



Ohne Klassifizierung

Vorgehen beim präanalytischen Teil von mikrobiologischen Untersuchungen im Bereich der Lebensmittelproduktion

Dokument Nr. 333.dw

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	3
1 Einleitung	4
2 Probenahme	4
2.1 Probenahmepläne	4
2.1.1 Rechtliche Aspekte	4
2.1.2 Technische Aspekte	4
2.1.2.1 Allgemeines	4
2.1.2.2 Klassenpläne	5
2.1.2.3 Kenngrößen der Klassenpläne [7]	5
2.1.2.4 Festlegen eines Probenahmeplans	5
2.1.2.5 Beispiele für Probenahmepläne	6
2.1.2.6 Abweichen von Probenahmeplänen	6
2.2 Geräte und Hilfsmittel	7
2.3 Probenahmetechnik	7
2.3.1 Zielsetzung der Bemusterung	7
2.3.2 Einzelne Probenahmetechniken	7
2.3.3 Probenahmemengen	8
2.3.4 Probenstabilisierung	8
2.3.5 Kennzeichnung und Probenahme-Rapport	8
3 Transport, Versand, Empfang und Lagerung von Proben	8
3.1 Rechtliche Aspekte	9
3.2 Bestehende technische Leitlinien	9
3.3 Probentransport	9
3.3.1 Allgemeine Anforderungen	9
3.3.2 Anforderungen an die Ausrüstung von Fahrzeugen zum Probetransport	9
3.4 Probenversand	9
3.5 Probeneingang und erste Beurteilung	10
3.6 Probenlagerung	10
4 Vorbereitung zur Analyse	11
4.1 Probensplitting	11
4.2 Entnahme der Untersuchungsprobe	11
4.3 Herstellung der Ausgangssuspension	11
5 Literatur	12
6 Änderungen in der aktuellen Ausgabe	13

Vorwort

Das Dokument wurde von Mitgliedern einer Expertinnen- und Expertengruppe des Bundes, des kantonalen Vollzugs und der Privatwirtschaft unter der Leitung der SAS erstmals erarbeitet und im Organ Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene (Mitt. Lebensm. Hyg. 97, 2006) in ursprünglicher Version veröffentlicht.

Der Geltungsbereich des Dokuments umfasst den präanalytischen Teil, der bei Proben aus den Bereichen Lebensmittel, Gebrauchsgegenstände, Futtermittel und Umgebungsproben angewendet wird. Ferner deckt er die Vorbereitung von Proben, die aus der Produktion stammen, ab und regelt den Umgang mit Proben aus den Bereichen Lebensmittel und Umgebungsproben aus der Primärproduktion sowie mit Faeces tierischen Ursprungs.

Voraussetzung und nicht Bestandteil dieses Dokuments ist eine vorgängige Schulung der für die Probenerhebung eingesetzten Person. Ferner muss sie die Abläufe sowie die kritischen Punkte ihrer Tätigkeit kennen.

Gewisse Hinweise zu präanalytischen Fragen werden in einem Leitfaden der EU vermittelt [1]. Die Richtlinie gibt zu dieser Thematik ebenfalls Überblick und berücksichtigt zusätzlich Aspekte nationaler Prägung.

Das Dokument richtet sich vor allem an Leitende Begutachterinnen und Leitende Begutachter sowie Fachexpertinnen und Fachexperten der Schweizerischen Akkreditierungsstelle SAS als Hilfe bei der Begutachtung von Laboratorien und an die betroffenen Laboratorien bei der Umsetzung der Vorgaben in der Präanalytik.

«Prüfung» und «Untersuchung» sind im Text als gleichwertig zu betrachten.

Die «Muss»-Vorgaben, welche z. B. gesetzlich gefordert sind oder sich direkt oder indirekt aus der internationalen Norm ISO/IEC 17025 ableiten, sind entsprechend formuliert (muss, soll, sind/ist zu etc.). Der Begriff «sollte» wird in diesem Dokument verwendet, um auf anerkannte Mittel zur Erfüllung von Anforderungen hinzuweisen.

Autoren (in alphabetischer Reihenfolge):

A. Baumgartner¹, T. Bischofsberger², M. Dalla Torre³, H. Emch⁴, J.-L. Gafner⁵, J. Hummerjohann⁵, R. Meyer⁶, Ch. Müller⁷, P. Scheffeldt⁴, U. Spahr¹, R. Stephan⁸, U. Wäspi⁹

¹Bundesamt für Gesundheit, 3003 Bern

²UFAG Laboratorien AG, 6310 Sursee

³Sälirain 32, 4500 Solothurn

⁴Schweizerische Akkreditierungsstelle SAS, 3003 Bern

⁵Agroscope Liebefeld-Posieux, 1725 Posieux

⁶NESTEC SA., 1350 Orbe

⁷Amt für Verbraucherschutz, 5000 Aarau

⁸Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, 8057 Zürich

⁹COOP Zentrallabor, 4133 Pratteln

Revision 02 durch:

