

1973

Ausgegeben zu Bonn am 30. Mai 1973

Nr. 40

Tag	Inhalt	Seite
24. 5. 73	Verordnung über gesundheitliche Anforderungen an Rohmilch und daraus hergestellte Erzeugnisse, die von Milcherzeugern unmittelbar an Verbraucher abgegeben werden (Hygieneverordnung für Milch-ab-Hof-Abgabe), 7842-2-1	477

**Verordnung
über gesundheitliche Anforderungen an Rohmilch und daraus hergestellte Erzeugnisse,
die von Milcherzeugern unmittelbar an Verbraucher abgegeben werden
(Hygieneverordnung für Milch-ab-Hof-Abgabe)**

Vom 24. Mai 1973

Mit Zustimmung des Bundesrates verordnen auf Grund der §§ 37 und 52 Abs. 1 Satz 1 des Milchgesetzes vom 31. Juli 1930 (Reichsgesetzbl. I S. 421), zuletzt geändert durch das Einführungsgesetz zum Gesetz über Ordnungswidrigkeiten vom 24. Mai 1968 (Bundesgesetzbl. I S. 503), in Verbindung mit Artikel 129 Abs. 1 des Grundgesetzes der Bundesminister für Jugend, Familie und Gesundheit im Einvernehmen mit dem Bundesminister für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, hinsichtlich der §§ 1, 2 und 3 auch auf Grund des § 5 Nr. 1 des Lebensmittelgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 17. Januar 1936 (Reichsgesetzbl. I S. 17), zuletzt geändert durch das Gesetz zur Änderung des Lebensmittelgesetzes vom 8. September 1969 (Bundesgesetzbl. I S. 1590), in Verbindung mit Artikel 129 Abs. 1 des Grundgesetzes der Bundesminister für Jugend, Familie und Gesundheit gemeinsam mit dem Bundesminister für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten:

§ 1

(1) Milcherzeuger dürfen Rohmilch unmittelbar an Verbraucher nur abgeben, wenn die Milch in der eigenen Betriebsstätte des Milcherzeugers gewonnen worden ist, die Voraussetzungen des § 2 Abs. 1 erfüllt sind und die Milch den Anforderungen der Anlage entspricht. Die Rohmilch darf nur in der Betriebsstätte abgegeben werden, in der sie gewonnen worden ist.

(2) Milcherzeuger dürfen ausschließlich oder überwiegend aus Rohmilch hergestellte Erzeugnisse

nur abgeben, wenn sie die Erzeugnisse in der Betriebsstätte hergestellt haben, in der die dazu verwendete Milch gewonnen worden ist, die Voraussetzungen des § 2 Abs. 1 erfüllt sind und die zur Herstellung der Erzeugnisse verwendete Milch den Anforderungen der Anlage entspricht. § 2 Abs. 1 der Verordnung über Milcherzeugnisse vom 15. Juli 1970 (Bundesgesetzbl. I S. 1150), geändert durch die Verordnung zur Änderung der Verordnung über Milcherzeugnisse vom 14. Juli 1971 (Bundesgesetzblatt I S. 1010), sowie § 3 Abs. 6 und hinsichtlich der vorgeschriebenen Pasteurisierung Anlage 1, Gruppe Frischkäse der Käseverordnung vom 24. Juni 1965 (Bundesanzeiger Nr. 118 vom 30. Juni 1965), zuletzt geändert durch die Zweite Verordnung zur Änderung der Käseverordnung vom 22. Dezember 1969 (Bundesanzeiger Nr. 241 vom 31. Dezember 1969), finden auf Erzeugnisse nach Satz 1 keine Anwendung, sofern diese in der Betriebsstätte abgegeben werden.

(3) Die Absätze 1 und 2 Satz 1 gelten nicht für die Abgabe an

1. Familienangehörige des Milcherzeugers, Anteilhaber oder Verpächter des Betriebes,
2. Personen, die im Betrieb des Milcherzeugers beschäftigt sind und deren Familienangehörige,
3. einzelne Verbraucher im Sinne des § 2 Abs. 1 des Milchgesetzes, wenn nur geringe Mengen abgegeben werden,
4. Wanderer und Berghütten durch Almen und Alpen.

§ 2

(1) Die Abgabe von Rohmilch und daraus hergestellten Erzeugnissen nach § 1 Abs. 1 und 2 setzt voraus:

1. Der Rinderbestand der Betriebsstätte muß
 - a) frei sein von Erscheinungen, die auf das Vorhandensein von auf den Menschen übertragbaren Krankheiten schließen oder den Ausbruch einer solchen Krankheit befürchten lassen;
 - b) frei sein von klinisch oder haematologisch feststellbarer Leukose;
 - c) amtlich als tuberkulose- und brucellosefrei anerkannt sein.
2. Der Kuhbestand der Betriebsstätte muß einer von der zuständigen Behörde als ausreichend erachteten tierärztlichen Eutergesundheitsüberwachung unterliegen.
3. Mit der Gewinnung, Behandlung, Aufbewahrung oder Abgabe der Milch oder der Herstellung, Aufbewahrung oder Abgabe von daraus hergestellten Erzeugnissen dürfen keine Personen befaßt sein, die nach § 13 des Milchgesetzes bei der Gewinnung von Milch und im Verkehr mit Milch nicht tätig werden dürfen.
4. Für die Aufbewahrung und Kühlung der Milch und für die Herstellung und Aufbewahrung der daraus hergestellten Erzeugnisse muß ein besonderer, ausschließlich diesen Zwecken dienender, genügend großer Raum vorhanden sein. Der Raum muß sich in gutem baulichem Zustande befinden und mit festschließenden Fenstern und Türen versehen sein. Fußboden und Wände müssen wasserundurchlässig, leicht zu reinigen und zu desinfizieren sein. Der Raum und die Gegenstände, die mit der Milch oder daraus hergestellten Erzeugnissen unmittelbar oder mittelbar in Berührung kommen, müssen stets hygienisch einwandfrei gehalten werden. Zur Reinigung und Desinfektion des Raumes und der Geräte muß Wasser mit Trinkwassereigenschaft verwendet werden; dies gilt auch für das Reinigen und Desinfizieren des Euters und dessen Umgebung.
5. An der Abgabestelle muß gut sichtbar und lesbar der Hinweis angebracht sein, daß Rohmilch oder aus Rohmilch hergestellte Erzeugnisse abgegeben werden, und daß die Milch vor dem Verzehr abgekocht werden soll.

