

DIN EN 16936



ICS 65.120

**Futtermittel –
Probenahme- und Untersuchungsverfahren –
Screening auf die Antibiotika Tylosin, Virginiamycin, Spiramycin,
Bacitracin-Zink und Avoparcin in Konzentrationen unterhalb von
Zusatzstoffen in Mischfuttermitteln mittels mikrobiologischem Plattentest;
Deutsche Fassung EN 16936:2017**

Animal feeding stuffs –

Methods of sampling and analysis –

Screening on the antibiotics tylosin, virginiamycin, spiramycin, bacitracin-zinc and avoparcin at sub-additive levels in compound feed by a microbiological plate test;

German version EN 16936:2017

Aliments pour animaux –

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse –

Dépistage des antibiotiques tylosine, virginiamycine, spiramycine, bacitracine-zinc et avoparcine à des niveaux sous-additifs dans les aliments composés par essai sur plaque microbologique;

Version allemande EN 16936:2017

Gesamtumfang 18 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 16936:2017) wurde von der Arbeitsgruppe 3 „Futterzusatzstoffe und Pharmazeutika“ (Sekretariat: NEN, Niederlande) des Technischen Komitees CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird, unter Beteiligung deutscher Experten erarbeitet.

Für die deutsche Mitarbeit ist der Arbeitsausschuss NA 057-03-03 AA „Futtermittel“, (Spiegelausschuss zu CEN/TC 327) im DIN-Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) verantwortlich.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben.

Deutsche Fassung

**Futtermittel —
Probenahme- und Untersuchungsverfahren —
Screening auf die Antibiotika Tylosin, Virginiamycin,
Spiramycin, Bacitracin-Zink und Avoparcin in
Konzentrationen unterhalb von Zusatzstoffen in
Mischfuttermitteln mittels mikrobiologischem Plattentest**

Animal feeding stuffs: Methods of sampling
and analysis —
Screening on the antibiotics tylosin, virginiamycin,
spiramycin, bacitracin-zinc and avoparcin at sub-
additive levels in compound feed by a microbiological
plate test

Aliments pour animaux: Méthodes d'échantillonnage
et d'analyse —
Dépistage des antibiotiques tylosine, virginiamycine,
spiramycine, bacitracine-zinc et avoparcine à des
niveaux sous-additifs dans les aliments composés par
essai sur plaque microbiologique

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 6. Februar 2017 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Reagenzien und Materialien	4
5 Geräte	8
6 Probenvorbereitung	8
6.1 Vorbereitung der Testplatten	8
6.2 Probenextraktion	9
7 Messungen	9
7.1 Durchführung	9
7.2 Interpretation	9
7.3 Identifizierung	9
8 Bestimmung von Konzentrationen	10
9 Präzision	11
9.1 Ringversuch	11
10 Untersuchungsbericht	11
Anhang A (informativ) Vorbereitung von Bakteriensuspensionen	12
A.1 Allgemeines	12
A.2 Lagerung	12
Anhang B (informativ) Verfahren für die zusätzliche Identifizierung von störenden Antibiotika	13
B.1 Allgemeines	13
B.2 Tetracycline	13
B.3 Chinolone/Colistin	13
B.4 Aminoglycoside	14
B.5 Avilamycin	14
B.6 Makrolide/ β -Laktame	14
B.7 Antibiotikagemisch	14
Literaturhinweise	16

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 16936:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis November 2017, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2017 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm stellt ein Verfahren dar, welches das Screening auf die Antibiotika Tylosin, Virginiamycin, Spiramycin, Bacitracin-Zink und Avoparcin in Konzentrationen unterhalb von Zusatzstoffen in Alleinfuttermitteln und Milchaustausch-Futtermitteln mittels mikrobiologischem 3-Platten-Test beschreibt.

Die Nachweisgrenze des Verfahrens beträgt 1 mg/kg bei Avoparcin, Tylosin, Spiramycin und Virginiamycin sowie 5 mg/kg bei Bacitracin-Zink. Das Vorhandensein weiterer Antibiotika (aus Tierarzneimitteln) kann das Verfahren beeinträchtigen.

Weiterhin können hohe Konzentrationen von Metallen (Cu, Zn) stören. Das Verfahren sollte als ein qualitatives Screeningverfahren angewendet werden. Positive Ergebnisse können mittels Dünnschichtchromatographie (en: thin layer chromatography, TLC) weiter analysiert werden; für Bestätigungszwecke ist die Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie (en: liquid chromatography/mass spectrometry, LC-MS) gefordert [1].

Eine niedrigere Nachweisgrenze bei Bacitracin-Zink (3 mg/kg) ist erreichbar (siehe Tabelle 2), sie sollte jedoch erst durch eine laborinterne Validierung etabliert werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN ISO 13969, *Milch und Milchprodukte — Anleitung für eine vereinheitlichte Beschreibung mikrobiologischer Hemmstofftests (ISO 13969)*

3 Kurzbeschreibung

Die Futtermittelprobe wird mit einem Gemisch von Aceton, Salzsäure (HCl) und Wasser extrahiert. Der neutralisierte Extrakt wird in Vertiefungen in drei verschiedenen Testplatten gegeben. Jede dieser Testplatten enthält eine andere Zusammensetzung in Bezug auf das Nährmedium, Indikatorbakterium und/oder den pH-Wert. Nach einer Bebrütungsdauer von 16 h bis 18 h wird das Vorhandensein von Antibiotikarückständen durch das Erscheinen eines Bereichs der Wachstumshemmung um die Probe herum angezeigt. Der Vergleich des (Erscheinungs-)Musters der Hemmung mit einem Referenzset (Tabelle 1) kann eine vorläufige Identifizierung des Antibiotikas ergeben.

4 Reagenzien und Materialien

WARNUNG — Die Anwendung dieses Dokuments ist mit der Verwendung gefährlicher Materialien, Arbeitsgänge und Geräte verbunden. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit seiner Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, geeignete Vorkehrungen für die Sicherheit und den Gesundheitsschutz zu treffen und vor Anwendung zu prüfen, welche einschränkenden Vorschriften und Regelungen zu berücksichtigen sind.

4.1 Prüforganismen

Kocuria rhizophila ATCC 9341 (vormals: *Micrococcus luteus*)

Micrococcus luteus ATCC 10240

Bacillus megaterium ATCC 10778

Hinsichtlich der Vorbereitung von Bakteriensuspensionen siehe Anhang A.