C. Fricker-Feer, HOCHDORF Swiss Nutrition Ltd., 6281 Hochdorf

J. Hummerjohann, Agroscope Liebefeld, 3003 Bern

R. Meyer, Nestlé Research Konolfingen, 3510 Konolfingen

Ch. Müller, Amt für Verbraucherschutz, 5000 Aarau

S. Losio, Dienststelle Lebensmittelkontrolle und Verbraucherschutz, 6002 Luzern

B. Plaschy, Schweizerische Akkreditierungsstelle SAS, 3003 Bern

1 Einleitung

Die Validierung und die Abschätzung der Messunsicherheit mikrobiologischer Prüfungen wurden in den letzten Jahren stark vorangetrieben. In diesem Kontext entstand im Jahre 2005 ein entsprechender Leitfaden im Bereich Lebensmittel- und Umweltmikrobiologie (SAS Dokument 328), allerdings ohne Berücksichtigung des präanalytischen Teils.

Das Angebot an Eignungsprüfungen (Proficiency Testings, Laborvergleiche) und der Einsatz von Referenzmaterialien führen zu einer vertrauenswürdigen, rückführbaren Prüfung. Trotzdem sind immer wieder grosse Unterschiede zwischen den Resultaten verschiedener Laboratorien oder Abweichungen von Sollwerten von Referenzmaterialien festzustellen.

Ein Schwachpunkt bildet der präanalytische Teil. Die grösste und meist unterschätzte Fehlerquelle ist dabei der Prozess der Probenahme. Die oft sehr komplexen Vorgänge der Probenahme vor Ort bis zur Entnahme des Untersuchungsgutes im Laboratorium werden nicht ausreichend bekannt gegeben, oder es fehlen die nötigen Kenntnisse der Faktoren und deren Einfluss auf die Probe und die zu untersuchenden Merkmale. Es ist unabdingbar, dass die Proben, welche zur Untersuchung gelangen, so erhoben, transportiert und zur Prüfung vorbereitet wurden, dass sie nach wie vor repräsentativ für die Gesamtheit des zu untersuchenden Materials (für das zugrundeliegende Warenlos) sind.

Die Art der Probenahme, insbesondere die Probenmenge, ist wesentlich beeinflusst durch die Ziele der Untersuchung. Je nach Ziel der Untersuchung können unterschiedliche Vorgehensweisen resultieren.

Der präanalytische Teil der mikrobiologischen Untersuchung kann in folgende 3 Schritte unterteilt werden:

- Probenahme;
- Transport und Lagerung;
- Vorbereitung zur mikrobiologischen Untersuchung.

2 Probenahme

Grundsätzlich ist so vorzugehen, dass die Proben bezüglich ihres mikrobiellen Status möglichst unverändert bleiben.

2.1 Probenahmepläne

2.1.1 Rechtliche Aspekte

Die Vorschriften zu Probenahme für Lebensmittelbetriebe befinden sich unter anderem in der Lebensmittel- und Gebrauchsgegenständeverordnung [2] im *4. Kapitel: Selbstkontrolle, 5. Abschnitt: Probenahmen und Analyse* sowie im *5. Kapitel: Ein-, Durch- und Ausfuhr von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen, 2. Abschnitt: Bei der Einfuhr verstärkt zu kontrollierende Lebensmittel*.

Im Rahmen der Selbstkontrolle hat die verantwortliche Person eines Lebensmittelbetriebs die Anforderungen der Hygieneverordnung [3] im *7. Kapitel Besondere Bestimmungen für die mikrobiologische Untersuchung und die Probenahme* zu erfüllen.

Vorschriften zu Probenahme befinden sich in den spezifischen Verordnungen. Für die Vollzugsbehörde gelten vor allem die Vorschriften der Vollzugsverordnung [4].

2.1.2 Technische Aspekte

2.1.2.1 Allgemeines

Die mikrobiologische Untersuchung in den Bereichen Lebensmittel, Gebrauchsgegenstände, Futtermittel und Umgebungsproben nimmt einen wichtigen Platz ein, sei es beispielsweise bei

der Prüfung der Qualität von Rohstoffen, bei der Kontrolle der Prozesshygiene oder bei der Kontrolle und Freigabe von Endprodukten (Verifikation).

Die Aussagekraft einer Untersuchung in Bezug auf ein Warenlos hängt von der Anzahl untersuchter Proben ab. Je mehr Proben pro Einheit geprüft werden, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein allfällig vorhandener unerwünschter Keim entdeckt wird. Wie viele Proben sinnvollerweise analysiert werden sollen, hängt z. B. vom Umfang eines zu erprobenden Warenloses, seiner Homogenität und der Häufigkeit der nachzuweisenden Parameter ab. Wegweisend auf diesem Gebiet sind die Arbeiten und Empfehlungen der "International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)" [5]. Häufig herangezogen wird auch die Norm ISO 2859 [6].

