

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Band: 95 (2004)
Heft: 1

Artikel: Verunreinigungen tierischer Herkunft in Getreide und Getreideprodukten. Teil II, Anwendung einer DNA-analytischen Methode zur Tierartbestimmung an echten Proben
Autor: Eugster, Albert
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-981818>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 18.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Verunreinigungen tierischer Herkunft in Getreide und Getreideprodukten: II. Anwendung einer DNA-analytischen Methode zur Tierartbestimmung an echten Proben

Albert Eugster, Kantonales Laboratorium Aargau, Aarau, Schweiz

Eingegangen 14. August 2003, angenommen 22. Dezember 2003

Einleitung

Im November 2001 wurden bei Routinekontrollen durch Bundesbehörden in einer Getreidemühle in Tierfutter Spuren tierischer Bestandteile nachgewiesen. Dieser Befund war an sich nicht aussergewöhnlich, wurden doch in Futtermitteln immer wieder Knochenbruchstücke festgestellt (1), ohne dass ihre Herkunft geklärt werden konnte (2). Da die betroffene Mühle auch Mahlprodukte für den menschlichen Verzehr herstellt, wurden Mehle für die Brotherstellung untersucht. Eine Probe Ruchmehl enthielt ein mikroskopisch kleines Knochenfragment. In der Folge wurden am Kantonalen Laboratorium Aargau entsprechende Produkte aus schweizerischer und ausländischer Produktion untersucht. In einigen Getreide- und Mehlproben liessen sich mit mikroskopischen Methoden entweder Knochenfragmente und/oder Muskelfasern nachweisen (3, 4). Zur Abklärung der an den tierischen Verunreinigungen beteiligten Tierarten wurde eine DNA-analytische Methode angewendet, die auf der PCR-Amplifikation eines Abschnittes des Cytochrom b-Gens mit anschliessender Restriktionsenzymspaltung und DNA-Sequenzierung beruht (5). Im folgenden Bericht sind die Resultate dieser Analysen beschrieben.

Material und Methoden

Probenmaterial

Getreidekörner und/oder Getreidemehle aus 13 Mühlen im Kanton Aargau wurden gesammelt. Insgesamt waren dies 24 Getreideproben (Weizen, Roggen,

Dinkel) und 48 Mehlproben (Kleie, Ruchmehl, Weizenmehl). Nach dem mechanischen Reinigungsprozess anfallende Reinigungsabgänge aus mehreren Mühlen wurden gesammelt, insgesamt 26 Proben. Zudem wurden am Zoll erhobene Weizenproben sowie von Privaten eingesandte Getreideproben eingesetzt. Alle Proben wurden mikroskopisch untersucht.

Eine Auswahl der Proben mit mikroskopisch festgestellten Spuren tierischer Verunreinigungen und gemäss mikroskopischen Analysen nicht kontaminierte Produkte wurden in der Folge DNA-analytisch untersucht, um Hinweise auf die beteiligten Tierarten aufzuspüren.

Probenvorbereitung

- a) Mehle und Reinigungsabgänge: homogenisierte Proben wurden direkt zur DNA-Extraktion eingewogen.
- b) Ganze Getreidekörner: 500 g wurden über einem Sieb mit einer Maschenweite von 0,36 mm gerüttelt. Die gesiebte, feine Fraktion (Abrieb) wurde zur DNA-Extraktion eingewogen.

DNA-Analytik

Die DNA-Extraktion, PCR-Reaktion, Spaltung mit Restriktionsenzymen, DNA-Sequenzierung und die DNA-Datenbanksuche wurde gemäss (5) durchgeführt. Abbildung 1 zeigt ein Agarosegel von gespaltenen Amplikons vor dem Ausschneiden der zu sequenzierenden DNA-Banden.

