei der Nukleinsäureextraktion durchzuführen. Falls diese neu durchgeführte Doppelbestimmung entweder +/- oder -/- ist, wird die Einwaage und damit die Probe als negativ bewertet.

Positive PCR-Ergebnisse in der konventionellen PCR sind gemäß 3.4.1 zu bestätigen.

Die Nachweisgrenze (limit of detection, LOD) bei qualitativen Verfahren ist gemäß DIN EN ISO 24276 [14] die niedrigste Konzentration / der niedrigste Gehalt des Analyten, die/ der zuverlässig nachgewiesen, jedoch nicht unbedingt quantifiziert werden kann.

Die LOD kann wie folgt berechnet werden:

$$\text{LOD}(\%) = \frac{\text{geringste, zuverlässig nachweisbare Kopienanzahl des Transgens}}{\text{Kopienanzahl des ziertaxonspezifischen Gens im DNA-Extrakt}} \cdot 100$$

Die Nachweisgrenze ist laborintern für die Methode zu ermitteln, sofern geeignetes Referenzmaterial zur Verfügung steht, z. B. mit 0,1 % IRMM-Referenzmaterial. Die LOD ist im Prüfbericht anzugeben.

Zur Ermittlung der probenspezifischen LOD wird die Kopienzahl des ziertaxonspezifischen Gens im DNA-Extrakt aus der Probe bestimmt.

In Abhängigkeit von der Zusammensetzung und vom Verarbeitungsgrad der Probe kann die LOD der Methode von der LOD der Probe abweichen.

Hinweise zur laborinternen Verifizierung von amtlichen und genormten PCR-Methoden werden in einem Leitfaden des EURL-GMFF [27] gegeben (<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/ENGL/docs/WG-MV-Report-version-2.pdf>).

3.7.2 Auswertung der Messergebnisse bei der quantitativen Bestimmung

Bei der Angabe von quantitativen Messergebnissen ist die Messunsicherheit des Messverfahrens zu berücksichtigen. Die Messunsicherheit muss laborintern für jede Probe separat ermittelt werden. Dazu sind ausreichende Mehrfachmessungen an der Probe vorzunehmen.

Die Messunsicherheit ist zusammen mit dem Ergebnis (Mittelwert) im Prüfbericht anzugeben. Gleichzeitig sind die Freiheitsgrade und die statistische Sicherheit festzuhalten. In der Regel wird eine statistische Sicherheit von 95% als ausreichend angesehen.

$$\text{gv-Anteil } \bar{x} (\%) = \frac{\text{Mittelwert der Kopienanzahl des Transgens im DNA Extrakt}}{\text{Mittelwert der Kopienanzahl des ziertaxonspezifischen Gens im DNA-Extrakt}} \cdot 100$$

Empfehlungen zur Angabe des GVO-Gehalts gemäß EU-Gesetzgebung und ein Leitfaden zur Umrechnung von relativen Kopienzahlen in Massenprozent werden in einem Dokument des EURL-GMFF gegeben [23] (<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/ENGL/docs/WG-UoM-Final-Report.pdf>).

Die Bestimmungsgrenze (limit of quantification, LOQ) ist gemäß DIN EN ISO 24276 [14] bei analytischen Verfahren die niedrigste Menge oder Konzentration des Analyten in der Probe, die mit einem annehmbaren Grad an Präzision und Genauigkeit quantitativ bestimmt werden kann.

Die Bestimmungsgrenze ist der Konzentrationswert, bei dem der relative Fehler einen vorgegebenen Wert (üblicherweise 33 %) unterschreitet.

Die Ermittlung der praktischen/probenspezifischen Bestimmungsgrenze erfolgt laborintern für jede Probe (praktische / probenbezogene LOQ):

$$\text{LOQ}(\%) = \frac{\text{geringste, quantifizierbare Kopienanzahl des Transgens}}{\text{Kopienanzahl des ziertaxonspezifischen Gens im DNA-Extrakt}} \cdot 100$$

Wird bei der Quantifizierung einer Probe die LOQ unterschritten, ist das Ergebnis mit probenspezifischer Bestimmungsgrenze und proben- oder methodenspezifischer Nachweisgrenze LOD anzugeben (siehe Tab. 4).

3.7.3 Angaben der Ergebnisse im Prüfbericht

Im Prüfbericht werden neben den verwendeten Prüfmethode(n) bzw. den nachgewiesenen Genabschnitten die Untersuchungsergebnisse wie folgt angegeben (siehe Tab. 3 und 4).