Manchmal ist es üblich, dass Proben gebündelt («gepoolt») werden. Beispielsweise werden für die bakteriologische Untersuchung von Schlachttierkörpern, die an den verschiedenen Stellen des Schlachtkörpers entnommenen Proben entsprechend «gepoolt» und einer einzigen mikrobiologischen Untersuchung unterzogen [3, 8, 19].

2.1.2.2 Klassenpläne

2.1.2.2.1 2-Klassenplan

Im 2-Klassenplan kommen meistens Anwesenheits-/Abwesenheitstest in einer bestimmten Menge des Untersuchungsguts zur Anwendung. Sie werden bei Untersuchungen auf pathogene Erreger, wie z. B. Salmonellen, eingesetzt.

2.1.2.2.2 3-Klassenplan

Bei 3-Klassenplänen gelangen zusätzlich auch quantitative Methoden zum Einsatz, wobei eine erlaubte und eine höchstzulässige Anzahl Keime pro Mengeneinheit zugrunde gelegt wird. Dabei darf nur eine bestimmte Anzahl Proben die höchstzulässige Anzahl Keime erreichen, nicht aber überschreiten. Sie dienen insbesondere zur Beurteilung der Prozesshygiene.

2.1.2.3 Kenngrössen der Klassenpläne [7]

k: Klasse

n: Zahl der zu bemusternden und zu untersuchenden Proben pro Warenlos, oder gemäss Hygieneverordnung [3] die Anzahl Probeeinheiten der Stichprobe

m: Grenzwert: erlaubte Anzahl Keime pro Gramm oder Milliliter

M: Grenzwert: höchstzulässige Anzahl Keime pro Gramm oder Milliliter

c: 2-Klassenplan (m=M): höchste Zahl an Proben, bei denen "m" überschritten sein darf

3-Klassenplan: Anzahl der Probeeinheiten, deren Werte zwischen m und M liegen

Bei Lebensmittelsicherheitskriterien gilt in der Regel $m=M$, dieser Grenzwert darf nicht überschritten werden und gilt für im Handel sich befindliche Produkte.

Bei Prozesshygienekriterien gilt meistens $m \neq M$ und $c \neq 0$. [3] zu treffen. Diese Parameter gelten für Produkte am Ende des Herstellungsprozesses.

Bei Überschreitungen von Lebensmittelsicherheitskriterien und Prozesshygienekriterien sind Massnahmen gemäss HyV Art. 71 zu treffen.

2.1.2.4 Festlegen eines Probenahmeplans

Der Festlegung eines Probenahmeplans gehen mikrobiologische, epidemiologische, medizinische und statistische Überlegungen voraus. So wird beispielsweise berücksichtigt, welche Gefährdung von einem zu kontrollierenden Lebensmittel ausgeht und wie sich die Zielgruppe

der Konsumenten zusammensetzt. Ein zu beachtender Faktor ist auch die Gefährlichkeit eines auszuschliessenden Mikroorganismus. Je nach Risikostufe sollten 5, 10, 15, 20, 30 oder 60 Paralleluntersuchungen durchgeführt werden.

Auf weiterführende Erläuterungen zu diesem Punkt wird an dieser Stelle verzichtet und auf die umfangreiche Spezialliteratur verwiesen, insbesondere auf ein entsprechendes Standardwerk der ICMSF [5].

2.1.2.5 Beispiele für Probenahmepläne

Die nachfolgenden Pläne entsprechen den Anforderungen der Hygieneverordnung [3]. Gemäss Art. 67 HyV sind mindestens die in Anhang 1 HyV aufgeführten Probenahmepläne einzuhalten, wenn Untersuchungen speziell zur Bewertung der Akzeptabilität einer Lebensmittelpartie oder eines bestimmten Prozesses durchgeführt werden.

2.1.2.5.1 Genussfertige Lebensmittel, welche die Vermehrung von *Listeria monocytogenes* begünstigen (Lebensmittelsicherheitskriterium, HyV, Anhang 1 Teil 1 Ziffer 1.2)

$n = 5 / c = 0 / m = M = 100$ KBE (koloniebildende Einheit) pro Gramm (gilt für in Verkehr gebrachte Erzeugnisse sofern die verantwortliche Person zur Zufriedenheit der zuständigen Vollzugsbehörde nachweisen kann, dass das Erzeugnis während der gesamten Haltbarkeitsdauer den Wert von 100 KBE/g nicht übersteigt);

$m = M = nn$ (nicht nachweisbar) / 25g (gilt für denjenigen Zeitpunkt, bevor das Lebensmittel die unmittelbare Kontrolle des Herstellbetriebes verlassen hat).

Bei entsprechenden Untersuchungen sind pro Warenlos 5 Proben zu berücksichtigen. Weil nur "M" festgesetzt wurde und "c" Null (0) ist, darf keine dieser Proben grössere Werte als 100 KBE *L. monocytogenes* pro Gramm aufweisen.

Bei diesem Beispiel handelt es sich um einen 2-Klassenplan ($k=2$) mit quantitativem resp. qualitativem Nachweisverfahren (je nach Zeitpunkt der Untersuchung).