Resultate und Diskussion

Untersuchung von Getreide und Getreideprodukten mit positivem mikroskopischen Befund

Es wurden Mehle und ganze Getreidekörner, die mikroskopisch bezüglich tierischer Verunreinigungen positive Befunde (Knochen- resp. Muskelfragmente) aufwiesen, mit beschriebener Methode (5) analysiert. Die damit nachgewiesenen Tierarten sind im Wesentlichen die Hausmaus und Insekten (Tabelle 1). Der Nachweis von Schwein in der Probe M97 (ca. 180 bp langes Fragment nach der Spaltung des 464 bp-Amplikons mit *Hae* III) könnte auf Verunreinigungen durch Tierkörpermehl hinweisen, nicht ausschliessen lässt sich aber auch eine Kontamination auf dem Feld durch Wildschweine, welche sich im untersuchten Genabschnitt von domestizierten Schweinen nicht unterscheiden lassen. Der Nachweis der Hausmaus in derselben Probe erfolgte durch die Analyse eines ca. 300 bp langen Fragmentes nach der Spaltung des 359 bp-Amplikons mit *Hinf* I. Die in den Proben M45 (Herkunft USA) und M175 (Herkunft Kanada) nachgewiesene Grillenart *Gryllus* sp. ist sehr homolog mit in Nordamerika verbreiteten Feldgrillen; die beste Übereinstimmung wurde erzielt mit *Gryllus ovisopis* (M45: ungespaltenes 359 bp-Amplikon nach der Spaltung mit *Hinf* I ergibt eine Homologie von 204 von 209 bp mit dem

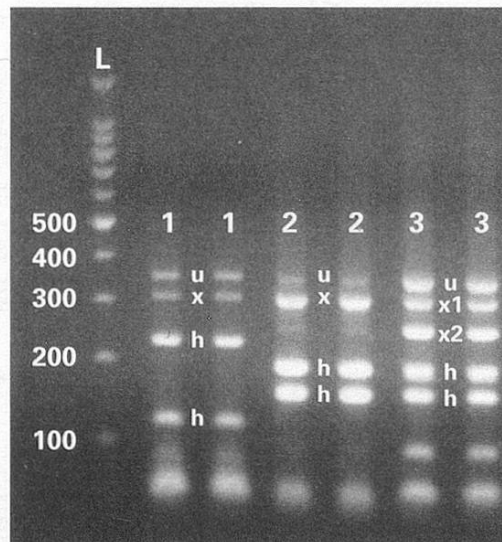


Abbildung 1 **DNA-Fragmente nach der Restriktionsenzymspaltung der 359 bp-Amplikons, das Auftragen auf mehrere Bahnen erhöht die DNA-Ausbeute (siehe Lit. 5).**

Bahnen 1: Probe M16 (Tabelle 1), gespalten mit *Hae* III;
x (ca. 310 bp)=Insekt?

Bahnen 2: Probe M98 (Tabelle 1), gespalten mit *Hinf* I; x (ca. 305 bp)
=Hausmaus, erwartete Fragmente bei 315/44 bp

Bahnen 3: Probe AM (Tabelle 3), gespalten mit *Hinf* I; x1
(ca. 300 bp)=Gelbhalsmaus, erwartete Fragmente bei
315/44 bp; x2 (ca. 260 bp)=unbekannte Tierart xy

L= 100 bp DNA-Marker; u=ungespaltene, nicht analysierte Amplikons;
h=humane DNA (*Hinf* I: 198/161 bp; *Hae* III: 232/127bp, eine weitere humane, im Abschnitt eines Primers liegende *Hae* III-Schnittstelle bleibt intakt, da der Primer diese Erkennungssequenz nicht aufweist); schwache oder kürzere Banden als 100 bp wurden nicht analysiert.