Tab. 3: Prüfbericht für qualitative Messergebnisse

Zieltaxon-spezifisches Gen	gentechnische Veränderung	Ergebnisformulierung	Zusätzliche Angaben im Prüfbericht
nachgewiesen	nicht nachgewiesen	In der vorliegenden Probe wurde für die Pflanzenart X keine gentechnische Veränderung Y nachgewiesen.	LOD*
nachgewiesen	nachgewiesen	In der vorliegenden Probe wurde für die Pflanzenart X eine gentechnische Veränderung Y nachgewiesen.	LOD*
nicht nachgewiesen	nicht nachgewiesen	In der vorliegenden Probe wurde für die Pflanzenart X keine DNA nachgewiesen.	LOD**

LOD (limit of detection), * methodenspezifisch und/oder probenspezifisch, **methodenspezifisch

Tab. 4: Prüfbericht für quantitative Messergebnisse

Zieltaxon-spezifisches Gen	gentechnische Veränderung	Bemerkung	Ergebnisformulierung	zusätzliche Angaben im Prüfbericht
nachgewiesen	nicht nachgewiesen		In der vorliegenden Probe wurde für die Pflanzenart X keine gentechnische Veränderung Z nachgewiesen.	LOD***
nachgewiesen	nachgewiesen		In der vorliegenden Probe wurden für die Pflanzenart X Y (\pm Messunsicherheit) % Event Z bestimmt.	LOQ*, Einheit der Quantifizierung **
nachgewiesen	nachgewiesen	< LOQ	In der vorliegenden Probe wurde für die Pflanzenart X eine gentechnische Veränderung Z nachgewiesen. Eine Quantifizierung war aufgrund probenspezifischer Eigenschaften nicht möglich.	LOQ*, LOD*
nicht nachgewiesen	nicht nachgewiesen		In der vorliegenden Probe wurde für die Pflanzenart X keine DNA nachgewiesen.	LOD***

LOD (limit of detection) oder LOQ (limit of quantification), * probenspezifisch und/oder methodenspezifisch, ** Masseprozent (m/m), Anteile an haploiden Genomkopien (cp/cp) (oder Körneranteilen), ***methodenspezifisch

4 Empfehlungen zur Futtermittel- und Analysenauswahl für die Untersuchung

Zur Überwachung der Einhaltung der gesetzlichen Bestimmungen wird bei der Auswahl der zu untersuchenden Futtermittel empfohlen, im Einzelfall zu prüfen, welche Untersuchungen aufgrund der Zusammensetzung und/oder des Verarbeitungsgrads des Futtermittels und der zur Verfügung stehenden Nachweisverfahren möglich oder sinnvoll sind. Im Folgenden werden diese Zusammenhänge dargestellt.

4.1 Einzelfuttermittel

Die nachstehend aufgeführten Futtermittelbestandteile in der Tabelle 5 stellen einen Auszug aus der „Positivliste für Einzelfuttermittel“ (Futtermittelausgangserzeugnisse) dar (Stand 04/2017; <http://www.landwirtschaftskammern.de/pdf/futtermittel-positivliste.pdf>) und beinhalten Produkte aus GVO-relevanten Getreidekörnern und Ölsaaten, Knollen und Wurzeln, wirtschaftseigene Grobfuttermittel und Grünfütterprodukte.

Tab. 5: GVO-relevante Einzelfuttermittel (Futtermittelausgangserzeugnisse); Auszug aus der Positivliste für Einzelfuttermittel (12. Auflage, 2017) [36]

Positivliste Nr.	Überbegriff	Einzelfuttermittel - Beispiele
1.05.01, 7.06.01	Maisprodukte	Körner, Pflanzenteile (frisch, siliert oder getrocknet)
1.06.01, 1.06.03	Reisprodukte	Körner, Futterreis
2.11.01	Rapsprodukte	Körner
2.14.01, 2.14.02	Sojaprodukte	Bohnen, unbehandelt und dampferhitzt
4.03.01	Kartoffelprodukte	Knollen*)
4.10.01	Zuckerrübenprodukte	ganze Rüben*), Blätter (frisch, siliert oder getrocknet)
2.01.01	Baumwolle	Baumwollsaat
2.07.01	Leinsaat	Samen des Leins

*) Die Einhaltung der Mindestmenge von 10.000 Partikeln für eine Laborprobe (Endprobe) ist bei der Probenahme von Kartoffelknollen und ganzen Zuckerrüben nicht praktikabel.

