

ANHANG 07, Version 01

Anforderungen an Labore und GVO-Analytik

Im Folgenden werden die Mindestanforderungen an die Labore und Analysen beschrieben, die im Rahmen

- einer Donau Soja Zertifizierung und
- der Analysevorgaben der Donau Soja Richtlinie

zur gentechnikfreien Produktion von Rohstoffen und Futtermitteln erfüllt werden müssen. Analyseergebnisse für zu zertifizierende Betriebe werden nur anerkannt, wenn die hier beschriebenen Anforderungen von den Laboren erfüllt werden. Der Donau Soja Standard orientiert sich dabei an den aktuellen Vorgaben des VLOG und dem entsprechenden Leitfaden „Labore und GVO Analysen“¹ und der ARGE Gentechnikfrei und dem entsprechenden Leitfaden „Empfehlungen zu GVO Analysen gemäß Codex-Richtlinie zur Definition der Gentechnikfreien Produktion“².

1 Anforderungen an den Auftraggeber der Untersuchung

Der Auftraggeber der GVO-Analyse ist verpflichtet,

- | | | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|----|----------|----|--------|
| • die Akkreditierung des beauftragten Labors nach DIN EN ISO/IEC 17025 regelmäßig | mind. | 1x | jährlich | zu | prüfen |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|----|----------|----|--------|

2 Anforderungen an Labore

2.1 Allgemeine Anforderungen

- Das Labor ist nach DIN EN ISO/IEC 17025 (in der gültigen Fassung) für qualitative und quantitative GVO-Untersuchungsparameter akkreditiert. Dies kann in Form einer flexiblen Akkreditierung für den gesamten Bereich oder jeweils für die durchzuführenden Verfahren einzeln vorliegen.
- Aus dem Akkreditierungsumfang muss eindeutig hervorgehen, für welche GVO-Nachweisverfahren das Labor akkreditiert ist.

Das Labor nimmt jährlich an den folgenden Laborvergleichsuntersuchungen teil und erzielt dabei gute Ergebnisse:

- einer Laborvergleichsuntersuchung bzgl. GVO für quantitative Ergebnisse mit gutem Z-Score (mindestens 75% der Ergebnisse im Z-Score Bereich +/-2) und
- einer Laborvergleichsuntersuchung bzgl. GVO für qualitative Ergebnisse (100% positiv bzw. negativ richtige Aussagen) für die Matrix Futtermittel oder pflanzliche Rohwaren/pflanzliche verarbeitete Produkte.

¹ Leitfaden Labore und GVO-Analysen:

https://www.ohnegentechnik.org/fileadmin/user_upload/03_prueflabore/Leitfaden_fuer_die_VLOG-Anerkennung_von_Laboren.pdf

² ARGE Gentechnikfrei (2018): Empfehlungen zu GVO-Analysen gemäß Codex-Richtlinie zur Definition der Gentechnikfreien Produktion

2.2 Methodische Anforderungen

Entsprechende EN und ISO-Normen und Protokolle des Joint Research Centre (JRC) sollten eingesetzt werden (falls vorhanden). Für Methoden aus anderen Quellen ist laboreitig zu verifizieren, dass vergleichbare Mindestanforderungen erfüllt sind.

2.2.1 Analytischer Prozess

Vermahlung:

Abhängig von der Probenmatrix werden jeweils die folgenden Mindestmengen an Proben komplett vermahlen:

- Futtermittel: mind. 400 g, maximal 1 kg
- Rohware: mind. 3000 Körner bzw. ca. die Probenmenge, die jeweils dieser Anzahl entspricht (Soja mind. 700g)

DNA Extraktion:

Von jeder Probe werden nach dem Mahlen/ Homogenisieren mindestens 2 DNA Extraktionen durchgeführt. Die Einwaage beträgt dabei für Futtermittel, Saaten, Lebensmittel sowie Material mit Verdacht auf inhomogene Verteilung mindestens 2000 mg. In Ausnahmefällen (bei sonst nicht extrahierbarem Material) darf die Einwaage auch bei nur 500 mg liegen.