NCBI-Datensatz gi 11141486, resp. das ungespaltene 359 bp-Amplikon nach einer *Hae* III Spaltung der Probe M175 weist eine Homologie von 198 von 206 bp mit dem NCBI-Datensatz gi 1114148 auf). Die DNA-Daten der Mehle M89 und M91 liessen sich keiner Tierart zuordnen und aus dem australischen Weizen M182 war keine tierische DNA zu isolieren. Der Nachweis der Hausmaus in der Probe M98 erfolgte durch die Analyse des ungespaltenen 359 bp-Amplikons (100% Homologie von 323 bp), nachdem die DNA anderer Tierarten und humane DNA mit *Hae* III gespalten wurde; sowie durch die Analyse des ca. 305 bp langen Fragmentes nach der Spaltung des 359 bp-Amplikons mit *Hinf* I (Abbildung 1). Die eingesetzte Methode verwendet zum Nachweis der Tierarten das Cytochrom b-Gen und eignet sich hauptsächlich für den Unterstamm der Wirbeltiere (*Vertebrata*). Die verwendeten Primer binden nur an die DNA einiger Tiergruppen vom Stamm der Gliederfüssler (*Arthropoda*), wie zum Beispiel den Grillen/Heuschrecken, so werden die

Tabelle 1

Nachgewiesene Tierarten in Getreide und Getreideprodukten mit positivem mikroskopischen Befund

Probe	Produkt	Herkunft	Mikroskopie	Einwaage	nachgewiesene Tierarten	Bemerkungen
M16	Bio-Ruchmehl	Schweiz	51 K/20 g	209 mg Mehl 104 mg Sediment ¹	xy (siehe Text) Insekt? Hausmaus (<i>Mus musculus</i>)? xy (siehe Text)	
M45	Weizen USHD-3	USA	M, K, Fischschuppen	156 mg Abrieb	Grille (<i>Gryllus sp.</i>)	Grillen mit Habitat Nordamerika
M89	Weissmehl	Schweiz?	1 K/60 g	226 mg Mehl	–	359 bp-Amplikon nicht interpretierbar
M91	Weissmehl	Schweiz	1 K/60 g	200 mg Mehl	–	359 bp-Amplikon nicht interpretierbar
M97	Weizen-Ruchmehl	Schweiz?	3 K/60 g	240 mg Mehl	Schwein/Wildschwein (<i>Sus scrofa</i>) Hausmaus (<i>Mus musculus</i>) xy (siehe Text)	147 v. 151 bp homolog mit gi 4220565 ² 288 v. 289 bp homolog mit gi 342520 ²
M98	Weizen	Schweiz	3 M/12 mg Abrieb	84 mg Abrieb	Hausmaus (<i>Mus musculus</i>)	100 % (323 bp) homo- log mit gi 342520 ²
M175	Hartweizen	Kanada	8 M/8 Präparate +Milben	8 mg Abrieb	Grille (<i>Gryllus sp.</i>) Fisch?	Grillen mit Habitat Nordamerika
M182	Hartweizen Bio	Australien	8 M/8 Präparate	10 mg Abrieb	–	keine tierische DNA nachweisbar

Mikroskopie: M=Muskelfragment, K=Knochenfragment

Herkunft: ?=Herkunft unsicher

nachgewiesene Tierarten: ?= Befund unsicher

¹aus Mikroskopie-Präparation²NCBI-Datensatz

mikroskopisch nachgewiesenen Milben in der Probe M175 von den verwendeten PCR-Systemen nicht erfasst. Allgemein gilt, dass für den Nachweis und die Identifizierung von Gliederfüsslern zum Beispiel die Gene der mitochondrialen Untereinheiten der Cytochromoxidase (CO) besser geeignet sind; in der verwendeten DNA-Datenbank sind auch viel mehr Datensätze zur CO als zum Cytochrom b-Gen von Insekten vorhanden. Bei der Verwendung von genübergreifenden PCR-Systemen gilt es zu berücksichtigen, dass die Genanordnung in der mitochondrialen DNA bei Gliederfüsslern nicht konserviert ist.