(2) Die Erfüllung der Voraussetzungen nach Absatz 1 ist vom Milcherzeuger der zuständigen Behörde nachzuweisen durch

1. amtstierärztliche Bescheinigung hinsichtlich der in Absatz 1 Nr. 1, Nr. 2 und Nr. 4 Satz 1 bis 3 genannten Voraussetzungen und
2. Zeugnis des Gesundheitsamtes hinsichtlich der in Absatz 1 Nr. 3 genannten Voraussetzungen; § 18 Abs. 1 Satz 2 und 3 des Bundesseuchengesetzes gilt entsprechend.

Die Bescheinigungen dürfen nicht älter als ein Jahr sein.

§ 3

Die Abgabe von Rohmilch und daraus hergestellten Erzeugnissen nach § 1 Abs. 1 und 2 ist vom Milcherzeuger unverzüglich einzustellen, wenn der begründete Verdacht besteht, daß die Voraussetzungen nach § 2 Abs. 1 Nr. 1 Buchstabe a oder Nr. 3 nicht mehr gegeben sind. Die Abgabe von Rohmilch und daraus hergestellten Erzeugnissen darf erst dann wieder aufgenommen werden, wenn durch amtstierärztliche oder amtsärztliche Überprüfung erneut festgestellt worden ist, daß die Voraussetzungen für die Abgabe erfüllt sind.

§ 4

Die nach Landesrecht zuständige Behörde kann die unmittelbare Abgabe von Rohmilch vom Milcherzeuger an den Milcheinzelhandel zulassen, wenn die Voraussetzungen dieser Verordnung für eine unmittelbare Abgabe der Milch an Verbraucher erfüllt sind und die Versorgung der Bevölkerung in Gemeinden oder Teilen von Gemeinden mit pasteurisierter Vollmilch nicht sichergestellt werden kann. Sie kann die Zulassung von der Erfüllung weiterer Bedingungen abhängig machen, soweit dies zum Schutze der Gesundheit erforderlich ist.

§ 5

(1) Die Vorschriften der Ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes vom 15. Mai 1931 (Reichsgesetzbl. I S. 150), zuletzt geändert durch die Milch-Sachkunde-Verordnung vom 22. Dezember 1972 (Bundesgesetzbl. I S. 2555), bleiben unberührt, soweit in dieser Verordnung keine besondere Regelung getroffen ist.

(2) Auf Rohmilch, die als Vorzugsmilch in den Verkehr gebracht wird, finden die Vorschriften dieser Verordnung keine Anwendung.

§ 6

Wer vorsätzlich oder fahrlässig

1. entgegen § 1 Abs. 1 Satz 1 Rohmilch abgibt, die
 - a) nicht in der eigenen Betriebsstätte gewonnen worden ist oder
 - b) nicht den Anforderungen der Anlage entspricht,
2. entgegen § 1 Abs. 1 Satz 2 Rohmilch außerhalb der Betriebsstätte, in der sie gewonnen worden ist, abgibt,
3. entgegen § 1 Abs. 2 Satz 1 Erzeugnisse abgibt, die
 - a) nicht in der Betriebsstätte, in der die Rohmilch gewonnen worden ist, oder
 - b) nicht aus Rohmilch, die den Anforderungen der Anlage entspricht, hergestellt worden sind,
4. als Milcherzeuger Rohmilch unmittelbar an Verbraucher abgibt oder aus Rohmilch hergestellte Erzeugnisse abgibt, obwohl die Bescheinigungen oder Zeugnisse nach § 2 Abs. 2 ihm nicht erteilt worden sind oder nicht mehr gelten, oder

5. entgegen § 3 Satz 1 die Abgabe von Rohmilch oder daraus hergestellten Erzeugnissen nicht oder nicht rechtzeitig einstellt,

wird nach § 11 Abs. 1 Satz 2, Abs. 2 bis 4 des Lebensmittelgesetzes bestraft.

§ 7

§ 26 der Ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes wird aufgehoben.

§ 8

Diese Verordnung gilt nach § 14 des Dritten Überleitungsgesetzes vom 4. Januar 1952 (Bundesgesetzblatt I S. 1) in Verbindung mit Artikel 8 des Gesetzes zur Änderung und Ergänzung des Lebensmittelgesetzes vom 21. Dezember 1958 (Bundesgesetzbl. I S. 950) auch im Land Berlin.

§ 9

Diese Verordnung tritt 6 Monate nach der Verkündung in Kraft.

Bonn, den 24. Mai 1973

Der Bundesminister
für Jugend, Familie und Gesundheit
Katharina Focke

Der Bundesminister
für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten
J. Ertl

Anlage

(zu § 1 Abs. 1 und 2)

**Anforderungen,
denen zur Abgabe an Verbraucher oder zur Herstellung von Erzeugnissen
bestimmte Rohmilch entsprechen muß**

I. Anforderungen an Rohmilch

1. Geruch, Geschmack und Aussehen müssen normal sein.
2. Der pH-Wert darf 6,8 nicht über- und 6,5 nicht unterschreiten.
3. Die Zahl der aeroben Keime (Gesamtkeimzahl) darf 500 000 je ml nicht übersteigen.
4. Salmonellen dürfen nicht nachweisbar sein.
5. Coliforme Keime dürfen in 0,1 ml nicht nachweisbar sein.
6. Streptokokken der serologischen Gruppe B (*Sc. agalactiae*) dürfen in 1 ml nicht nachweisbar sein.
7. Stoffe mit antibiotischer Wirkung (Hemmstoffe) dürfen nicht nachweisbar sein.

II. Nachweisverfahren zur Feststellung der Anforderungen in Ziffer I

Die zu untersuchende Milch wird nach gründlicher Durchmischung unter möglichst keimfreien Bedingungen entnommen und für die bakteriologische Untersuchung nach dem Verfahren in Ziffer III konserviert.

Die für die Nachweisverfahren vorgeschriebenen Nährmedien können auch aus entsprechenden Trockennährböden zubereitet werden.