In Tabelle 6 sind entsprechend verarbeitete Einzelfuttermittel und Futtermittelausgangserzeugnisse derjenigen Fruchtarten genannt, für die derzeit gentechnisch veränderte Linien bekannt sind (Mais, Reis, Leinsamen, Raps, Soja, Kartoffel, Zuckerrübe sowie Baumwolle).

Tab. 6: GVO-relevante verarbeitete Einzelfuttermittel (Futtermittelausgangserzeugnisse; Auszug aus der Positivliste für Einzelfuttermittel (12. Auflage, 2017) [36]

Positivliste Nr.	Überbegriff	Einzelfuttermittel - Beispiele
1.05.02 bis 1.05.17	Maisprodukte	Flocken, Nachmehl, Futtermehl, Kleie, Keime, Keimkleie, Stärke, Quellstärke, Kleber, Keimkuchen, Keimextraktionsschrot, Kleberfutter, Quellmehl, Kleinflocken, Schalen
1.06.02, 1.06.04 bis 1.06.07, 1.06.09, 1.06.10, 1.06.15	Reisprodukte	Bruchreis, Flocken, Grieß/-mehl, Quellmehl, Futtermehl, Kleie, Kleber,
2.07.02, 2.07.03	Leinsaatprodukte	Kuchen, Extraktionsschrot
2.11.02 bis 2.11.05	Rapsprodukte	Schalen, Kuchen, Extraktionsschrot
2.14.03 bis 2.14.08	Sojaprodukte	Schalen, Kuchen, Extraktionsschrot, Proteinkonzentrat, Proteinisolat
2.22.02	Lecithin	Rohlecithin
4.03.02 bis 4.03.07, 4.03.09	Kartoffelprodukte	Flocken, Stärke, Quellstärke, Feinfaserstärke, Eiweiß, Pülpe
4.10.02 bis 4.10.10	Zuckerrübenprodukte	Kleinteile, Zucker/Saccharose, Melasse, Nassschnitzel, Pressschnitzel, Trockenschnitzel, Melasseschnitzel, Kochschnitzel

4.2 Einfluss des Verarbeitungsgrades des Futtermittels auf die Analyse und Bewertung

Verschiedene Schritte bei der Herstellung und Verarbeitung von Futtermitteln können Auswirkungen auf die GVO-Analytik haben.

Hochaufgereinigte Futtermittelkomponenten wie z. B. Maiskleber oder Sojaöl enthalten häufig zu wenig oder keine DNA für eine qualitative und/oder quantitative Untersuchung. Gleiches gilt für stark verarbeitete Futtermittelkomponenten, bei denen aufgrund physikalischer, chemischer oder fermentativer Faktoren ein DNA-Abbau stattgefunden hat.

Aus diesem Grund wird empfohlen, möglichst unverarbeitete pflanzliche Rohstoffe zu untersuchen.

Im Einzelfall ist durch den Nachweis der probenspezifischen Nachweisgrenze zu zeigen, dass DNA-basierte Untersuchungen trotz des Verarbeitungsgrades des Futtermittels aussagekräftig und belastbar sind.

4.3 Analyse und Bewertung von Mischfuttermitteln

Mischfutter können grundsätzlich ebenfalls auf gentechnische Veränderungen untersucht werden. Es gilt jedoch, folgende Hinweise zu beachten:

- In Mischfuttermitteln mit mehreren Einzelkomponenten einer Pflanzenart ist kein Bezug der nachgewiesenen Genkopien auf eine dieser Futtermittelkomponenten möglich, da das Analyseergebnis sich jeweils auf den Gehalt der Spezies-DNA in der Gesamtprobe bezieht. Aus diesem Grund kann kein Rückschluss auf die Einhaltung des Kennzeichnungsschwellenwertes für eine einzelne Futtermittelkomponente erfolgen.
- Für die Untersuchung eines Mischfuttermittels ist zu berücksichtigen: In Abhängigkeit des Anteils einer Futtermittelkomponente im Mischfuttermittel variiert die Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenze ihres gentechnisch veränderten Anteils. Liegt die analytische Bestimmungsgrenze dadurch über dem Messwert, ist eine quantitative Aussage nicht möglich.
- Im Einzelfall ist zu prüfen, welche Untersuchungen aufgrund der Zusammensetzung / des Verarbeitungsgrads des Mischfuttermittels und der zur Verfügung stehenden Nachweisverfahren möglich sind.
- Zur vollumfänglichen analytischen Überwachung von Mischfuttermitteln wird die Untersuchung der jeweiligen Einzelfuttermittel (Futtermittelausgangserzeugnisse) empfohlen.