Untersuchung von Getreidemehlen mit negativem mikroskopischen Befund

Drei mikroskopisch bezüglich tierischer Bestandteile «saubere» Getreidemehle wurden als Blindproben untersucht (Tabelle 2); darin nachgewiesen wurden die Hausmaus in zwei Proben und in einer davon zusätzlich die unbekannte Tierart xy. In der Probe M101 gelang der Nachweis der Hausmaus über die Analyse des ungespaltenen 359 bp-Amplikons nach einer Spaltung mit *Hae* III, in der Probe M111 mittels eines ca. 300 bp langen Fragmentes nach der Spaltung des 359 bp-Amplikons mit *Hinf* I. Der genetische Nachweis der Hausmaus und der unbekannten Tierart xy gelingt offensichtlich an tierischem Material, das mikroskopisch unentdeckt bleibt. In der Probe M124 verlief der Nachweis von DNA tierischen Ursprungs negativ.

Bei der Verwendung von Abrieb findet eine Aufkonzentrierung der Verunreinigungen aus dem Getreide statt, trotzdem lässt sich auch direkt aus verschiedenen Mehlen (M97, M101 und M111) eindeutig die Hausmaus nachweisen; ein erstaunlicher Befund, welcher die hohe Nachweisempfindlichkeit der eingesetzten Methode für native DNA illustriert.

Untersuchung einer Abkratzprobe und von Reinigungsabgängen aus Mühlen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auch Reinigungsabgänge aus Mühlen untersucht (Tabelle 3). Die Abkratzprobe AM bestand aus Material, das von der Innenwand eines Getreidesilos abgekratzt wurde. Darin liessen sich Spuren von genetischem Material der Gelbhalsmaus, eigentlich einem Waldbewohner, nachweisen. Die Analyse erfolgte mit einem ca. 300 bp langen Fragment aus der Spaltung mit *Hinf* I des 359 bp-Amplikons. In den Proben AM, H und J konnte kein Hinweis auf allenfalls früher im Betrieb verarbeitete Tierkörpermehle gefunden werden, wohl aber die unbekannte Tierart xy. Das bei der Herstellung des Mikroskopiepräparates anfallende Flotat RF aus einem Reinigungsabgang wies möglicherweise DNA von Fischen auf, was auf eine Kontamination mit Fischmehl hinweisen würde. Bei der Probe RK handelte es sich um ein kleines Knochenfragment (ca. 2 mg Gewicht), dessen DNA nach der Analyse des ungespaltenen 359 bp-Amplikons einem Haushuhn zugeordnet werden konnte. Diese Tierart wurde neben der humanen DNA als Nebenkomponente identifiziert.

Tabelle 2

Nachgewiesene Tierarten in Getreidemehlen mit negativem mikroskopischen Befund

Probe	Produkt	Herkunft	Mikroskopie	Einwaage	nachgewiesene Tierarten	Bemerkungen
M101	Ruchmehl Weizen	Schweiz/Kanada	negativ	200 mg Mehl	Hausmaus (<i>Mus musculus</i>)	102 v. 107 bp homolog mit gi 342520 ¹
M111	Ruchmehl	Schweiz/Kanada/ Frankreich	negativ	200 mg Mehl	Hausmaus (<i>Mus musculus</i>) xy (siehe Text)	112 v. 116 bp homolog mit gi 342520 ¹
M124	Ruchmehl	Schweiz	negativ	200 mg Mehl	–	keine tierische DNA nachweisbar

¹ NCBI-Datensatz

Tabelle 3
Nachgewiesene Tierarten in einer Abkratzprobe und in Reinigungsabgängen aus Mühlen

<i>Probe</i>	<i>Produkt</i>	<i>Mikroskopie</i>	<i>Einwaage</i>	<i>nachgewiesene Tierarten</i>	<i>Bemerkungen</i>
AM	Abkratzprobe 223663-8	nicht durchgeführt	130 mg	Gelbhalsmaus (<i>Apodemus flavicollis</i>) xy (siehe Text)	100% (276 bp) homolog mit gi 5732712 ²
H	Reinigungsabgang	extern: K	210 mg	xy (siehe Text) Käfer?	
J	Reinigungsabgang	extern: K	209 mg	xy (siehe Text)	
RF	Flotat ¹ aus Reinigungsabgang	extern: M	61 mg	Fisch?	
RK	Knochenfragment aus Reinigungsabgang	nicht durchgeführt	2 mg	Haushuhn (<i>Gallus gallus</i>)	Befund mittels Analyse der Nebenkomponente

