



Technische Weisungen

über

Mikrobiologische Fleischuntersuchung

Vom 01.06.2017

Das Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (*Bundesamt*),

gestützt auf Artikel 31 Absatz 4 der Verordnung vom 16. Dezember 2016 über das Schlachten und die Fleischkontrolle (VSFK; SR 817.190) sowie in Ergänzung der Artikel 31 Absatz 1 VSFK, Artikel 10 und 11 Buchstabe a sowie Anhang 10 der Verordnung des EVD vom 23. November 2005 über die Hygiene beim Schlachten (VHyS; SR 817.190.1),

erlässt folgende Weisungen:

I Zweck und Geltungsbereich

1. Diese Weisung regelt die Erhebung von Proben und die Laboruntersuchungen im Rahmen der mikrobiologischen Fleischuntersuchung einschliesslich des "erweiterten EWG-Vierplattentests" (Hemmstofftest).

II Proben für die mikrobiologische Fleischuntersuchung

2. Für eine mikrobiologische Fleischuntersuchung sind folgende Proben zu erheben:

2.1 bei Tieren der Rinder- und Pferdegattung:

- 2.1.1 je ein kompaktes Muskelstück, mindestens 10 cm lang, möglichst dick, mit dem Faszien- und Bindegewebe:
 - 2.1.1.1 vom Vorderviertel;
 - 2.1.1.2 vom diagonal dazu gelegenen Hinterviertel;
- 2.1.2 je ein nicht angeschnittener Lymphknoten mit dem umschliessenden Binde- und Fettgewebe aus den andern beiden Vierteln:
 - 2.1.2.1 ein Buglymphknoten (*Ln. cervicalis superficialis*) oder Achsellymphknoten (*Ln. axillaris*); und
 - 2.1.2.2 ein innerer Darmbeinlymphknoten (*Ln. iliacus lateralis oder medialis*), Kniefaltenlymphknoten (*Ln. subiliacus*) oder Popliteallymphknoten (*Ln. popliteus*);
- 2.1.3 die Milz oder ein handgrosses Stück davon;
- 2.1.4 eine Niere;
- 2.1.5 von der Leber bei Tieren der Rindergattung der Spiegel'sche Lappen (Lobus caudatus), bei Tieren der Pferdegattung ein entsprechend grosses Stück vom scharfen Rand;
- 2.1.6 spezifisch veränderte Teile aus Organen und Muskulatur mit den dazugehörenden Lymphknoten;

2.2 bei Tieren der Schaf-, Ziegen- und Schweinegattung, bei anderem als dem erwähnten Schlachtvieh sowie bei Zucht-Schalenwild:

- 2.2.1 je ein kompaktes Muskelstück, möglichst dick, mit dem Faszien- und Bindegewebe:
 - 2.2.1.1 vom Vorderviertel;

- 2.2.1.2 vom diagonal dazu gelegenen Hinterviertel;
- 2.2.2 eine Niere;
- 2.2.3 von der Leber mindestens die Hälfte;
- 2.2.4 spezifisch veränderte Teile aus Organen und Muskulatur mit den dazugehörenden Lymphknoten.

III Vorbereitung der Proben und Versand

3. Das Vorgehen bei der Probenerhebung richtet sich nach den Artikeln 39-53 der Verordnung vom 16. Dezember 2016 über den Vollzug der Lebensmittelgesetzgebung (SR 817.042).
4. Die Proben müssen gekühlt werden.
5. Die Proben dürfen nicht tiefgekühlt werden.
6. Die Proben sind für den Versand einzeln dicht in flüssigkeitsundurchlässigem Material zu verpacken.
7. Für den Versand sind isolierte Transportbehälter zu verwenden, welche mit Kühlelementen ausgestattet sind.
8. Der Versand muss auf dem schnellsten Weg erfolgen.
9. Den Proben ist ein sauber verpackter amtlicher Probenerhebungsrapport (Anhang 10 der VHyS) beizufügen.

IV Nährmedien für die mikrobiologische Fleischuntersuchung

10. Thioglykollat-Medium

Pepton	15,0 g
Hefeextrakt	5,0 g
Glukose	5,0 g
NaCl	2,5 g
Natriumthioglykollat	0,5 g
L-Cystin	0,5 g
Agar	0,75 g
dest. Wasser	ad 1000 ml

End-pH: 7,1 ± 0,2

Lösen und 15 Minuten bei 121 °C sterilisieren. Nach dem Abkühlen auf unter 45 °C 10 ml Häminlösung sowie 0,2 ml sterilfiltrierte Vitamin-K1-Lösung zusetzen, mischen und abfüllen. Das fertige Medium kann kühl und vor Licht geschützt längere Zeit aufbewahrt werden, sollte aber einmal pro Woche während einer Stunde im Anaerobenschrank oder im Wasserbad regeneriert werden.