4.4 Analysenstrategie

Folgende Aspekte zur Analysenstrategie sind zu berücksichtigen:

Bei der Screening-Untersuchung von Futtermitteln auf gentechnisch veränderte Bestandteile sollte ein möglichst großes Spektrum an Events der jeweils zu untersuchenden Pflanzenart(en) analytisch erfassbar sein. Für die Untersuchung können Element-, Konstrukt- und Event-spezifische Verfahren einzeln oder in Kombination zur Anwendung kommen (zur Auswahl geeigneter Methoden siehe 3.1). Zur Übersicht über Screening-Elemente von in der EU zugelassenen und in der EU nicht zugelassenen GVO ist auf der Homepage des

Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) eine Tabelle mit den zum Nachweis getesteten Screening-Methoden, im weiteren Verlauf des Dokuments als Screening-Tabelle GVO bezeichnet, veröffentlicht [25].

Für die Festlegung einer Untersuchungsstrategie kann es hilfreich sein, die vom BVL erstellte Screening-Tabelle für GVO oder die entsprechende Suchmaske der EUGINIUS-Datenbank (http://www.euginius.eu/euginius/pages/method_verification_searchview.jsf) zu nutzen. In dieser Tabelle/Datenbank ist eine Vielzahl an weltweit bekannten, Events, nach Fruchtarten sortiert, zusammengestellt. Beide geben Auskunft darüber, mit welchen Element- und/oder Konstrukt-spezifischen Nachweisverfahren gentechnisch veränderte Pflanzen im Screening-Test erfasst bzw. nicht erfasst werden. Zugleich sind auch Events aufgelistet, die nur über Event-spezifische Verfahren nachgewiesen werden können. Insofern kann für jede Fruchtart eine Untersuchungsstrategie festgelegt werden, um möglichst viele Events analytisch zu erfassen.

Für manche in der EU nicht zugelassene Events stehen bislang nur Konstrukt-spezifische Nachweissysteme zur Verfügung, die mehrere Events einer Pflanzenart oder aber gv-Konstrukte mehrerer Pflanzenarten erfassen können. In diesen Fällen ist eine Event-spezifische Identifizierung des GVO nicht möglich.

Neben den oben genannten GVO-Screening-Untersuchungen besteht die Möglichkeit, gezielt nach einzelnen Events zu suchen, beispielsweise um die Präsenz nicht zugelassener Events im Futtermittel auszuschließen.

5 Glossar

Amplifikation: Vervielfältigung eines Genabschnittes durch die PCR; das PCR-Produkt wird auch als Amplifikat bezeichnet.

ENGL: Europäisches Netzwerk von GVO-Laboratorien

EURL-GMFF: Europäisches Referenzlabor für genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel

Event: Bezeichnung für eine spezifische und für einen gentechnisch veränderten Organismus (GVO) charakteristische Insertion eines Genkonstrukts.

Genauigkeit: Ausmaß der Übereinstimmung zwischen einem Untersuchungsergebnis und dem anerkannten Referenzwert

Gentechnisch veränderte Futtermittel: gemäß VO (EG) Nr. 1829/2003, Art. 2, Punkt 7 Futtermittel [1], die GVO enthalten, daraus bestehen oder hergestellt werden.

gv: gentechnisch verändert

GVO: Genetisch veränderter Organismus: ein Organismus mit Ausnahme des Menschen, dessen genetisches Material so verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise durch Kreuzen und/oder natürliche Rekombination nicht möglich ist.

IRMM: Institut für Referenzmaterialien und Messungen

JRC: Gemeinsame Forschungsstelle (*Joint Research Centre*)

Konstrukt: Genkassette, die eine Fähigkeit an den Organismus vermittelt und in unterschiedlichen gentechnisch veränderten Organismen (auch artübergreifend) vorkommen kann.

LAV: Länderarbeitsgemeinschaft gesundheitlicher Verbraucherschutz

LOD (limit of detection, Nachweisgrenze): Die Nachweisgrenze ist gemäß DIN EN ISO 24276 (siehe Tab. 4) [14] bei qualitativen Verfahren die niedrigste Konzentration oder der niedrigste Gehalt des Analyten, die/der zuverlässig nachgewiesen werden kann.