• PCR-Analysen:

Es werden Real-Time-PCR-Verfahren mit Sondentechnologie (45 Zyklen) empfohlen. Bei der Verwendung konventioneller Endpunkt(„endpoint“)-PCR-Verfahren erfolgt bei positiven Ergebnissen eine zusätzliche Bestätigungsreaktion (z. B. Real-Time-PCR mit Sondentechnologie, Restriktionsanalyse oder Sequenzierung).

2.2.2 Absicherung der Analytik

Alle Qualitätskontrollen nach den relevanten EN und ISO-Normen zeigen die nach diesen Normen geforderten Resultate. Vom Labor ist sichergestellt, dass keine inhibitorischen Effekte die Messergebnisse beeinflussen. Weichen die Messergebnisse von den Kontrollwerten so stark ab, dass die vom Labor definierten Toleranzgrenzen für Abweichungen bzw. Qualitätsvorgaben überschritten werden, wird der PCR-Lauf wiederholt.

Es sind Verfahren über die regelmäßige Durchführung und Dokumentation von QS-Maßnahmen etabliert und umgesetzt (z.B. Kontroll- und Regelkarten), um systematische Fehler, Instabilitäten der Reagenzien etc. rechtzeitig zu erkennen und entsprechende Maßnahmen einzuleiten.

2.2.3 Anforderungen an Prüfberichte

Ein Prüfbericht enthält neben den in den in EN ISO 24276, EN ISO 21569 und EN ISO 21570 geforderten Angaben mindestens folgende Angaben:

- die eingesandte und die vermahlene Probenmenge
- die in der DNA-Extraktion eingesetzte Probenmenge
- die genaue Probenbeschreibung
- die Nachweisgrenze (Methoden-LOD in % oder als Kopienzahl des Targets)
- die angewandte Methode
- das Untersuchungsresultat
- die Messunsicherheit des Verfahrens (bei quantitativen Verfahren)
- Warnung, wenn die Menge an speziesspezifischer DNA für quantitative Aussagen in Bezug auf den relevanten Grenzwert (0,1 % bzw. 0,9 % GVO-DNA) nicht ausreicht. Die Angabe der praktischen Bestimmungsgrenze (pLOQ) wird empfohlen.

- Bestätigung, dass das Ergebnis gemäß den Anforderungen des Donau Soja Standards ermittelt wurde. Alternativ erfolgt diese Bestätigung in einem separaten Schreiben, das dem Auftraggeber 1x jährlich ausgestellt wird.

2.2.4 Interpretation der Messergebnisse – Kontroll- und Bewertungskriterien

Für jede Probe ist eine abschließende Beurteilung im Prüfbericht enthalten, ob die Probe für die analysierten Parameter den Vorgaben des Donau Soja Standards entspricht oder nicht. Für die Beurteilung von Überschreitungen des GVO-Gehaltes wird vorgeschlagen, die im Prüfbericht angegebene analytische Messunsicherheit vom Messwert abzuziehen und den resultierenden Wert für die Beurteilung der Probe heranzuziehen.

Bei Vorliegen mehrerer GV-Events in einer Zutat (gleiche Spezies) müssen die Einzelwerte summiert werden (Summationswert). Der Summationswert unter Berücksichtigung der Messunsicherheit ist für die Beurteilung von Überschreitungen des GVO-Gehalts ausschlaggebend.

3. Anforderungen an den Analyseumfang

Bei den folgenden genannten Mindestanforderungen zum Analyseumfang ist zu beachten, dass dabei nicht alle GVO berücksichtigt sind, die in der EU zugelassen bzw. für Futtermittel im Sinne der EU-Verordnung Nr. 619/2011 toleriert sind. Ebenso sind in der EU nicht zugelassene GVO nicht Bestandteil der Mindestanforderungen. Im Falle einer Überprüfung der Verkehrsfähigkeit und korrekten Kennzeichnung eines Futtermittels würden weitere GVO berücksichtigt werden (dies umfasst weitere in der EU zugelassene GVO, weitere in der EU in Futtermitteln nach Verordnung (EU) Nr. 619/2011 tolerierte GVO sowie in der EU nicht zugelassene GVO).