2.1.2.5.2 *Cronobacter* spp. in Kindernährmitteln (Lebensmittelsicherheitskriterium, HyV, Anhang 1 Teil 1 Ziffer 1.24)

$n = 30 / c = 0 / m = M =$ nicht nachweisbar in 10 Gramm;

Bei entsprechenden Untersuchungen sind pro Warenlos 30 Proben zu berücksichtigen. Weil nur "M" festgesetzt wurde und "c" Null (0) ist, darf in keiner der 30 Proben *Cronobacter* spp. nachweisbar sein. In diesem Fall handelt es sich um einen 2-Klassenplan ($k=2$), kombiniert mit einem Anwesenheits-/Abwesenheitstest. Die hohe Probenzahl von 30 ("n") hängt damit zusammen, dass hochempfindliche Individuen wie beispielsweise Säuglinge geschützt werden sollen.

2.1.2.5.3 Koagulasepositive Staphylokokken in Rohmilchkäsen (Prozesshygienekriterium, HyV, Anhang 1 Teil 2 Ziffer 2.2.3)

$n = 5 / c = 2 / m = 10'000$ KBE pro Gramm / $M = 100'000$ KBE pro Gramm;

Bei entsprechenden Untersuchungen sind pro Warenlos 5 Proben zu berücksichtigen. Zwei davon dürfen 10'000 KBE pro Gramm ("m") überschreiten, keine jedoch 100'000 KBE pro Gramm ("M"). Hier handelt es sich um einen 3-Klassenplan ($k=3$) mit einem quantitativen Testverfahren. Bei $>10^5$ KBE/g muss die Partie auf *Staphylococcus* Enterotoxin geprüft werden.

2.1.2.6 Abweichen von Probenahmeplänen

Untersuchungen nach Probenahmeplänen können sich sehr aufwendig gestalten, vor allem wenn die Anzahl zu untersuchender Proben hoch ist. Die Anzahl der Proben ist bei gesetzlich geregelten Probenahmeplänen meistens eine Mindestvorgabe. Mögliche Abweichungen

zu Probnahmeplänen und Häufigkeit der Untersuchungen sind in der Hygieneverordnung (Art. 67 und 68) aufgeführt.

2.2 Geräte und Hilfsmittel

Geräte und Hilfsmittel werden eingesetzt, um eine korrekte Probenahme zu ermöglichen oder zu erleichtern. Entnahmegeräte wie Löffel, Schöpfkellen, Sonden, Stecher, Bohrer, Pipetten, Messer, Scheren, Pinzetten, Schaber, Rührer usw. müssen sauber, steril und trocken sein. Sie sind in steriler, keimdichter Verpackung mitzuführen (beispielsweise in [8], [9], [10], [11], [12]). Tupfer, Wattestäbchen und Ähnliches können, falls notwendig, mit definierter Menge steriler Flüssigkeit angefeuchtet werden.

Probenbehälter aus Glas, Kunststoff oder Metall müssen steril und frei von Substanzen sein, welche einen hemmenden Einfluss auf den Analyten haben oder zu ungewollter Verdünnung führen können. Sie müssen derart verschlossen werden können, dass keine Kontaminationen und Verlust von Probenmaterial auftreten.

2.3 Probenahmetechnik

Der mikrobielle Status eines Lebensmittels ändert sich bei Herstellung, Lagerung, Verpackung, Transport und Abgabe an den Konsumenten. Proben sind derart zu erheben und gegebenenfalls aufzubewahren, dass der mikrobielle Status nicht verfälscht werden kann (siehe dazu beispielsweise die Literatur [12], [13], [14], [15]).

Aus diesem wichtigen Grundsatz folgen die einzelnen Empfehlungen zur Probenahmetechnik, die in diesem Kapitel beschrieben sind.

2.3.1 Zielsetzung der Bemusterung

Die Auswahl des Probenmaterials und des Zeitpunktes der Bemusterung ist wesentlich von der Zielsetzung der Untersuchung abhängig. Es ist abzuklären, ob es um:

- die amtliche Lebensmittelkontrolle,
- die privatwirtschaftliche Betriebsüberwachung im Rahmen der Selbstkontrolle,
- eine Überwachung von Vorgängen (Monitoring) oder
- die Aufklärung von Erkrankungsfällen geht.

Daraus können unterschiedliche Pläne für die Probenahme folgen (siehe Kap. 2.1).

2.3.2 Einzelne Probenahmetechniken

In der Regel ist eine aseptische Probenahme vorzusehen. Bei einer zum direkten Verkauf bestimmten Ware kann es aber notwendig sein, betriebseigene Instrumente zu verwenden wie Glacéportionierer, wenn man wissen will, wie der Konsument das Lebensmittel tatsächlich erhält.