LOQ (limit of quantification, Bestimmungsgrenze): Der Grenzwert für die Quantifizierung ist gemäß DIN EN ISO 24276 (siehe Tab. 4) [14] bei analytischen Verfahren die niedrigste Menge oder Konzentration des Analyten in der Probe, die mit einem annehmbaren Grad an Präzision und Genauigkeit quantitativ bestimmt werden kann.

m/m: bezeichnet den Anteil einer bestimmten Massenfraktion von GVO-Material bezogen auf die gesamte Masse (bei zertifiziertem GVO-Referenzmaterial i.d.R. g/kg, oder im Falle von m/m % in g/100g)

Organismus: jede biologische Einheit, die fähig ist, sich zu vermehren oder genetisches Material zu übertragen.

Präzision: Ausmaß für die Übereinstimmung zwischen voneinander unabhängigen Untersuchungsergebnissen einer Probe, die unter festgesetzten Bedingungen erhalten wurden.

Spezifität: Die Eigenschaft eines Verfahrens, ausschließlich auf die/den festgelegte(n) Eigenschaft oder Analyten zu antworten.

Stacked Event: Ein „Stacked Event“ enthält mehr als ein gentechnisch verändertes Event und wurde durch konventionelle Kreuzung von bereits existierenden Einzel-Events erzeugt [*nach Working Group for identification of stacked GM events*].

Transgen: Als Transgen bezeichnet man ein Gen, das mittels gentechnischer Methoden in das Genom eines Organismus (damit gentechnisch veränderter Organismus) eingefügt wurde.

Zieltaxon: systematische Gruppe, zu der ein GVO gehört. Taxon meint hier normalerweise die Spezies (Pflanzenart), kann aber auch ein Taxon höheren oder niedrigeren Grades sein.

6 Literatur

- [1] **VO (EG) Nr. 1829/2003:** Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über genetisch veränderte Lebensmittel und Futtermittel. Amtsblatt der Europäischen Union L 268/1 vom 18.10.2003
- [2] **VO (EG) Nr. 65/2004:** Verordnung (EG) Nr. 65/2004 der Kommission vom 14. Januar 2004 über ein System für die Entwicklung und Zuweisung spezifischer Erkennungsmarker für genetisch veränderte Organismen. Amtsblatt der Europäischen Union L 10/5 vom 16.01.2004
- [3] **VO (EG) Nr. 1830/2003:** Verordnung (EG) Nr. 1830/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von genetisch veränderten Organismen und über die Rückverfolgbarkeit von aus genetisch veränderten Organismen hergestellten Lebensmitteln und Futtermitteln sowie zur Änderung der Richtlinie 2001/18/EG. Amtsblatt der Europäischen Union L 268/24 vom 18.10.2003