Mikroskopie: M=Muskelfragment, K=Knochenfragment

nachgewiesene Tierarten: ?=Befund unsicher

¹aus Mikroskopie-Präparation

²NCBI-Datensatz

Unbekannte Tierart xy

Der Bezeichnung «unbekannte Tierart xy» (Tabellen 1 bis 3) liegt eine gesicherte – da in mehreren Proben vorhandene – DNA-Sequenz von 236 bp Länge zugrunde:

```
TTTTGGTTCT  TTATTAGGGA  TATGTTTGGG  GATCCAAATT  
ATCACAGGTC  TATTCTTAGC  CACACATTAC  GTAGCCCATA  
TTGATTATGC  TTTTGCAAGA  GTAATCCACA  TCTGCCGAGA  
CGTAAATTAT  GGGTGACTTT  TACGGACCCT  TCACGCCAAT  
GGAGCTTCTA  TGTITTTTCTT  TTGCTTATAT  TITCATATTG  
GTCGTGGGAT  GTACTATGGT  TCGTACACCC  TGACTA.
```

Diese DNA-Sequenz wurde gewonnen aus einem ca. 260 bp langen DNA-Fragment nach der Spaltung des 359 bp-Amplikons mit *Hinf* I, sequenziert mit dem Primer Cyt b1 (5). Das Auftreten von xy ist häufig, es wurde immer in Getreide oder Getreidemischungen schweizerischer Provenienz nachgewiesen. Eine DNA-Datenbanksuche resultierte nur in relativ kurzen Teil-Homologien mit Cytochrom b-DNA von einem Vertreter aus der Ordnung *Psocoptera* (Läuse, 148 bp, 81 % Homologie), Vertreter der weltweit über 20000 Arten umfassenden Familie der Laufkäfer (*Carabidae*, 89 bp, 85 % Homologie) sowie Kleinnager aus der Familie der Echten Mäuse (*Muridae*, 39 bp, 97 % Homologie). Wertet man die BLAST-Resultate als analytische Hinweise, so kommen Vertreter aus zwei Tiergruppen als Träger der xy-Sequenz in Frage:

- a) ein Kleinnager aus der grossen Vielfalt der über mehrere Taxa verteilten Mausarten oder
- b) ein Vertreter aus dem Stamm der Gliederfüssler (*Arthropoda*).

Zu a) Aufgrund der Häufigkeit des Auftretens der xy-DNA-Sequenz in den Getreideproben ist eine seltene Mausart nicht zu erwarten. Von vielen häufig anzutreffenden Mausarten und mausähnlichen Arten sind aber die Cytochrom b-Sequenzen bekannt. Weiter spricht gegen die «Maus-These», dass auch weit entfernt verwandte Mausarten untereinander eine Homologie von mindestens ca. 80 % aufweisen und damit auf der gesamten Sequenzlänge vom Suchprogramm als «mausähnliche Tierarten» erkannt würden. Im untersuchten Gen-Abschnitt weisen zum Beispiel Vertreter der Gattungen *Sorex* (Spitzmäuse), *Apodemus* (z.B. Waldmaus) und *Microtus* (Feldmäuse) untereinander Homologien von 80–90 % auf, dies in guter Übereinstimmung zu Untersuchungen an anderen Säugetieren (*Mammalia*) (6).