1. **Sinnenprobe**
Diese Untersuchungen sind durch eine organoleptische Prüfung durchzuführen. Die Prüfung muß von mehreren Personen vorgenommen werden.
2. **Bestimmung des pH-Wertes**
Die Bestimmung des pH-Wertes erfolgt elektrometrisch.
3. **Quantitativer Nachweis aerober Keime (Kochsches Plattenverfahren)**
 - 3.1. **Begriffsbestimmung:**
Unter der Zahl aerober Keime wird die Anzahl der aeroben oder mikro-aerophilen Mikroorganismen verstanden, die auf dem in 3.4 beschriebenen Nährboden innerhalb von 3 Tagen bei 30° C sichtbar zur Koloniebildung gelangen, definiert als Zahl der Keime je ml oder g.
 - 3.2. **Kurzbeschreibung:**
In Petrischalen wird der Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Milch-Agar mit abgestuften Verdünnungen der Probe im Gußplattenverfahren beimpft.
 - 3.3. **Verdünnungsflüssigkeit:**
Als Verdünnungsflüssigkeit wird Ringer-Lösung oder Trypton-Kochsalz-Lösung verwendet.

Zusammensetzung:

Ringer-Lösung		Trypton-Kochsalz-Lösung	
Natriumchlorid	9,0 g	Kasein-Pepton (Trypton)	10,0 g
Kaliumchlorid	0,42 g	Natriumchlorid	5,0 g
Kalziumchlorid	0,24 g	Aqua dest.	ad 1000,0 ml
Natriumhydrogencarbonat	0,20 g	pH	7,5
Aqua dest.	ad 1000,0 ml		

Zur Herstellung der Verdünnungsflüssigkeit aus

Ringer-Lösung fügt man 1 Teil dieser Lösung zu 3 Teilen Aqua dest.,
Trypton-Kochsalz-Lösung werden 10 g Trypton und 5 g Natriumchlorid in 1 000 ml Aqua dest. gelöst.

Vor dem Autoklavieren (15 Minuten bei 121° C) wird die Verdünnungsflüssigkeit so in Flaschen gefüllt, daß diese nach dem Autoklavieren 99 ± 1 ml enthalten.

3.4. Nährmedium: Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Milch-Agar

Zusammensetzung:

Trypton	5,0 g
Hefeextrakt	2,5 g
Glukose	1,0 g
Agar-Agar	15,0 g
Aqua dest.	1 000,0 ml
Magermilch	10,0 ml
pH	$7,0 \pm 0,1$

Trypton, Hefeextrakt, Agar-Agar und Aqua dest. werden 30 Minuten im Dampftopf erhitzt und filtriert. Danach werden 1,0 g Glukose und 10 ml hemmstofffreie entrahmte Milch (Magermilch) zugesetzt und auf einen pH-Wert von $7,0 \pm 0,1$ eingestellt. Anschließend wird der Nährboden 20 Minuten bei 121° C autoklaviert.

3.5. Vorbereitung der Proben:

Die Proben sind vor der Untersuchung im Wasserbad auf eine Temperatur von etwa 20° C anzuwärmen. Diese Temperatur darf höchstens 10 Minuten auf die Proben einwirken. Vor der Untersuchung sind die Proben durch vorsichtiges Schütteln so zu durchmischen, daß ein möglichst homogenes Gemisch entsteht.

3.6. Durchführung:

Zur Herstellung der Verdünnung wird 1 ml der Probe mit einer sterilen Pipette entnommen und in 99 ml sterile Verdünnungsflüssigkeit gegeben. Dabei soll nur die Spitze der Pipette eingetaucht werden. Die Pipetten sind durch mindestens dreimaliges Ansaugen der Verdünnungsflüssigkeit auszuspülen. Die Verdünnungsflasche wird verschlossen und der Inhalt durch gleichmäßiges, kräftiges Auf- und Abwärtsbewegen der Flasche gut durchmischt. Von der Verdünnung werden unter Verwendung einer neuen Pipette 1,0 und 0,1 ml in die bereitgestellten und schon beschrifteten Petrischalen übertragen, wobei der Deckel so wenig wie möglich angehoben werden soll. Beim Einpipettieren der 0,1 ml Menge soll die Pipettenspitze auf den Petrischalenboden aufgesetzt werden. Die gleiche Pipette wird auch für das Anlegen der nächsten Verdünnungsstufe benutzt, indem 1 ml der Verdünnung in eine weitere Verdünnungsflasche pipettiert wird. Dieser Vorgang wird wiederholt, bis die erforderliche Anzahl Verdünnungen hergestellt ist.

Die Verdünnungen sollen so angelegt werden, daß wenigstens eine Verdünnungsstufe eine Koloniezahl zwischen 30 und 300 aufweist.

Die Petrischalen werden möglichst unmittelbar, spätestens innerhalb von 10 Minuten nach dem Pipettieren, mit etwa 10 ml des auf 45° C abgekühlten Nährbodens beschickt. Verdünnungsflüssigkeit und Nährboden werden unmittelbar nach Zugabe des Mediums durch kreisende Bewegung und schwaches Neigen der Schale sorgfältig durchmischt. Nach dem Erstarren des Agars werden die Petrischalen mit der Unterschale nach oben in den auf 30° C vorgewärmten Brutschrank gestellt. Dabei dürfen höchstens 6 Petrischalen übereinander gestapelt werden.

Von jeder Verdünnungsstufe werden zwei Parallelplatten angelegt.

3.7. Bebrütung:

Die Bebrütung erfolgt 72 Stunden bei $30^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$.

3.8. Auswertung:

Ausgezählt werden nur Platten mit Koloniezahlen zwischen 30 und 300. Die Keimzahl je Milliliter ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel der Koloniezahlen der Parallelplatten einer Verdünnungsstufe, multipliziert mit dem Verdünnungsfaktor.

4. Qualitativer Nachweis von Salmonella-Keimen

4.1. Begriffsbestimmung:

Salmonellen sind alle Bakterien der Gattung Salmonella der Familie der Enterobacteriaceae.

4.2. Kurzbeschreibung:

Unverdünnte Milch wird zur Anreicherung in ein Flüssigmedium verbracht, 24 Stunden bei 37° C bebrütet und dann auf einem Selektivnährboden fraktioniert ausgestrichen. Nach Bebrütung bei 37° C für 20 Stunden werden die Platten abgelesen und die verdächtigen Kolonien der serologischen und biochemischen Prüfung unterzogen.