- [4] **VO (EU) Nr. 619/2011:** Verordnung (EU) Nr. 619/2011 der Kommission vom 24. Juni 2011 zur Festlegung der Probenahme- und Analyseverfahren für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln im Hinblick auf genetisch veränderte Ausgangserzeugnisse, für die ein Zulassungsverfahren anhängig ist oder deren Zulassung abläuft. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 166/9 vom 25.06.2011
- [5] **VO (EG) Nr. 641/2004:** Verordnung (EG) Nr. 641/2004 der Kommission vom 6. April 2004 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich des Antrags auf Zulassung neuer genetisch veränderter Lebensmittel und Futtermittel, der Meldung bestehender Erzeugnisse und des zufälligen oder technisch unvermeidbaren Vorhandenseins genetisch veränderter Materialien, zu dem die Risikobewertung befürwortend ausgefallen ist. Amtsblatt der Europäischen Union L 102/14 vom 07.04.2004
- [6] **Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EG:** Richtlinie 2001/18/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. März 2001 über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt und zur Aufhebung der Richtlinie 90/220/EWG des Rates. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 106/1 vom 17.04.2001
- [7] **EGGenTDurchfG:** Gesetz zur Durchführung der Verordnungen der Europäischen Gemeinschaft oder der Europäischen Union auf dem Gebiet der Gentechnik und über die Kennzeichnung ohne Anwendung gentechnischer Verfahren hergestellter Lebensmittel (EGGentechnik-Durchführungsgesetz) vom 22. Juni 2004 (BGBl. I S. 1244), das zuletzt durch Artikel 58 der Verordnung vom 31. August 2015 (BGBl. I S. 1474) geändert worden ist
- [8] **VO (EG) Nr. 152/2009:** Verordnung (EG) Nr. 152/2009 der Kommission vom 27. Januar 2009 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln, Amtsblatt der Europäischen Union vom 26.02.2009, L54/1-130
- [9] **Overview on the detection, interpretation and reporting on the presence of unauthorised genetically modified materials:** Guidance document from the European Network of GMO Laboratories (ENGL), 2011
<https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/eur-scientific-and-technical-research-reports/overview-detection-interpretation-and-reporting-presence-unauthorised-genetically-modified>
- [10] **Az. C-528/16** des Europäischen Gerichtshof, Urteilsspruch vom 25.07.2018
<https://dejure.org/dienste/vernetzung/rechtsprechung?Gericht=EuGH&Datum=25.07.2018&Aktenzeichen=C-528/16>
- [11] **Probenahme von Futtermitteln zur Untersuchung auf Bestandteile von in der EU zugelassenen GVO** im Rahmen einer Überprüfung der Kennzeichnungspflicht, erstellt vom Arbeitskreis PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des VDLUFA, Stand: 07/2010 [abgelöst durch die VO (EG) 152/2009, geändert durch die VO (EU) Nr. 691/2013]
http://www.vdlufa.de/Dokumente/Fachgruppen/FG6/Probenahme_Futtermittel_GVO_ueberarb_10-9-10.pdf
- [12] **Leitfaden zur Kontrolle von GVO in Futtermitteln**, erstellt von den zuständigen Behörden des Bundes und der Länder. Überwachung des Herstellens, Behandelns, Verwendens und Inverkehrbringens von Futtermitteln im Zusammenhang mit gentechnisch veränderten Organismen (GVO) Orientierungsrahmen zur Anwendung der Rechtsvorschriften, Stand: November 2011 [in Überarbeitung]
https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/02_Futtermittel/fm_leitfaden_kontrolle_GVO.html
- [13] **Guidelines for sample preparation procedures in GMO analysis.** JRC Technical Report, 2014
- [14] **DIN EN ISO 24276: 2006 + A1:2013:** Lebensmittel - Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten in Lebensmitteln - Allgemeine Anforderungen und Definitionen. Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [15] **VO (EG) Nr. 1831/2003:** Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung, Amtsblatt der Europäischen Union, L268/29 v. 18.10.2003
- [16] **VO (EU) 2017/625:** Verordnung (EU) Nr. 2017/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. März 2017 über amtliche Kontrollen und andere amtliche Tätigkeiten zur Gewährleistung der Anwendung des Lebens- und Futtermittelrechts und der Vorschriften über Tiergesundheit und Tierschutz, Pflanzengesundheit und Pflanzenschutzmittel, zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 999/2001, (EG) Nr. 396/2005, (EG) Nr. 1069/2009, (EG) Nr. 1107/2009, (EU) Nr. 1151/2012, (EU) Nr. 652/2014, (EU) 2016/429 und (EU) 2016/2031 des Europäischen Parlaments und des Rates, der Verordnungen

(EG) Nr. 1/2005 und (EG) Nr. 1099/2009 des Rates sowie der Richtlinien 98/58/EG, 1999/74/EG, 2007/43/EG, 2008/119/EG und 2008/120/EG des Rates und zur Aufhebung der Verordnungen (EG) Nr. 854/2004 und (EG) Nr. 882/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 89/608/EWG, 89/662/EWG, 90/425/EWG, 91/496/EEG, 96/23/EG, 96/93/EG und 97/78/EG des Rates und des Beschlusses 92/438/EWG des Rates (Verordnung über amtliche Kontrollen) Text von Bedeutung für den EWR, ABl. Nr. L 95 S. 1, ber. ABl. 2017 Nr. L 137 S. 40 und ABl. 2018 Nr. L 48 S. 44