Zu b) Aus analytischen und Plausibilitätsgründen kommt als Quelle für die xy-DNA-Sequenz eher ein Vertreter aus dem Stamm der Gliederfüssler in Betracht. Im Vordergrund stehen Lager- und Vorratsschädlinge (z.B. Kornkäfer) sowie auf Getreidepflanzen oder in Getreideanbaugebieten heimische Arten (z.B. Laufkäfer) wie unter anderem:

- Kornkäfer (*Sitophilus granarius*)
- Reismehlkäfer der Gattung *Tribolium*
- Falter und Motten (z.B. Mehlmotte *Ephestia kühniella*)

- Laufkäfer, wie der in Winterweizen häufig vorkommende gewöhnliche Gräbläufer (*Pterostichus melanarius*) und behaarter Schnellläufer (*Harpalus rufipes*)
- Gelbe Weizengallmücke (*Contarinia tritici*)
- Grosse Getreideblattlaus (*Sitobion avenae*)
- Silberfischchen (*Lepisma saccharina*)
- Spinnen oder Milben aus der Klasse der Spinnenartigen (*Arachnoidea*)
- Fliegen

Ein Teil dieser Tiere konnte beschafft und mit der beschriebenen Methode analysiert werden. Es waren dies:

- Kornkäfer (*Sitophilus granarius*)
- Gewöhnlicher Gräbläufer (*Pterostichus melanarius*) und behaarter Schnellläufer (*Harpalus rufipes*)
- Kohldrehherz gallmücke (*Contarinia nasturtii*) anstelle der Gelben Weizengallmücke (*Contarinia tritici*)
- Grosse Getreideblattlaus (*Sitobion avenae*)

Aus einem Teil der Tiere gelang es, ein 359 bp-Amplikon zu gewinnen, welche aber zu stark von humaner DNA überlagert waren. Damit konnte die unbekannt Tierart xy bis zum heutigen Zeitpunkt weder einer bestimmten Tierart noch einer Taxa zugeordnet werden.

Schlussfolgerungen

Auch wenn der direkte kausale Zusammenhang zwischen dem mikroskopischen Befund und dem auf beschriebener DNA-Analytik begründeten Befund nicht unmittelbar gegeben ist, so kann diese vorliegende Methode, im Anschluss an die Mikroskopie durchgeführt, unter Umständen weitere Aussagen zur Herkunft tierischer Verunreinigungen ermöglichen.

Die verwendete Methode eignet sich wegen der hohen Nachweisstärke für Wildtiere zum Beispiel für Untersuchungen im Zusammenhang mit Lagerschädlingen oder mit der Ernte assoziierten Wildtieren (u.U. bezüglich der Herkunft eines Erntegutes, siehe Grille in Tabelle 1). Für die Tierartbestimmung von in tiefen Konzentrationen kontaminierendem Tierkörpermehl ist die Methode zu wenig sensitiv, es sei denn, das fragliche Tierkörpermehl wurde nicht so stark erhitzt wie es die heutigen gültigen Vorschriften verlangen. Im Falle einer Untersuchung einer Probe mit einer starken, mikroskopisch festgestellten tierischen Kontamination, vermag der Einsatz dieser Methode durchaus zu einem brauchbaren Resultat bezüglich der Tierart verhelfen, wenn es sich bei der Quelle der tierischen Verunreinigung um Wildtiere handelt. Wird die Fragestellung bei einer zu untersuchenden Probe eingeschränkt auf die Problematik der BSE, so sind andere, empfindlichere PCR-Nachweismethoden für den Nachweis von Rinderbestandteilen dieser Methode vorzuziehen (5).

Bezüglich der Empfindlichkeit der eingesetzten Methode sind die beiden Gruppen von Verunreinigungen – Tierkörpermehle und Wildtiere – klar zu unterscheiden. Die DNA in den Tierkörpermehlen ist wegen der erfolgten enormen Hitzebehandlung sehr stark degradiert. Der Nachweis dieser degradierten DNA mittels PCR ist, verglichen mit dem mikroskopischen Nachweis tierischer Bestandteile, sehr unempfindlich. Im Gegensatz dazu die gefundene DNA der Wildtiere, deren Nachweisgrenze um Grössenordnungen tiefer liegt.

Eine Empfindlichkeitssteigerung dieser Methode könnte erreicht werden durch eine grössere Einwaage oder durch das Vermeiden einer Kontamination mit Spuren humaner DNA. Vorhandene humane DNA konkurrenziert in der Nachweisreaktion mit allfällig vorhandener tierischer DNA. Für diese vermindert sich deshalb die Nachweisempfindlichkeit.