4.3. Nährmedien:

4.3.1. Anreicherungsmedium: Selenit-Bouillon (doppelt konzentriert)

Zusammensetzung:

Pepton (tryptisch verdaut, frei von vergärbaren Kohlenhydraten)	10,0 g
D (+)-Laktose	8,0 g
Natriumbiselenit	8,0 g
Dinatriumphosphat	20,0 g
Aqua dest.	ad 1 000,0 ml
pH	7,1

Unter gleichmäßigem Erhitzen werden die Bestandteile in Aqua dest. gelöst und dann 10 Minuten im Dampftopf erhitzt. Die fertige Lösung muß blaßgelb sein. Rotfärbung kommt durch Überhitzung zustande und zeigt die Unbrauchbarkeit der Lösung an.

4.3.2. Selektivnährmedium: Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Agar

Zusammensetzung:

Grundmedium:

Fleisch-Extrakt	4,0 g
Pepton (tryptisch verdaut)	10,0 g
Kochsalz	3,1 g
sek. Natriumphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1,0 g
prim. Natriumphosphat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,6 g
Agar-Agar	etwa 15,0 g
Aqua dest.	900,0 ml
pH	7,0 $\pm$ 0,1

15 Minuten bei 121° C sterilisieren.

Zucker-Indikator-Gemisch:

Laktose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Phenolrot	0,09 g
(in Natronlauge gelöst)	

auf 100 ml Aqua dest. auffüllen, 15 Minuten Wasserbad bei 70° C; zusammen mit 1,0 ml Brillantgrünlösung (siehe unten) dem auf 55° C abgekühlten Grundmedium hinzufügen. Platten von mindestens 4 mm Schichtdicke ausgießen.

Brillantgrünlösung:

Brillantgrün (Chroma)	0,5 mg
Aqua dest.	100,0 ml

7 Tage bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahren, mehrfach umschütteln, nicht erwärmen!

4.4. Durchführung der Untersuchung:

50 ml der zu untersuchenden Milch werden in die mit 50 ml Anreicherungsmedium gefüllten Kölbchen pipettiert und 48 Stunden bei 37° C bebrütet. Nach 24- und 48stündiger Bebrütung wird die Anreicherungs-bouillon nach gründlichem Durchschütteln mittels Öse fraktioniert auf dem Selektivmedium und gegebenenfalls einem anderen Differenzierungs-nährboden nach eigener Wahl ausgestrichen; die Platten werden 18 bis 24 Stunden bei 37° C bebrütet. Verdächtige Kolonien werden mit staatlich

geprüften polyvalenten oder omnivalenten Salmonella-Antiseren auf ihre Zugehörigkeit zur Salmonella-Gruppe untersucht. Serologische Rauformen sind durch Agglutination in Kaninchen-Normalserum oder physiologischer Kochsalzlösung auszuschließen und biochemisch weiter zu untersuchen.

Die weitere serologische Untersuchung erfolgt mit staatlich geprüften Salmonella-O- und -H-Faktorseren. Ist eine Ausdifferenzierung mittels der verfügbaren Seren nicht möglich, so ist der Bakterienstamm zur abschließenden Differenzierung an die Zentralstelle für veterinärmedizinische Salmonelloseforschung im Robert von Ostertag-Institut des Bundesgesundheitsamtes, 1 Berlin 33, Postfach, unter Beifügung des Formblattes BGA 83 (siehe Anhang A) einzusenden, nachdem zuvor durch die biochemische Prüfung das Vorliegen von Salmonella-Keimen bestätigt worden ist. Salmonella-verdächtige, serologisch rauhe oder nicht ausdifferenzierbare Keime sind nach der Gewinnung von Reinkulturen auf ihr Verhalten in folgenden biochemischen Reaktionen zu prüfen:

Laktose	—	} für Salmonellen typisches Verhalten
Harnstoff	—	
Indol	—	
Lysin-Decarboxylase	+	
Voges-Proskauer-Test bei 22°	—	
bei 37°	—	

Diese Reaktionen ermöglichen bereits eine Abgrenzung der Salmonellen von anderen Enterobacteriaceen. Durch einige zusätzliche Nährböden läßt sich diese Abgrenzung sicherer gestalten und zugleich eine weitgehende Differenzierung anderer Enterobacteriaceen erreichen (siehe Anhang B).

Die Nährböden zur Prüfung der Laktosevergärung und Harnstoffspaltung sowie der Indolbildung entsprechen den Nährböden für die „Bunte Reihe“ der Anlage 1 zu § 20 der Ausführungsbestimmungen A über die Untersuchung und gesundheitspolizeiliche Behandlung der Schlachttiere und des Fleisches bei Schlachtungen im Inland — A.B.A. — Beilage 1 zur Verordnung über die Durchführung des Fleischbeschaugesetzes vom 1. November 1940 (Reichsministerialblatt S. 289), zuletzt geändert durch die Freibankfleisch-Verordnung vom 30. Juli 1970 (Bundesgesetzbl. I S. 1178).

Lysin-Decarboxylase-Test (LDC)

Zusammensetzung des Substrates:

L (+)-Lysin-monochlorid	5,0 g
Hefeextrakt	3,0 g
Glukose	1,0 g
Bromkresolpurpur	0,015 g
Aqua dest.	1 000,0 ml
pH	6,8 ± 0,1

Substrat zu 5 bis 10 ml in Röhrchen abfüllen und 10 Minuten bei 121° C sterilisieren. Röhrchen beimpfen und 1 bis 2 Tage bei 37° C bebrüten. Violette Färbung: positiv; gelbe Färbung: negativ. Für den LDC-Test können Fertignährböden herangezogen werden.

Die Bewertung der LDC-Reaktion wird gelegentlich durch sehr schwache oder zweifelhafte Reaktionen bei Vertretern der Bethesda-Ballerup-Gruppe erschwert. Hierbei hat sich die Nährboden-Modifikation nach Fritsche bewährt, die weniger Hefeextrakt und mehr Lysin enthält.