- [17] **DIN EN ISO 21569: 2005 + A1:2013:** Lebensmittel — Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten — Qualitative auf Nukleinsäuren basierende Verfahren, Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [18] Speck, B. (2013): Stellungnahme zur Nachweisbarkeit von gentechnisch verändertem SmartStax -Mais (DAS-59122-7 x MON-88017-3 x MON-89034-3 x DAS-01507-1), PCR-Arbeitskreis des VDLUFA, 2013
https://www.vdlufa.de/Dokumente/Fachgruppen/FG6/AK_PCR_SmartStax_Stellungnahme2013.pdf
- [19] **DIN EN ISO 21570: 2005 + AC:2007 + A1:2013:** Lebensmittel — Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten — Quantitative auf Nukleinsäuren basierende Verfahren, Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [20] **DIN EN ISO 21571: 2005 + A1:2013:** Lebensmittel - Verfahren zum Nachweis von gentechnisch modifizierten Organismen und ihren Produkten in Lebensmitteln – Nukleinsäureextraktion, Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [21] **Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 28 GenTG**, Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [22] **Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB**, Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [23] **Recommendation for the unit of measurement and the measuring system to report traceable and comparable results expressing GM content in accordance with EU legislation**, JRC Technical Report, 2017. <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/ENGL/docs/WG-UoM-Final-Report.pdf>
- [24] **VO (EG) Nr. 767/2009: Verordnung** des Europäischen Parlaments und des Rates vom 13. Juli 2009 über das Inverkehrbringen und die Verwendung von Futtermitteln, zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Aufhebung der Richtlinien 79/373/EWG des Rates, 80/511/EWG der Kommission, 82/471/EWG des Rates, 83/228/EWG des Rates, 93/74/EWG des Rates, 93/113/EG des Rates und 96/25/EG des Rates und der Entscheidung 2004/217/EG der Kommission. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 229/1 vom 01.09.2009
- [25] **Screening-Tabelle für den GVO-Nachweis 2017**, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 27.12.2017
http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/09_Untersuchungen/screening_tabelle_gvoNachweis.xl
- [26] **Working Group Report 2014**, Working Group for identification of stacked GM events, European Network of GMO Laboratories, JRC Science and Policy Reports, ISBN 978-92-79-38869-9
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/ENGL/docs/WG-IGSE-Report.pdf>
- [27] **Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods**, JRC Technical Report, 2017
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/ENGL/docs/WG-MV-Report-version-2.pdf>
- [28] **VO (EU) Nr. 691/2013:** Verordnung (EU) Nr. 691/2013 DER KOMMISSION vom 19. Juli 2013 zur Änderung der VO (EG) Nr. 152/2009 hinsichtlich der Probenahmeverfahren und Analysemethoden. Amtsblatt der Europäischen Union L 197/12 vom 20.07.2013
- [29] **GVO-Analytik von Futtermitteln: aktuelle Herausforderungen**, PCR-Arbeitskreis des VDLUFA, J. Verbr. Lebensm. 9: 311-316, 2014
https://www.vdlufa.de/download/Fachinformationen/Artikel_2014_AKPCR_GVO-Analytik-von-Futtermitteln.pdf
- [30] **Konzept zur Analytik von gentechnisch veränderten Futtermitteln**, Arbeitspapier des Arbeitskreises PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des Verbandes Deutscher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA); Version 2, Stand: Februar 2011
- [31] **Speck, B. (2017):** Erfahrungsbericht des Arbeitskreises PCR-Analytik der Fachgruppe Futtermittel des VDLUFA zum Futtermittelleitfaden an die AFU vom 19.10.2017

https://www.vdlufa.de/Dokumente/Veroeffentlichungen/Stellungnahmen/171019_Stellungnahme_AK-PCR_Erfahrungsbericht-Futtermittel-Leitfaden.pdf

- [32] **DIN CEN/TS 16707: 2014:** Lebensmittel - Verfahren zum Nachweis von gentechnisch veränderten Organismen und ihren Produkten - Strategien für das Screening mit Polymerase-Kettenreaktion (PCR), Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [33] **VDLUFA-Verbandsmethode „Nachweis tierischer Bestandteile - PCR Methode“**, Nr. 29.1, VDLUFA-Methodenbuch Bd. III, Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, 5. Erg.-Lfg., VDLUFA-Verlag
- [34] **DIN EN ISO 6498:2012:** Futtermittel - Leitfaden für die Probenvorbereitung, Beuth Verlag GmbH, Berlin
- [35] **DIN EN ISO/IEC 17025:2018:** Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2017)
- [36] **Positivliste der Einzelfuttermittel**, Herausgeber: Zentrallausschuss der Deutschen Landwirtschaft, Normenkommission für Einzelfuttermittel, 2017
<http://www.landwirtschaftskammern.de/pdf/futtermittel-positivliste.pdf>