Dank

Der Autor dankt Christoph Mueller für die Bereitstellung der Proben und der mikroskopischen Ergebnissen, sowie Andreas Müller vom Institut für Pflanzenwissenschaften der ETH Zürich, Robert Baur von der Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau Wädenswil, Jacques Derron von der Forschungsanstalt für Pflanzenbau Changins und Siegfried Keller von der Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau Tänikon für die Bereitstellung von Insekten.

Zusammenfassung

In Getreidemehlen, an Weizenkörnern anhaftendem Staub (Abrieb) und in Reinigungsabgängen aus Mühlen konnte mittels DNA-analytischer Methoden Erbsubstanz tierischer Herkunft nachgewiesen werden. In den erhobenen Proben wurden tierische Verunreinigungen vor allem Kleinnagern und Insekten zugeordnet. Eine «wiederholte PCR» eines 359 bp und eines 464 bp langen PCR-Produktes wurden auf dem mitochondrialen Cytochrom b-Gen durchgeführt. Nach der Spaltung der Amplikons mit Restriktionsenzymen wurden auf einem Agarosegel die DNA-Fragmente tierischer Herkunft aufgetrennt und einer DNA-Sequenzierung und anschliessender DNA-Datenbanksuche unterzogen.

Résumé

De l'ADN d'origine animale a été détecté dans de la farine de blé, dans de la poussière fixée sur des grains de blé ainsi que dans des impuretés provenant du nettoyage de moulins. Des contaminations provenant de petits rongeurs ainsi que d'insectes ont été mises en évidence dans des échantillons prélevés officiellement. Deux séquences d'une longueur de 359 bp et 464 bp, situées sur le gène mitochondrial du cytochrome b, ont été analysées par PCR, les produits étant soumis à une double amplification («repeated PCR») utilisant les mêmes amorces. Après séquençage des amplicons par des enzymes de restriction, les différents fragments d'ADN d'origine animale ont été séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose. Les différents

segments d'ADN ainsi obtenus ont été comparés à des séquences d'ADN d'une banque de données.

Summary "Cereals and cereal products contaminated by material of animal origin: II. Application of a DNA related method of analysis in order to identify animal species in real samples"

Animal DNA was detectable in grain flours, dust gained from wheat seed and impurities from mill separators. In official samples, findings mainly revealed animal contamination by small rodents and insects. Two sequences of a length of 359 bp and 464 bp respectively, both located on the mitochondrial cytochrome b gene, were amplified by "repeated PCR". After enzymatic restriction, DNA fragments of animal origin were separated by agarose gel electrophoresis, sequenced and then inspected for homology to databank sequences.

Key words

Animal contamination, species identification, cytochrome b, wheat

Literatur

- 1 Frick G., Roetschi A. und Hauswirth H.: Mikroskopische Untersuchung von Futtermitteln. *Agrarforschung* 9, 497–504 (2002)
- 2 Maret C.: Woher stammen die Tiermehlspuren? *BVET-Magazin* 4, 24–26 (2002)
- 3 *Kantonales Laboratorium Aargau: Jahresbericht*, 50–51 (2001)
- 4 *Kantonales Laboratorium Aargau: Jahresbericht*, 32–34 (2002)
- 5 Eugster A.: Verunreinigungen tierischer Herkunft in Getreide und Getreideprodukten: I. Problemstellung und Beitrag zur Tierartbestimmung mittels PCR. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 94, 181–191 (2003)
- 6 Brodmann P.D., Nicholas G., Schaltenbrand P. and Ilg E.C.: Identifying unknown game species: experience with nucleotide sequencing of the mitochondrial cytochrome b gene and a subsequent basic local alignment search tool search. *Eur. Food Res. Technol.* 212, 491–496 (2001)

Korrespondenzadresse: Albert Eugster, Kantonales Laboratorium Aargau, Kunsthausweg 24, CH-5000 Aarau, albert.eugster@ag.ch