Zusammensetzung:

sek. Kaliumphosphat	0,5 g
Magnesiumsulfat ($MgSO_4 \cdot 7 H_2O$)	0,5 g
Ammoniumsulfat	1,0 g
Glukose	1,5 g
Hefeextrakt	0,5 g
L (+)-Lysin-monochlorid	20,0 g
Bromkresolpurpur (1‰ig)	4,0 ml
Aqua dest.	ad 1 000,0 ml
pH	6,8

(Farbe des Nährbodens: kräftig violett)

Um Oxydation durch Luftsauerstoff zu vermeiden, wird der in Röhrchen zu 2 bis 3 ml abgefüllte Nährboden mit einer etwa 5 mm starken Schicht von Paraff. liquid. überschichtet. Beimpfte Röhrchen 1 bis 2 Tage bei 37° C bebrüten, weinrote bis blau-violette Färbung: positiv; zitronengelb: negativ. Zur genaueren biochemischen Differenzierung der Salmonellen und anderer Genera der Familie der Enterobacteriaceen können neben den vorgeschriebenen Tests auch andere Untersuchungen durchgeführt werden. Es kann dabei nach dem Differenzierungsschema für Enterobacteriaceen (Anhang B) verfahren werden. Alle angegebenen Nachweise können mit Fertignährböden ausgeführt werden. Eigene Herstellung der Nährböden siehe bei Hallmann, L.: Bakteriologische Nährböden, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1953.

Voges-Proskauer-Reaktion

Zusammensetzung des Substrates:

Pepton (tryptisch verdaut)	5,0 g
Glukose	5,0 g
sek. Kaliumphosphat	5,0 g
Aqua dest.	1 000,0 ml
pH	6,9 ± 0,1

Pepton und sek. Kaliumphosphat in Aqua dest. auflösen, zum Kochen bringen, filtrieren, autoklavieren und Glukose zusetzen. Diese Lösung zu 2 ml in enge Röhrchen (Durchmesser etwa 1 cm) abfüllen und 10 Minuten kochen oder autoklavieren.

2 Röhrchen beimpfen und je eines bei Zimmertemperatur (jedoch möglichst nicht über 22° C) und bei 37° C 2 bis 4 Tage bebrüten.

Reaktion: Den bebrüteten Röhrchen werden jeweils 1 ml 6%ige α -Naphthollösung (in Aethylalkohol) und 0,4 ml 40%ige Kalilauge hinzugefügt. Im positiven Fall tritt sofort oder innerhalb weniger Minuten eine eosinähnliche Färbung auf.

Für die Voges-Proskauer-Schnellreaktion nach der indirekten Methode von Barry und Feenay wird eine volle Öse Kulturmateriale in etwa 0,2 ml 0,3%iger Dextrose-Pepton-Lösung suspendiert und 15 bis 18 Stunden bei Zimmer- oder Brutschranktemperatur bebrütet. Danach werden pro Röhrchen hinzugefügt

- 2 Tropfen 0,5%ige Kreatin-Lösung (Kreatin-monohydrat)
- 3 Tropfen α -Naphthollösung (s. oben)
- 2 Tropfen Kalilauge 40%ig.

Die Reihenfolge der Zusätze ist einzuhalten; nach jedem Zusatz ist zu schütteln. Bei positiver Reaktion tritt innerhalb von 15 Minuten eine rosa bis hellrote Färbung auf.

5. Quantitativer Nachweis coliformer Keime

5.1. Begriffsbestimmung:

Unter coliformen Keimen werden alle Vertreter der Familie der Enterobacteriaceae verstanden, die Laktose bei 30° C innerhalb von einem Tag unter Säurebildung vergären.

5.2. Kurzbeschreibung:

In Petrischalen wird der laktosehaltige Selektivnährboden Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Laktose-Agar (engl. Violet-Red-Bile) mit der Probe oder deren Verdünnungen im Gußplattenverfahren beimpft. Coliforme Keime gelangen auf dem Selektivnährboden zur Entwicklung. Durch ihre Fähigkeit, Laktose unter Säurebildung zu vergären, bewirken sie einen Farbumschlag des im Medium enthaltenen Indikators. Die Zahl der coliformen Keime je ml oder g ergibt sich aus der Zahl der dunkelviolettfärbten Kolonien, multipliziert mit dem Verdünnungsfaktor.

5.3. Nährmedium: Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Laktose-Agar

Zusammensetzung:

Pepton (tryptisch verdaut, aus Fleisch)	7,0 g
Hefeextrakt	3,0 g
Gallensalze	1,5 g
Laktose	10,0 g
Kochsalz	5,0 g

Neutralrot	0,03 g	(30 ml 0,1%ige Lösung in 95%igem Aethyl- alkohol)
Kristallviolett	0,002 g	(2 ml 0,1%ige Lösung in 95%igem Aethylalkohol)
Agar-Agar	15,0 g	
Aqua dest.	ad 1 000,0 ml	
pH	7,4	

Das Nährmedium wird in Nährbodenflaschen abgefüllt und für 10 Minuten im Dampftopf erhitzt. Das Medium soll nicht autoklaviert werden. Ferner soll das Medium nicht ein zweites Mal erhitzt werden. Es ist daher zweckmäßig, nur die jeweils benötigte Menge zuzubereiten.

5.4. Verdünnungsflüssigkeit: Ringer-Lösung

Zusammensetzung: wie in 3.3. beschrieben

Vor Gebrauch fügt man 1 Teil dieser Lösung zu 3 Teilen Aqua dest.

5.5. Durchführung der Untersuchung:

1,0 ml einer Milchverdünnung 1:10 werden gründlich mit dem Nährboden vermischt. Nach dem Erstarren des Agars werden die Platten mit einer dünnen Schicht des Nährbodens überschichtet. Nach Erkalten der Oberschicht werden die Petrischalen mit der Unterschale nach oben in den auf 30° C vorgewärmten Brutschrank gestellt, wobei höchstens 4 Stück übereinander gestapelt werden sollen. Sie werden 18 bis 24 Stunden bei 30° C bebrütet.

Gezählt werden dunkelviolet-rote Kolonien mit einem Durchmesser von 0,5 mm und mehr. Die Zählung der Kolonien erfolgt zweckmäßigerweise mit einer Lupe.

Die Untersuchung ist doppelt durchzuführen.

6. Qualitativer Nachweis von Streptokokken der serologischen Gruppe B (Sc. agalactiae)

6.1. Begriffsbestimmung:

Unter B-Streptokokken sind diejenigen Angehörigen der Gattung Streptococcus zu verstehen, die zur serologischen Gruppe B nach Lancefield gehören.

6.2. Kurzbeschreibung:

Unverdünnte Milch wird auf einem Selektivnährboden ausgestrichen. Nach 20- bis 24stündiger Bebrütung bei 37° C werden die Platten abgelesen und die verdächtigen Kolonien der serologischen oder biochemischen Prüfung unterzogen.