7 Übersicht Internet-Adressen

EU-Ebene

- **Europäisches Gemeinschaftsregister**
http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm
- **Übersicht über die in der Europäischen Union zugelassenen genetisch veränderten (GV) Lebensmittel**
http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm
http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/gmo_authorisation_en.htm
- **Übersicht über die in der EU zugelassenen genetisch veränderten Futtermittel**
http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm
http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/gmo_authorisation_en.htm
- **Übersicht über die in der EU in der Zulassung befindlichen gentechnisch veränderten Lebens- und Futtermittel**
<http://www.bfr.bund.de/cm/343/antraege-gvo-lm-fm-vo-1829.pdf><http://www.transgen.de/zulassung.html>
- **Informationen zur europäischen Gesetzgebung**
<http://eur-lex.europa.eu/de/index.htm>
- **Standing Committee on the Food Chain and Animal Health Section: Genetically Modified Food and Feed and Environmental Risk**
http://ec.europa.eu/food/committees/regulatory/scfcah/modif_genet/index_en.htm
- **Standing Committee on the Food Chain and Animal Health Section: General Food Law**
http://ec.europa.eu/food/committees/regulatory/scfcah/general_food/index_en.htm
- **Homepage der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit EFSA**
<http://www.efsa.europa.eu/de/>

Analytik

- **Homepage des European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed (EURL-GMFF)**
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/>
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/StatusOfDossiers.aspx>
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/Technical%20Guidance%20from%20EURL%20on%20LLP.pdf>
- **Homepage des European Network of GMO Laboratories**

<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/ENGL/ENGL.html>

- **Homepage des Joint Research Centre**
<https://ec.europa.eu/jrc/en>
- **JRC GMO Training Courses**
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/training.htm>
- **JRC GMO Methods Database**
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/>
- **EUginius-Datenbank**
<http://www.euginius.eu>
- **USDA GIPSA Proficiency Tests**
<https://www.gipsa.usda.gov/fqis/proficiencyprogram.aspx>
- **EURL-GMFF Proficiency Tests**
<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/Proficiency-tests.html>

Nationale Ebene

- **Homepage des Robert-Koch-Institutes**
<http://www.rki.de/>
- **Homepage des Bundesinstituts für Risikobewertung**
<http://www.bfr.bund.de/>
- **Homepage des Julius-Kühn-Instituts**
<http://www.jki.bund.de/>
- **Homepage des Bundesforschungsinstituts für Ernährung und Lebensmittel (Max-Rubner-Institut)**
<http://www.mri.bund.de/>
- **Homepage der Bundesregierung**
<http://www.bundesregierung.de/>
- **Homepage des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft**
http://www.bmel.de/DE/Startseite/startseite_node.html
- **Homepage des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit**
<https://www.bmu.de/>
- **Homepage des Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL)**
<http://www.bvl.bund.de/>
- **Homepage des Umweltbundesamtes**
www.umweltbundesamt.de
- **Homepage der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG)**
<https://www.blag-gentechnik.de/>
- **Homepage des Ausschusses Methodenentwicklung (AM) der Bund-/ Länderarbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG)**
<https://www.blag-gentechnik.de/Ausschuesse-345-Ausschuss-Methodenentwicklung.html>

Sonstige

- **GMO Testing**
<http://www.gmotesting.com/>
- **Leitfaden zur Kontrolle von GVO in Futtermitteln**
https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/02_Futtermittel/fm_leitfaden_kontrolle_GVO.html

- **Information Platform for GM Seed der ISTA (International Seed Testing Association)**
<https://www.seedtest.org/en/information-platform-for-gm-seed-content---1--1475.html>
- **gmo-watch**
<http://www.gmwatch.org/en/>
- **ISAAA-Homepage (The International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications)**
<http://www.isaaa.org/>
- **Homepage von TransGen**
<http://www.transgen.de>
- **Homepage von Biosicherheit**
<http://www.biosicherheit.de>
- **IRMM-Homepage (Institute for Reference Materials and Measurements)**
<https://ec.europa.eu/jrc/en/reference-materials>
- **Wissenschaftlicher Bericht der Fachbehörden im Geschäftsbereich des BMEL zu den neuen Techniken**
https://www.bvl.bund.de/DE/06_Gentechnik/02_Verbraucher/09_Monitoring_Molekulare_Techniken/Bericht_Neue_Zuechtungstechniken/gentechnik_Neue_Zuechtungstechniken_node.html
- **Homepage American Oil Chemists' Society (AOCS)**
<https://www.aocs.org/crm>
- **Homepage SIGMA-ALDRICH (Merck)**
<https://www.sigmaaldrich.com/germany.html>

8 Anmerkungen

Das vorliegende Konzept erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Die Angaben erfolgen ohne Gewähr.

Alle Angaben und Internetadressen entsprechen, wenn nicht anders angegeben, dem Stand vom Dezember 2018.