3.1 Mindestanforderungen für Soja Rohwaren/sojabasierte Einzelfuttermittel

- Screening auf mind. die folgenden GV-Soja-Events:
MON40-3-2 (z. B. 35S oder tNOS)
MON89788 (z. B. CTP2-CP4EPSPS oder pFMV)
A2704-12 (z. B. PAT)
MON87701 (eventspezifischer Nachweis)

Weitere Screening-Elemente können zum Eingrenzen der GVO eingesetzt werden.

Bei einem positiven Nachweis der Screening-Elemente und/oder MON87701 kann der Gehalt dieser GVO beispielsweise mittels des $\Delta\Delta\text{ct}$ -Verfahrens oder einer vergleichbaren Methode abgeschätzt werden. Bei abgeschätzten Werten über 0,1 % muss eine Identifizierung/Quantifizierung durchgeführt werden. Beim Vorliegen mehrerer positiver Befunde müssen die geschätzten Einzelwerte summiert werden. Positive Screening-Befunde bei abgeschätzten Werten über 0,1% müssen aufgeklärt werden.

3.2 Mindestanforderungen für sojahaltige Mischfuttermittel

- Screening auf mind. die folgenden GV-Soja-Events:
MON40-3-2 (z.B. 35S oder tNOS)
MON89788 (z.B. CTP2-CP4EPSPS oder pFMV)
A2704-12 (z.B. PAT)
MON87701 (eventspezifischer Nachweis)

Weitere Screening-Elemente können zum Eingrenzen der GVO eingesetzt werden.

Bei einem positiven Nachweis der Screening Elemente und/oder MON87701 kann der Gehalt dieser GVO beispielsweise mittels des $\Delta\Delta\text{ct}$ -Verfahrens oder einer vergleichbaren Methode abgeschätzt werden. Bei abgeschätzten Werten über 0,1 % muss eine Identifizierung/Quantifizierung durchgeführt werden. Beim Vorliegen mehrerer positiver Befunde müssen die geschätzten Einzelwerte summiert werden.

Bei eingeschränkter Analysierbarkeit des Futtermittelbestandteils Soja muss die praktische Nachweigrenze angegeben werden.

Können positive Screening-Ergebnisse (über 0,1 %) nicht ausreichend durch die vorhandenen GV-Soja-Events erklärt werden, müssen weitere Analysen auf GV-Mais und/oder GV-Raps durchgeführt werden.

Bei Zutat Mais:

- zusätzlich qualitativer Nachweis der kommerzialisierten Maissorten: NK603, TC1507, MON810, MON89034

Bei einem positiven Nachweis kann der Gehalt dieser GVO beispielsweise mittels der $\Delta\Delta\text{ct}$ -Verfahrens oder einer vergleichbaren Methode abgeschätzt werden, die das ausreichende Vorhandensein von Spezies-DNA sicherstellt. Bei Werten über 0,1 % muss eine reguläre Quantifizierung des/der nachgewiesenen GVO durchgeführt werden.

Bei eingeschränkter Analysierbarkeit der Zutat Mais muss die praktische Nachweigrenze (LOD) angegeben werden.

Bei Zutat Raps:

- zusätzlich qualitativer Nachweis der kommerzialisierten Rapssorten: GT73 + MS8 oder RF3

Bei einem positiven Nachweis kann der Gehalt dieser GVO beispielsweise mittels des $\Delta\Delta\text{ct}$ -Verfahrens oder einer vergleichbaren Methode abgeschätzt werden, die das ausreichende Vorhandensein von Spezies-DNA sicherstellt. Bei Werten über 0,1 % muss eine reguläre Quantifizierung von GT73 + MS8 bzw. RF3 durchgeführt werden.

Bei eingeschränkter Analysierbarkeit des Futtermittelbestandteils Raps muss die praktische Nachweigrenze (LOD) angegeben werden.

3.3 Sonstige Produkte/Rohwaren

Die Strategien zur GVO-Analytik anderer Einzelfuttermittel, Rohstoffe, (Lebensmittel-)Zutaten, Zwischenprodukte oder Lebensmittel sind unter Berücksichtigung ihrer Zusammensetzung und Herkunft weiterhin mit dem beauftragten Labor zu vereinbaren.

Die VLOG- und ARGE-Vorgaben bezüglich der Anforderungen an die Labore und Analysen werden in ihrer gültigen Fassung als gleichwertig angesehen und können im Rahmen der Donau Soja Zertifizierung angewandt werden.