An dieser Stelle kann in diesem Dokument nicht auf sämtliche Techniken und Verfahren für die Probenahme eingegangen werden. Neben einschlägiger Fachliteratur (beispielweise in [16]) wird die Konsultation internationaler Normen empfohlen wie der ISO 17604:2015 [8], ISO 18593:2018 [17] und ISO 707 (IDF 50) [15]. In diesen Normen sind Instrumente zur Probenahme- und ihre Verwendung wie beispielsweise Käsebohrer, destruktive und nichtdestruktive Verfahren zur Probenahme sowie die Auswahl der Stellen, wo genau die Probe oder der Probenteil erhoben wurde (z. B. an einem Schlachtkörper, [19]) beschrieben.

Wichtige Grundprinzipien bei der Probenahme sind:

- Die mikrobiologische Probenahme erfolgt stets vor derjenigen für chemische oder andere Prüfungen.
- Bei aseptischer Probenahme sind Kontaminationen durch defekte Packungen, durch unsachgemässes Öffnen von Behältnissen, durch unsachgemässen Einsatz von Werkzeugen oder den Einsatz von kontaminierten Werkzeugen für die Probenahme und durch

kontaminierte Probenbehälter sowie durch die Hände oder durch eine aerogene Übertragung ausgehende Kontamination zu vermeiden.

- Während der Probenahme darf die vorhandene Anzahl Keime auch nicht verringert werden, z. B. durch unvollständiges verdunsten lassen des Ethanols oder unvollständiges erkalten lassen des Werkzeug zur Probenahme nach dem Abflammen.
- Bei invasiven Methoden kann es je nach Fragestellung nötig sein, vor der eigentlichen Probenahme die Oberflächenschicht aseptisch zu entfernen.

2.3.3 Probenahmemengen

Die Probenmenge richtet sich nach dem Untersuchungsziel, sie sollte aber in der Regel mindestens 100 g betragen. Die Menge einer Oberflächenprobe (z. B. Käserinde) kann geringer als 100 g sein [15]. In allen Fällen ist aber ein besonderes Augenmerk auf die Homogenität der Probe zu richten und entsprechend zu bemustern. Vorverpackte Ware sollte möglichst in Originalverpackung erhoben werden, aus loser Ware sollte eine Mischprobe aus mehreren Portionen von jeweils 10 bis 50 g hergestellt werden.

Bei nichtdestruktiven Verfahren sollte in der Regel eine Probefläche von mindestens 100 cm² abgedeckt werden.

Inhomogene Proben sollten, wenn möglich, als Ganzes erhoben werden (z. B. Cremeschnitte).

2.3.4 Probenstabilisierung

Proben sind derart zu erheben und aufzubewahren, dass der mikrobielle Status nicht verfälscht werden kann.

In der Regel dürfen Proben für mikrobiologische Untersuchungszwecke keine Konservierungsstoffe zugesetzt werden. Werden diese trotzdem eingesetzt (z. B. vom Laboratorium verlangt), so muss sichergestellt sein, dass ihre Eigenschaften die nachfolgende Analyse nicht stören. Einsatz und Menge des Konservierungsstoffs sind im Probenahme-Rapport zu notieren.

So sind z. B. bei Trinkwasser allfällige hemmende (inhibitorische) Mengen Chlor durch einen Zusatz von Natriumthiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) zu inaktivieren. Zu diesem Zweck wird den Probeflächen vor dem Sterilisieren Natriumthiosulfatlösung zugesetzt [11]. Das Einfrieren von Probenmaterial bis zur Analyse ist nur dann zulässig, wenn durch vorausgehende repräsentative Untersuchungen gezeigt werden konnte, dass keine signifikante Veränderung der nachzuweisenden Parameter stattfindet [14].

2.3.5 Kennzeichnung und Probenahme-Rapport

Jede Probe ist sofort nach ihrer Erhebung eindeutig und unverwechselbar zu kennzeichnen. Es gibt Vorgaben, was in einem Probenahme-Rapport zu dokumentieren ist (in [4], [13]).

3 Transport, Versand, Empfang und Lagerung von Proben

Das Ziel ist, die Proben so zu transportieren und zu lagern, dass das Untersuchungsergebnis möglichst nicht verfälscht wird. Wenn Proben gekühlt oder gefroren transportiert werden, sollte sichergestellt werden, dass die Proben nicht mit den Kühlelementen oder mit dem Trockeneis direkt in Kontakt kommen. Sie sollten so rasch als möglich zur Untersuchung gebracht werden. Ausnahmen sind jedoch Haltbarkeitsbestimmungen, aufgrund derer die Proben bis zur Analyse nach fixierten Zeitspannen unter definierten Bedingungen gelagert werden. Für die empfohlenen Temperaturen bei Transport und Lagerung wird auf die internationalen Normen verwiesen [11, 14 u.a.].

3.1 Rechtliche Aspekte

Die Verordnung des Bundesrats über den Vollzug der Lebensmittelgesetzgebung (LMVV) richtet sich an den Vollzug und hält in Artikel 40 fest, „dass Proben so gehandhabt werden, dass die rechtliche und analytische Validität bei der Probenahme, beim Transport und bei der Analyse jederzeit gewährleistet ist“ [4].