6.3. Nährmedium: Aesculin-Kristallviolett-Thalliumsulfat-Agar (Edward's-Medium)

Zusammensetzung:

Fleischextrakt	10,0 g
Pepton	10,0 g
Aesculin	1,0 g
Kochsalz	5,0 g
Kristallviolett	0,0013 g
Thalliumsulfat	0,33 g
Agar-Agar	15,0 g
Aqua dest.	ad 1 000,0 ml
pH	7,4

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven 20 Minuten bei 115° C. Nach Abkühlen auf 50° C werden 5 bis 7 % steriler roter Blutzellen (Rind oder Schaf) zugegeben. Gegebenenfalls kann außerdem die Zufügung von Staphylokokken- β -Toxin erfolgen. Nach gründlichem Mischen werden die Platten gegossen.

6.4. Durchführung der Untersuchung:

0,1 ml der zu untersuchenden Milch werden auf dem Nährboden ausgestrichen und 20 bis 24 Stunden bei 37° C bebrütet.

Verdächtige Kolonien sind an der Haemolyse und ihrem taubenblauen Schimmer zu erkennen. Eine Identifizierung der B-Streptokokken erfolgt durch CAMP-Phänomen oder serologische Klassifizierung. Auch können biochemische Tests (Spaltung von Hippurat, Aesculin, Rötung und Gerinnung von Lackmusmilch) herangezogen werden.

7. Qualitativer Nachweis von Stoffen mit antibiotischer Wirkung (Hemmstoffe)

7.1. Begriffsbestimmung:

Unter Stoffen mit antibiotischer Wirkung (Hemmstoffe) sind alle Substanzen zu verstehen, die im Brillantschwarz-Reduktionstest oder im Agardiffusionstest keine Reaktion hervorrufen.

7.2. Brillantschwarz-Reduktionstest:

7.2.1. Herstellung des Reaktionsgemisches:

7.2.1.1. Herstellung des Nährmediums:

Nährmedium: Diffusionsagar

Zusammensetzung:

Fleischextrakt	1,5 g
Hefeextrakt	3,0 g
Pepton aus Kasein	4,0 g
Pepton aus Fleisch	6,0 g
Glukose	1,0 g
Agar-Agar	15,6 g
Aqua dest.	ad 1 000,0 ml
pH	6,6

Die Zutaten werden im Aqua dest. kalt gelöst (etwa 1 Stunde). Danach wird das Nährmedium 15 Minuten bei 121° C autoklaviert; Abkühlung vor der Weiterverarbeitung auf 52° C ± 2° C.

7.2.1.2. Vorbereiten der Testkultur:

Testkeim ist *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* Stamm C 953 (standardisiert). Es sind lyophilisierte Testkulturen einer Keimdichte von $15,7 \pm 0,3 \times 10^9/\text{ml}$ zu verwenden.

Das Lyophilisat wird mit 10 ml sterilem Aqua dest. versetzt und unter intensivem Mischen eine homogene Suspension einer Keimdichte von $15,7 \pm 0,3 \times 10^8/\text{ml}$ hergestellt.

7.2.1.3. Zugabe der Testkultur zum Nährmedium:

Die Keimsuspension wird in einem Wasserbad auf 52° C ± 2° C erwärmt, anschließend mit einer sterilen Pipette dem Nährmedium zugegeben und mit diesem intensiv durchmischt. 100 ml Nährmedium sind 10 ml Keimsuspension beizugeben.

7.2.1.4. Zugabe des Indikators zum Nährmedium:

9 mg Brillantschwarz gelöst in 2 ml Glycerin DAB 7 (Lösungsvermittler) und 1 ml einer 0,2%igen Manganchloridlösung (wachstumsfördernder Faktor) werden nach Erwärmen auf 52° C ± 2° C dem Agar-Keimsuspensionsgemisch zugesetzt.

7.2.2. Herstellung des Reaktionssystems:

7.2.2.1. Präparation der Testtablets:

jeweils 0,1 ml des Reaktionsgemisches werden — am zweckmäßigsten unter Verwendung einer 1- oder 2-ml-Cornwall-Automatik-Spritze — in die Kavitäten der Tablets (Mikroplatten aus Kunststoff) pipettiert. Um ein gleichmäßiges Reaktionssystem sicherzustellen, sollten in einem Arbeitsgang nicht mehr als 100 ml des Reaktionsgemisches abgefüllt werden.

7.2.2.2. Verschließen und Lagern der präparierten Tablets:

Zur Aufbewahrung müssen die Tablets unmittelbar nach der Präparation mit einer Klebefolie verschlossen werden. Bei 2° C bis 4° C können sie ohne Beeinträchtigung der Empfindlichkeit mindestens 2 Wochen vorrätig gehalten werden.

7.2.3. Durchführung des Hemmstoffnachweises:

7.2.3.1. Beschicken der Testtablets:

Die Klebefolie muß von den Tablets entfernt und jedes Reaktionssystem mit 0,1 ml der zu prüfenden Milch (z. B. mit Hilfe einer Mikropipette) überschichtet werden. Als positive Kontrolle dient ein Penicillin-Standard mit 0,008 IE/ml, als negative Kontrolle eine hemmstofffreie Milch.

7.2.3.2. Durchführung der Hemmstoffdiffusion:

Die mit Milch beschickten Tablets werden unverschlossen für 1 Stunde zur Diffusion vorhandener Hemmstoffe in den Kühlschrank (2° C bis 4° C) gestellt. Die Milch ist anschließend durch starkes Schwenken aus den Tablets zu entleeren; zurückbleibende Milchreste werden durch mindestens viermaliges Spülen mit sterilem Aqua dest. entfernt, wobei das Spülwasser sorgfältig zu beseitigen ist. Zum Abtropfen werden die Tablets auf Fließpapier gelegt. Die getrocknete Oberfläche ist anschließend wieder mit der Klebefolie zu verschließen.

7.2.3.3. Inkubation des Reaktionssystems:

Die Inkubation erfolgt entweder im Brutschrank bei gesättigter Wasserdampf-atmosphäre und einer Temperatur von 68° C bis 70° C für etwa 2 Stunden oder für die gleiche Zeit im Wasserbad bei einer Temperatur von 60° C. Bei der Wasserbad-Inkubation müssen die Tablets so in ein Stativ eingespannt werden, daß ihre Unterseite nur 2 bis 3 mm tief in das Wasser eintaucht.