Häminlösung: Hämin 0,050 g
NaOH (1N) 1,0 ml
dest. Wasser ad 100 ml
15 Minuten bei 121 °C sterilisieren

Vitamin-K1-Lösung: Vitamin K₁ 0,15 g
Ethanol 30 ml
Kühl und vor Licht geschützt aufbewahren

11. Tetrathionat-Bouillon

Pepton	5,0 g
Gallensalze	1,0 g

Ca CO ₃	10,0 g
Na ₂ S ₂ O ₃	30,0 g
dest. Wasser	ad 1000 ml

End-pH: 7,8 ± 0,2

Unter Rühren vorsichtig bis zum Kochen erhitzen (nicht sterilisieren). Nach dem Abkühlen auf unter 45 °C 20 ml Jodlösung zusetzen, mischen und abfüllen. Bei Bedarf kann 1 ml einer 1%igen Brillantgrünlösung beigefügt werden. Die gebrauchsfertige Bouillon soll am Tag der Herstellung verwendet werden; die Grundbouillon kann kühl und vor Licht geschützt längere Zeit aufbewahrt werden.

Jodlösung: KJ Pepton	5,0 g
Jodlösung: KJ	6,0 g
dest. Wasser	20 ml

12. Rappaport-Vassiliadis-Bouillon

12.1 Peptonlösung:

Pepton	5,0 g
NaCl	8,0 g
KH ₂ PO ₄	1,6 g
dest. Wasser	ad 1000 ml

Durch Erwärmen auf 70–80 °C lösen. Die Peptonlösung ist jeweils frisch herzustellen.

12.2 Magnesiumchloridlösung:

MgCl ₂ •6 H ₂ O	400,0 g
dest. Wasser	ad 1000 ml

Die MgCl₂-Lösung kann in einer dunklen Flasche ein Jahr bei Raumtemperatur gelagert werden.

12.3 Malachitgrün-Oxalat

Malachitgrün-Oxalat	0,4 g
dest. Wasser	ad 100 ml

Die Lösung kann sechs Monate in einer dunklen Flasche bei Raumtemperatur gelagert werden. Die Eignung der einzelnen Malachitgrün-Chargen ist jeweils zu prüfen.

12.4 Fertiges Medium:

Peptonlösung	1000 ml
MgCl ₂ -Lösung	100 ml
Malachitgrünlösung	10 ml

Mischen und 15 Minuten bei 115 °C sterilisieren. Das fertige Medium kann im Kühlschrank einen Monat gelagert werden.

13. Blut-Agar

Rinderherzinfus	10,0 g
Pepton	10,0 g
NaCl	5,0 g
Agar	q. s.
dest. Wasser	ad 1000 ml

End-pH 7,3 ± 0,2

Lösen und 15 Minuten bei 121 °C sterilisieren. Nach dem Abkühlen auf 48 °C steriles, defibriniertes Schafblut zusetzen (Endkonzentration 5 %), mischen und auf Platten giessen.

Anstelle dieses Blut-Agars kann ein vergleichbares, nicht selektives Agarmedium mit Blutzusatz verwendet werden.

14. Bromthymolblau-Laktose-Agar

Pepton	7,0 g
Laktose	15,5 g
NaCl	5,0 g
Bromthymolblau	0,04 g
Agar	q. s.

dest. Wasser ad 1000 ml

End-pH: 7,0 ± 0,2

Lösen und 15 Minuten bei 121 °C sterilisieren.

Anstelle des Bromthymolblau-Laktose-Agars kann ein vergleichbares, schwachselektives, zur Differenzierung von laktosevergärenden und nicht-laktosevergärenden Kolonien geeignetes Agarmedium verwendet werden.

15. Brillantgrün-Phenolrot-Agar

Pepton 10,0 g

Hefeextrakt 3,0 g

Laktose 10,0 g

Saccharose 10,0 g

NaCl 5,0 g

Phenolrot 0,08 g

Brillantgrün 0,0125 g

Agar q. s.

dest. Wasser ad 1000 ml

End-pH: 6,9 ± 0,2

Lösen und 15 Minuten bei 121 °C sterilisieren.

Zusätzlich ist ein zweites bewährtes Salmonella-Selektivmedium zu verwenden, z. B.

- Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar
- Salmonella-Shigella-Agar
- Mannitol-Lysin-Kristallviolett-Brillantgrünagar

V **Behandlung der Proben**

16. Anhaftendes Binde- und Fettgewebe ist zu entfernen.

17. Die Oberfläche des zur Entnahme vorgesehenen Bereiches ist durch Hitze in einer Tiefe von 1–2 mm zu denaturieren, um eine sterile Probenahme zu gewährleisten.

18. Die Probenahme erfolgt mit sterilisierten Instrumenten wie Scheren, Pinzetten oder Spatel.

19. Das Probenmaterial muss bis zum Abschluss der bakteriologischen Untersuchung gekühlt aufbewahrt werden. Eine allfällige Expertise ist jedoch in der Regel mit neu entnommenen Proben durchzuführen.