3.2 Bestehende technische Leitlinien

Die Vollzugsverordnung legt lediglich die Grundanforderungen an die Handhabung von Proben fest. Weitere Vorgaben sind in diversen Normen definiert (siehe dazu beispielsweise die Literatur [8], [11], [13], [14], [15], [17]).

3.3 Probentransport

3.3.1 Allgemeine Anforderungen

Gewisse Laboratorien, zum Beispiel innerhalb von Betrieben, erheben eigenständig Proben. Es sind auch Laboratorien tätig, welche im Auftrag von Kunden Proben erheben, die verlangten Untersuchungen durchführen und die Prüfergebnisse bewerten und interpretieren.

Beim Transport der Proben an den Ort der Untersuchung muss beachtet werden, dass der mikrobielle Status nicht verfälscht wird. Verfälschungen von Ergebnissen können durch ein Absterben oder eine Vermehrung von Keimen entstehen.

Es liegt in der Eigenverantwortung des Laboratoriums, das die Proben erhebt, zu beurteilen, ob für den Transport Massnahmen wie Tiefkühlung oder Kühlung zu treffen sind. Für die Entscheidung muss die Art der zu transportierenden Proben, vor allem deren Verderblichkeit, die Umgebungstemperatur sowie die Transportzeit beachtet werden. Ebenfalls zu beachten sind die in der Hygieneverordnung für gewisse Lebensmittelkategorien vorgeschriebenen Kühltemperaturen. So gilt für frische Fischereierzeugnisse beispielsweise eine Kühltemperatur von ≤ 2 °C [3]. Abweichungen von diesen rechtlichen Vorgaben sind nur zulässig, wenn auf Grund einer Risikobeurteilung gezeigt wird, dass eine Verfälschung des mikrobiologischen Status ausgeschlossen werden kann.

3.3.2 Anforderungen an die Ausrüstung von Fahrzeugen zum Probetransport

Unter Umständen müssen Proben in weiterer Umgebung erhoben werden, so dass der Einsatz eines Fahrzeuges nötig ist. Dieses muss nötigenfalls mit Kühleinrichtungen ausgerüstet sein, so dass die unter 3.3.1 festgehaltenen allgemeinen Anforderungen erfüllt sind. Ist ein solches Fahrzeug mit einem Kühlschrank ausgerüstet, so sollte die Kühlung auch gewährleistet sein, wenn das Fahrzeug stillsteht. Bevor die erste Probe in den Kühlschrank überführt wird, ist zu überprüfen, dass die benötigte Betriebstemperatur erreicht ist. Es muss eine zur Temperaturmessung und gegebenenfalls zur Temperaturlaufzeichnung geeignete und kalibrierte Einrichtung (z. B. Infrarotthermometer, Temperaturlogger) eingesetzt werden.

Im Fahrzeug müssen die zur Probenahme geeigneten und sterilen Behältnisse und Instrumente wie auch die zur eindeutigen Kennzeichnung von Proben benötigten Utensilien vorhanden sein. In Fällen, wo nicht sicher beurteilt werden kann, ob in einer ungekühlten Probe eine Keimvermehrung erfolgen kann, sind vorsorglich alle zum bakteriologischen Untersuchen erhobenen Proben gemäss den Anforderungen an den entsprechenden Produktgruppen zu kühlen. Wird Gefriergut erhoben, ist sicherzustellen, dass dieses bis zum Eintreffen im Laboratorium gefroren bleibt. Dies kann beispielsweise durch eine im Fahrzeug eingebaute Tiefkühleinrichtung oder durch Mitführen ausreichender Mengen Trockeneis bewerkstelligt werden.

3.4 Probenversand

Häufig erhalten Laboratorien Proben von Kundinnen und Kunden zugestellt, sei es durch Kurier oder per Post. Falls Mängel festgestellt werden, sollte dies den Kundinnen und Kunden

mitgeteilt werden. Generell ist zu berücksichtigen, dass Proben stets so zu versenden sind, dass der mikrobielle Status nicht verändert werden kann. Konkret heisst dies, dass Kontaminationen aus der Umwelt durch Verwendung entsprechender Probebehälter und geeignetem Verpackungsmaterial ausgeschlossen werden müssen. Falls nötig, ist durch Massnahmen wie Kühllhaltung zu verhindern, dass während des Versandes ein Keimwachstum in Proben stattfinden kann.

3.5 Probeneingang und erste Beurteilung

Wenn ein Laboratorium Proben in Empfang nimmt, ist, falls relevant, der Zustand festzuhalten sowie die Temperatur zu messen und zu protokollieren. Weiter ist festzuhalten, ob die Probenmenge ausreichend ist, die erhaltenen Probenbehälter intakt sind und externe Kontaminationen ausgeschlossen werden können. Falls bei der Eingangsprüfung Abweichungen festgestellt werden, ist möglichst zeitnah Rücksprache mit der Auftraggeberin oder dem Auftraggeber zu nehmen, das Ausführen der Prüfung zu verweigern und neues Probenmaterial zu verlangen [14]. Falls dies nicht möglich ist und trotzdem eine Prüfung vorgenommen werden muss, darf der Prüfbericht nur unter Vorbehalt und Vermerk der beim Probeneingang festgestellten Mängel abgegeben werden [14].