7.2.3.4. Beurteilung der Reaktion:

Die Reaktionen werden an der Tablettunterseite abgelesen. Hemmstofffreie Milchproben sind leicht am Farbumschlag des Redoxindikators von blau (Oxydationsstufe) nach gelb (Reduktionsstufe) zu erkennen. Alle blaugefärbten Reaktionssysteme mit mindestens der Farbintensität des Penicillin-Standards sind als positiv zu bewerten.

7.2.4. Spezifischer Nachweis von Penicillin:

Unmittelbar vor dem Beschicken mit 0,1 ml der zu prüfenden Milch werden in jedes Reaktionssystem 80 Levi-Einheiten Penicillinase pipetiert. Nach dem allgemeinen Brillantschwarz-Reduktionstest hemmstoffpositive Milchproben werden im penicillinasehaltigen Reaktionssystem hemmstoffnegativ, wenn die zuvor positive Reaktion durch Penicillin verursacht worden ist. Durch die angegebene Penicillinase-menge werden 1 000 IE Penicillin sicher inaktiviert.

7.2.5. Sicherheit des Brillantschwarz-Reduktionstestes:

Die minimale Hemmkonzentration beträgt bei

Penicillin-G-Kalium	0,007	—	0,008 IE/ml
Streptomycin (Base)	10,0		Gamma/ml
Chlortetracyclin	0,7		Gamma/ml

7.3. Agardiffusionstest:

7.3.1. Kurzbeschreibung:

Testplättchen oder Arme eines Teststernes, die mit der zu untersuchenden Milchprobe beschickt sind, werden auf eine mit einer Sporenemulsion des Testkeimes präparierten Agarplatte gelegt und nach einer definierten Bebrütungszeit die Hemmzonen abgelesen.

7.3.2. Nährmedium:

Zusammensetzung:

Proteosepepton	15,6	g
Hefeextrakt	2,8	g
Natriumchlorid	3,0	g
Dextrose	1,0	g
Stärke, löslich	4,0	g
Gelatine	4,0	g
Bromkresolpurpur	0,016	g
Agar-Agar	15,0	g
Aqua dest.	ad 1 000,0	ml
pH	7,0	

7.3.3. Zubereitung:

Zu 250 ml der obigen Lösung wird eine Ampulle der auf eine definierte Dichte eingestellten Sporenemulsion (Merck, Darmstadt) zugesetzt.

Die Sterilisation erfolgt bei 110° C für 15 Minuten. Nach Abkühlen auf etwa 50° C erfolgt das Ausgießen in Petrischalen in Mengen von 15 ml.

Die mit einem Klebeband verschlossenen Schalen lassen sich über Monate im Kühlschrank aufbewahren.

7.3.4. Durchführung der Untersuchung:

Testplättchen oder Arme eines Teststernes, die mit der zu untersuchenden Milch getränkt sind, werden auf die Nährbodenoberfläche ausgelegt und angedrückt. Die Platten werden bei 65° C für 180 Minuten bebrütet.

7.3.5. Beurteilung:

Nach der Inkubation werden die Hemmhöfe und Farbumschlagzonen beurteilt. Zur Bewertung können Plättchen mit definierten Antibiotikabeladungen unter denselben Bedingungen bebrütet und zur vergleichenden Beurteilung herangezogen werden.

III. Konservierung von Milchproben zur bakteriologischen Untersuchung

1. Begriffsbestimmung:

Unter Konservierung ist die Behandlung der Milchproben nach dem unter Nummer 2 bis 4 beschriebenen Verfahren zur Erhaltung des bakteriologischen Zustandes der Milch im Zeitpunkt der Probeentnahme für die Dauer von mindestens 24 Stunden in einem Temperaturbereich von 5° C bis 20° C und von weiteren 24 Stunden bei Kühlschranktemperatur (etwa 6° C) zu verstehen.

2. Kurzbeschreibung:

Die unter möglichst keimfreien Bedingungen entnommenen Milchproben werden mit einem gefriergetrockneten Konservierungsmittel, das die Eigenschaft der Instantlöslichkeit besitzt, vermischt.

3. Konservierungsmittel:

3.1. Wirkstofflösung:

3.1.1. Zusammensetzung:

Ortho-Borsäure (DAB 7) fein gepulvert	50,0 g
Kaliumsorbit	0,75 g
Glyzerin (DAB 7)	
doppelt destilliert, wasserfrei	10,0 g
Methylenblau (DAB 7)	
1%ige Lösung	0,5 ml
Aqua dest.	ad 1 000,0 ml

3.1.2. Herstellung:

Borsäure, Kaliumsorbit, Glyzerin und Methylenblau werden unter ständigem Rühren in Aqua dest. vollständig gelöst. Während des Rührens ist die Wirkstofflösung auf etwa 40° C bis 50° C zu erwärmen. Die fertige Wirkstofflösung wird mit einem Filter mittlerer Porenweite (etwa 1 µ) partikel-frei filtriert.

3.2. Abfüllen der Wirkstofflösung und Gefriertrocknung:

Für die Konservierung von 10 ml Milch sind 1,18 ml der Wirkstofflösung erforderlich. Die Wirkstofflösung wird in der für das beabsichtigte Proben-volumen notwendigen Menge in sterile Probenröhrchen abgefüllt. Anschließend werden die beschickten Röhrchen bis zur Trocknung tiefgefroren. Nach Beendigung der Gefriertrocknung erfolgt Flutung der Gefrier-Trocknungsanlage mit Stickstoff. Nach Entnahme aus der Gefrier-Trocknungsanlage müssen die Röhrchen unverzüglich luftdicht verschlossen werden. Die Haltbarkeit einwandfrei gefriergetrockneter Probenröhrchen ist praktisch unbegrenzt.

4. Durchführung der Konservierung:
Die Zugabe der Rohmilchproben zum gefriergetrockneten Konservierungsmittel muß mit einer Genauigkeit von $\pm 10\%$ erfolgen. Konservierungsmittel und Milchprobe sind gründlich zu durchmischen.
5. Sicherheit:
In der Varianzanalyse liegt der auf die Konservierung zurückzuführende Streuungsanteil an der Gesamtvarianz der Keimzahlergebnisse nach 24stündiger Aufbewahrung der Proben bei 5°C bis 20°C und weiterer 24stündiger Aufbewahrung bei 6°C einschließlich eventueller Zähl- und Entnahmefehler bei 4,7 bzw. 5,5 %.
Ein kurzzeitiges Über- oder Unterschreiten der angegebenen Temperaturbereiche ist ohne Belang.
Durch die Konservierung werden der Nachweis von Stoffen mit antibiotischer Wirkung nach den Verfahren Abschnitt II Nummer 7 sowie die elektronische Zählung somatischer Zellen nicht beeinträchtigt.