VI **Anreicherung und Ausstrich der Proben**

20. Anreicherung in flüssigen Nährmedien

20.1 Je ein Stückchen der Muskel-, Leber-, Milz- und Nierenproben wird in ein Röhrchen mit 10 ml Thioglykollat-Medium gegeben und 18–24 Stunden bei 37 °C bebrütet.

20.2 Angewachsene Flüssigkulturen sind auf Blutagar und Bromthymolblau-Laktose-Agar umzuzüchten. Die Platten werden 18–24 Stunden bei 37 °C bebrütet.

20.3 Zudem ist ein Objektträgerausstrich mit Gramfärbung anzufertigen.

20.4 Bei Verdacht auf Anaerobier (Nachweis von grampositiven Stäbchen in der Gramfärbung, Kultur aus Abszessmaterial) erfolgt eine weitere Umzüchtung auf Blutagar mit anaerober Bebrütung während 18–24 Stunden bei 37 °C.

21. Direktausstrich auf festen Nährmedien

21.1 Je ein Stückchen der Muskel- und Organproben ist jeweils sachgemäss auf einem Teil der folgenden Nährmedien auszustreichen:

21.1.1 Blutagar

21.1.2 Bromthymolblau-Laktose-Agar oder vergleichbares Agarmedium

21.2 Die Medien sind während 18–24 Stunden bei 37 °C zu bebrüten. Zeigt sich dann kein Wachstum, werden sie nochmals 18–24 Stunden bei 37 °C bebrütet.

22. Salmonella-Anreicherung

22.1 50 ml Tetrathionat-Bouillon oder Rappaport-Vassiliadis-Bouillon werden je mit einem Stückchen der Muskel-, Leber-, Milz- und Nierenproben sachgemäss beimpft.

22.2 Nach 18–24-stündiger Inkubation bei 37 °C für Tetrathionat-Bouillon bzw. 43 °C für Rappaport-Medium werden die Kulturen auf Brillantgrün-Phenolrot-Agar sowie auf eine weitere bewährte Salmonellen-Selektivplatte umgezüchtet. Die Selektivplatten werden während 18–24 Stunden bei 37 °C inkubiert.

VII Auswertung und Beurteilung der bebrüteten Platten

23. Nach Beendigung der Bebrütungszeit sind die Platten auf das Wachstum von Erregern zu untersuchen.

24. Ein günstiges Resultat der mikrobiologischen Untersuchung umfasst namentlich den Ausschluss der folgenden Befunde:

24.1 Erreger von Infektionskrankheiten, Toxi-Infektionen oder Intoxikationen;

24.2 Septikämie;

24.3 unspezifische Keime in der Tiefe der Muskulatur;

24.4 unspezifische Keime in den Organen.

25. Ein günstiges Ergebnis der mikrobiologischen Untersuchung allein erlaubt noch nicht, ohne weiteres einen Schlachttierkörper als genusstauglich zu bezeichnen. Das Ergebnis der mikrobiologischen Fleischuntersuchung ist als ein Element unter mehreren zu werten, die nach Anhang 7 VHyS beim Entscheid über die Verwendbarkeit des Schlachttierkörpers berücksichtigt werden müssen.

VIII Hemmstofftest und Beurteilung

26. Muskulatur und Nieren sind auf Hemmstoffe zu untersuchen. Dabei ist der Hemmstofftest (erweiterter «EWG-Vierplattentest») durchzuführen.

27. Eine vollständige Wachstumshemmung auf mindestens einer der Testplatten um beide aufgelegten Proben mit einer auf der Nährbodenoberfläche durchgehenden Hemmzone von mindestens 2 mm Breite (an der schmalsten Stelle gemessen) ist als positiv anzusehen.

28. Positive Resultate müssen ein zweites Mal unter Verwendung einer semipermeablen Membran bestätigt werden.

29. Bei positivem Hemmstoffnachweis des Nierengewebes (Hemmzone \geq 2 mm) sind sämtliche Organe für genussuntauglich zu erklären, der Schlachttierkörper kann für genusstauglich erklärt werden.

30. Bei positivem Hemmstoffnachweis der Muskulatur (Hemmzone \geq 2 mm) sind der gesamte Schlachttierkörper und alle Teile davon für genussuntauglich zu erklären.

31. Ein negatives Ergebnis des Hemmstofftests in Muskulatur und Nieren allein erlaubt noch nicht, ohne weiteres einen Schlachttierkörper als genusstauglich zu bezeichnen. Das Ergebnis ist als ein Element unter mehreren zu werten, die nach Anhang 7 VHyS beim Entscheid über die Verwendbarkeit des Schlachttierkörpers berücksichtigt werden müssen.

IX Inkrafttreten

Diese Weisung tritt am 01. Juni 2017 in Kraft.

Bern, 01.06.2017

BUNDESAMT FUER LEBENSMITTELSICHERHEIT UND
VETERINÄERWESEN