Beim Eingang der Proben wird stets das Eingangsdatum und, falls relevant, die Eingangszeit protokolliert. Die Proben werden mit einer eindeutigen, laboreigenen Bezeichnung versehen. Das verwendete System muss so ausgelegt sein, dass die Aufzeichnung die Rückverfolgbarkeit auf die ursprüngliche Bezeichnung der Probe durch die Auftraggeberin oder den Auftraggeber oder dessen Kundinnen und Kunden, falls relevant, gewährleistet ist. Die Bezeichnung muss auch sicherstellen, dass in den nachfolgenden Aufarbeitungs- und Prüfungs- und Berechnungsschritten jegliche Verwechslung ausgeschlossen sind.

3.6 Probenlagerung

Räumlichkeiten, wo Proben entgegengenommen, gelagert und weiterverteilt werden, sollten geeignet sein, um Verwechslungen auszuschliessen. Die Innenluft darf (z. B. durch Lüftungen, Ventilatoren, Klimaanlage, anderes gelagertes Material) nicht derart beeinträchtigt werden, dass relevante Kontaminationen von Proben möglich sind oder ein anderer, verfälschender Einfluss auf die Prüfung besteht. Unter Umständen ist eine Risikobeurteilung unter Einbezug von regelmässigen Keimzahlbestimmungen in der Innenluft vorzunehmen.

Proben sind bis zur Untersuchung sachgerecht zu lagern. Bei mikrobiell verderblicher Ware darf die Kühlkette nur so lange unterbrochen werden, als es für die Eingangskontrolle und Kodierung durch das Prüflaboratorium nötig ist.

Werden Proben aufgeteilt (beispielsweise für mikrobiologische und chemische Untersuchungen), so darf dabei der mikrobiologische Status nicht verändert werden (siehe 4.1).

Proben, in denen die Vermehrung von Bakterien erwartet werden muss, sollten möglichst innerhalb von 24 Stunden nach Eintreffen im Prüflaboratorium untersucht werden – sofern die Haltbarkeit des Produkts gegeben ist. Bei längerer Lagerung unter Kühlung besteht die Gefahr, dass sich die frost- bzw. kältetoleranten psychrotrophen Mikroorganismen gezielt vermehren oder demgegenüber gewisse eher psychrophile Keimarten absterben.

Für den Fall einer Wiederhol- oder Zweitanalyse sind Proben so zu lagern, dass sie nicht durch andere Proben kontaminiert werden können und sich der mikrobielle Status nicht verändert. Dabei ist zu bedenken, dass sich manche Keime wie z. B. Listerien auch bei Kühl-schranktemperaturen vermehren können.

In der Literatur [8], [12], [13], [14] und [17] sind weitere Vorgaben zur Lagerung von Proben vorhanden.

4 Vorbereitung zur Analyse

Vielfach beginnt erst bei diesem Schritt die «eigentliche Laborarbeit». Für die Beschreibung der einzelnen Schritte (Aufteilung der Probe in Teilproben bzw. das «Probensplitting», Entnahme einer Untersuchungsprobe und Herstellung der Ausgangssuspension) gibt es viele Beispiele in der Literatur. An dieser Stelle gelten als Referenz in erster Linie die internationale Normen ISO 7218 [14] und ISO 887-1,-2,-3, -4,-5 [12].

4.1 Probensplitting

Werden von einer Probe mikrobiologische und chemische Analysen verlangt, so muss das notwendige «Probensplitting» zwingend unter aseptischen Bedingungen erfolgen, d. h. die Entnahme der Teilprobe für die mikrobiologische Analyse findet wie bereits weiter oben erwähnt zuerst statt.

Bis zum «Probensplitting» muss die Probe so gelagert werden, dass der mikrobielle Status nicht verfälscht wird. Entsprechendes gilt für Rückstellmuster.

Für die chemische Prüfung (z. B. Analyse auf flüchtige Verbindungen oder Malachitgrün) ist darauf zu achten, dass die zu bestimmenden Analyten beim «Probensplitting» nicht verändert werden.

4.2 Entnahme der Untersuchungsprobe

Von der Probe, die ins Laboratorium gesendet wird, wird in der Regel nur ein Teil für die vorgesehenen Prüfungen eingesetzt. Dieser Teil wird nachfolgend «Untersuchungsprobe» genannt (siehe dazu auch Teil 1 in [12]).

Grundsätzlich werden aseptische Techniken für die Entnahme der Untersuchungsprobe verwendet. Sofern keine speziellen anderen Anforderungen bestehen, werden tiefgekühlte Proben so schnell wie möglich aufgetaut und untersucht (Teile 2 bis 5 in [12]).

Bei inhomogenen Proben sollte die Untersuchungsprobe derart entnommen werden, dass die unterschiedlichen Komponenten, wenn möglich, entsprechend ihren Anteilen berücksichtigt werden (Teil 1 in [12]). Es sind aber auch andere Anteilszusammensetzungen möglich, je nach Zielsetzung der Prüfung.