Anhang A
(Vorderseite)

Zentralstelle für vet.-med. Salmonelloseforschung
im Institut für Veterinärmedizin (Robert von Ostertag-Institut)
des Bundesgesundheitsamtes Berlin

Az.: F

┌ Bundesgesundheitsamt, 1 Berlin 33, Postfach ┐

An

Berlin, den
Fernsprecher (Durchwahl):
(03 11) 8 30 86 81 und 8 30 82 76

└ (vollständige Anschrift des Einsenders einsetzen!) ┘

Betr.: Mitteilung bzw. Einsendung von Salmonella-Isolierungen

Bezug: Ihr Schreiben (und) Ihre Einsendung vom

Az.:

Wir danken Ihnen für die Mitteilung bzw. Übersendung der umstehend aufgeführten Salmonella-Isolierungen. Die hier gestellten Diagnosen sind in Spalte 2 eingetragen.

Im Auftrag

Bemerkungen der Zentralstelle für vet.-med. Salmonellose-Forschung: (bitte offen lassen!)

Vermerke des Einsenders (Fortsetzung von Rückseite):

Einsendung ¹⁾ — Mitteilung ¹⁾ von Salmonella ²⁾-Isolierungen
an die Zentralstelle für vet.-med. Salmonellose-Forschung im Bundesgesundheitsamt
1 Berlin 33, Postfach

Einsender (Stempel)

abgesandt am in Berlin eingegangen am

Az. des Einsenders

Spalte 2 bitte stets offen lassen!							
Tgb.-Nr. des Einsenders	Diagnose des Bundesgesundheitsamtes	Diagnose des Einsenders	Datum der Isolierung	Herkunft des Isolierungsmaterials ³⁾	isoliert aus: ⁴⁾ Art der Untersuchung (BU; DiU)	bei BU: Vorbericht und path.-anat. Befund ⁵⁾	Bemerkungen ⁶⁾ (ggfs. Rückseite benutzen!)
1	2	3	4	5	6	7	8

Hinweise zur Benutzung des Einsendeformulars:

- 1) Nichtzutreffendes bitte streichen!
- 2) bei Benutzung für Nicht-Salmonellen: bitte stets getrennte Formulare mit entsprechendem Vermerk verwenden!
- 3) Orts- und Kreisangabe erforderlich!

- 4) Tierart, Lebens- oder Futtermittel; BU = bakteriologische Fleischuntersuchung; DiU = diagnostische Untersuchung.
- 5) ggfs. Spalte 8 mitbenutzen!
- 6) z. B. Lebensmittelvergiftungen (mit Zahl der erkrankten Personen!); Enteritisbestand usw.

BGA 83/III

Anhang B

Die biochemische Differenzierung der Enterobacteriaceae

Nährboden/Test	Salmonella	Arizona	Citrobacter und Bethesda-Ballerup	Shigella	Edwardsiella	Escherichia	Klebsiella	Enterobacter	Hafnia		Serratia	Proteus				Providencia
									37°	22°		vulgaris	mirabilis	morganii	rettgeri	
Laktose	—	+ / X	+ / X	— / X	— *	+ *	+	+	— / X		— / X	—	—	—	—	—
Harnstoff	—	—	— / X	—	—	—	X	X	—		—	+	+	+	+	—
Indol	—	—	— / X	d	+	+	—	—	—		—	+	—	+	+	+
LDC	+	+	—	—	+	+	(+)	d	+		(+)	—	—	—	—	—
Voges-Prosk.	—	—	—	—	—	—	+	+	d	+	+	—	d	—	—	—
Methylrot	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+
Ammon.-Citrat	+	+	+	—	—	—	+	+	d	+	+	d	d	—	+	+
Malonat	d	+	—	—	—	—	(+)	d	d		—	—	—	—	—	—
Dulzit	(+)	—	d	d	—	d	d	d	—		—	—	—	—	—	—
Beweglichkeit	(+)	+	+	—	+	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+

+ positiv nach 1—2 Tagen

— negativ

X spät und unregelmäßig positiv oder negativ

(+) überwiegend positiv

d differente biochemische Typen

* Edwardsiella bildet — im Gegensatz zu laktose-negativen Varianten von E.coli — regelmäßig H₂S.

Herausgeber: Der Bundesminister der Justiz

Verlag: Bundesanzeiger Verlagsges.m.b.H. — Druck: Bundesdruckerei Bonn

Im Bundesgesetzblatt Teil I werden Gesetze, Verordnungen, Anordnungen und damit im Zusammenhang stehende Bekanntmachungen veröffentlicht.

Im Bundesgesetzblatt Teil II werden völkerrechtliche Vereinbarungen, Verträge mit der DDR und die dazu gehörenden Rechtsvorschriften und Bekanntmachungen sowie Zolltarifverordnungen veröffentlicht.

Bezugsbedingungen: Laufender Bezug nur im Postabonnement. Abbestellungen müssen bis spätestens 30. 4. bzw. 31. 10. jeden Jahres beim Verlag vorliegen. Postanschrift für Abonnementsbestellungen sowie Bestellungen bereits erschienener Ausgaben: Bundesgesetzblatt, 53 Bonn 1, Postfach 624, Tel. (0 22 21) 22 40 86 bis 88.

Bezugspreis: Für Teil I und Teil II halbjährlich je 31,— DM. Einzelstücke je angefangene 16 Seiten 0,85 DM. Dieser Preis gilt auch für Bundesgesetzblätter, die vor dem 1. Juli 1972 ausgegeben worden sind. Lieferung gegen Voreinsendung des Betrages auf das Postscheckkonto Bundesgesetzblatt Köln 3 99-509 oder gegen Vorausrechnung bzw. Nachnahme.

Preis dieser Ausgabe: 0,85 DM zuzüglich Versandgebühr 0,20 DM; bei Lieferung gegen Vorausrechnung zuzüglich Portokosten für die Vorausrechnung. Im Bezugspreis ist die Mehrwertsteuer enthalten; der angewandte Steuersatz beträgt 5,5%.