Für die Untersuchungsproben von «gepoolten» Proben (siehe Kap. 2.1.2.1) sind die entsprechenden Vorgaben in der Hygieneverordnung [3] zu berücksichtigen.

4.3 Herstellung der Ausgangssuspension

Zur Herstellung der Ausgangssuspension ist in der Regel ein Homogenisierungsschritt mit dem entnommenen Untersuchungsgut und ein Verdünnungsschritt mit einer Verdünnungslösung notwendig. Davon ausgenommen sind homogene Flüssigkeiten. (Teil 1 in [12]).

Die Ausgangssuspension wird für eine qualitative Prüfung entweder als Erstanreicherungsmedium verwendet oder für eine quantitative Prüfung werden aus ihr weitere dezimale Verdünnungen hergestellt.

Hinsichtlich der Homogenisierung und anzuwendenden Verdünnung sind ebenfalls die relevanten Normen [12], [14] zu konsultieren. Dabei ist besonders zu beachten, dass je nach Matrix und Untersuchungskeim unterschiedlich verfahren oder sogar vorgängig eine Validierung der Vorgehensweise in Betracht gezogen werden sollte. Beispiele sind das Schmelzen von Butter (Teil 5 in [12]), die Verwendung von Natriumcitrat bei der Verdünnung von Käse (Teil 5 in [12]) oder die Verwendung spezieller Erstanreicherungsmedien beim Salmonellenachweis in Kakao und kakaohaltigen Produkten sowie sauren oder säuernden Produkten [18].

Werden Lebensmittelzutaten oder -zusatzstoffe untersucht, die hemmende (inhibitorische) Substanzen wie beispielsweise Zwiebelpulver, Knoblauch, Oregano, Pfeffer, bestimmte Teesorten und Kaffee enthalten, sollten grössere Verdünnungen (z. B. Zimt und Oregano

1:100, Gewürznelken 1:1000) verwendet werden oder Kaliumsulfat (K_2SO_4) zum gepufferten Peptonwasser zu einer Endkonzentration von 0.5 % zugegeben werden (Teil 4 in [12]).

Key words

Microbiology; pre-analytic; sampling; food-control

5 Literatur

- [1] Europäische Union: Guidance Document on official controls, under Regulation (EC) No 882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs, 2006.
- [2] Der Schweizerische Bundesrat: Lebensmittel- und Gebrauchsgegenständeverordnung (LGV) vom 16. Dezember 2016 (SR 817.02). <https://www.admin.ch>.
- [3] Das Eidgenössische Departement des Innern (EDI): Verordnung des EDI über die Hygiene beim Umgang mit Lebensmitteln (Hygieneverordnung EDI, HyV) vom 16. Dezember 2016 (SR 817.024.1). <https://www.admin.ch>.
- [4] Der Schweizerische Bundesrat: Verordnung über den Vollzug der Lebensmittelgesetzgebung (LMVV) vom 16. Dezember 2016 (SR 817.042). <https://www.admin.ch>.
- [5] International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF): Microorganisms in Foods 2 - Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. Second edition, 1986. University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- [6] ISO 2859, different parts: Sampling procedures for inspection by attributes.
- [7] Directives générales sur l'échantillonnage CAC/GL 50-2004. Codex Alimentarius.
- [8] ISO 17604:2015: Microbiology of the food chain - Carcass sampling for microbiological analysis.
- [9] ISO 24333:2009: Cereals and cereal products – Sampling.
- [10] ISO 5667-1:2006: Water quality – Sampling – Part 1: Guidance on the design of sampling programs and sampling techniques.
- [11] ISO 19458:2006: Water quality – Sampling for microbiological analysis.
- [12] ISO 6887-1,-2,-3 -4, -5: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination.
Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilution (2017).
Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products (2017).
Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products (2017).
Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products (2017).
Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products (2010).
- [13] ISO/TS 17728:2015: Microbiology of the food chain – Sampling techniques for microbiological analysis of food and feed samples.
- [14] ISO 7218:2007: Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations.
- [15] ISO 707:2008 (IDF 50:2008): Milk and milk products - Guidance on sampling.
- [16] Baumgart, J. & B. Becker: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, Loseblatt-Ausgabe (1994, laufende Aktualisierungen).
- [17] ISO 18593:2018: Microbiology of the food chain - Horizontal methods for surface sampling.

- [18] ISO 6579-1:2017: Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* spp. – Part 1 – Detection of *Salmonella* spp.
- [19] Informationsschreiben 2018/4, BLV: «Anleitung zur Durchführung mikrobiologischer Untersuchungen von Schlachttierkörpern im Rahmen der Selbstkontrolle von Schlachtbetrieben» (<https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/lebensmittel-und-ernaehrung/rechts-und-vollzugsgrundlagen/hilfsmittel-und-vollzugsgrundlagen/informationsschreiben.html>)

6 Änderungen in der aktuellen Ausgabe

Totalüberarbeitung des Dokumentes

* / * / * / * / *