

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 97 (2006)
Heft: 6

Artikel: Leitfaden zum zweckmässigen Vorgehen beim präanalytischen Teil von mikrobiologischen Untersuchungen im Bereich der Lebensmittelproduktion = Guide pour le traitement approprié de la partie pré-analytique des analyses microbiologiques dans le domaine de l...

Autor: Baumgartner, A. / Bischofsberger, T. / Dalla Torre, M.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982044>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 07.04.2026

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

Leitfaden zum zweckmässigen Vorgehen beim präanalytischen Teil von mikrobiologischen Untersuchungen im Bereich der Lebensmittelproduktion

Guide pour le traitement approprié de la partie pré-analytique des analyses microbiologiques dans le domaine de la production de denrées alimentaires

*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

¹ Bundesamt für Gesundheit, 3003 Bern

² UFAG Laboratorien AG, 6310 Sursee

³ Säilirain 32, 4500 Solothurn

⁴ SAS, 3003 Bern

⁵ Agroscope Liebefeld-Posieux, 1725 Posieux

⁶ NESTEC SA., 1350 Orbe

⁷ Amt für Verbraucherschutz, 5000 Aarau

⁸ Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, 8057 Zürich

⁹ COOP Zentrallabor, 4133 Pratteln

*Autoren in alphabetischer Reihenfolge

Vorwort

Der Text dieser Richtlinie wurde von Mitgliedern einer Expertengruppe des Bundes, des Kantonalen Vollzugs und der Privatwirtschaft, unter der Leitung der SAS erarbeitet.

Der Geltungsbereich umfasst den präanalytischen Teil folgender Proben: Lebensmittel, Futtermittel, Umweltproben im Bereich der Produktion und des Umgangs mit Lebensmitteln, Umweltproben im Bereich der Primärproduktion sowie Fäces tierischen Ursprungs.

Dass die zur Probenerhebung eingesetzte Person entsprechend geschult sein und die Abläufe sowie die kritischen Punkte ihrer Tätigkeit kennen muss, wird als Voraussetzung angesehen und ist nicht Bestandteil dieser Richtlinie.

Gewisse Hinweise zu präanalytischen Fragen werden in einem «Guidance Document» neusten Datums der EU vermittelt (1). Der vorliegende Leitfaden gibt zu dieser Thematik jedoch einen umfassenderen Überblick und berücksichtigt auch Aspekte nationaler Prägung.

Das Dokument richtet sich vor allem an leitende Begutachter und Fachexperten als Hilfe bei der Überwachung von Prüfstellen sowie an die betroffenen Laboratorien selbst.

Préface

Le texte de cette directive a été rédigé par un groupe d'experts de la Confédération, des laboratoires cantonaux et du secteur privé qui a travaillé sous la direction du SAS.

Le domaine d'application couvre la partie pré-analytique des échantillons suivants: denrées alimentaires, aliments pour animaux, échantillons de l'environnement dans le secteur de la production et de l'utilisation de denrées alimentaires, échantillons de l'environnement dans le secteur de la production primaire et des fèces d'animaux.

Le fait que les personnes engagées pour l'échantillonnage soient formées dans leur domaine, qu'elles connaissent les déroulements et les points critiques de leur activité, est une exigence préliminaire et ne fait pas partie de ce guide.

Certaines indications concernant les questions pré-analytiques sont fournies dans l'UE dans un récent «Guidance document» (1). Le présent guide donne toutefois un aperçu plus vaste à cette thématique et prend aussi en considération les caractéristiques nationales.

Le document s'adresse surtout à des auditeurs et experts principaux comme aide lors de la surveillance des laboratoires d'essai, ainsi qu'aux laboratoires concernés.

Inhaltsverzeichnis/Table des matières

1. Einleitung	381
2. Probenahme	381
2.1 Probenahmepläne	381
2.1.1 Rechtliche Aspekte	381
2.1.2 Technische Aspekte	382
2.1.2.1 Allgemeines	382
2.1.2.2 Klassenpläne	383
2.1.2.3 Kenngrößen der Klassenpläne	383
2.1.2.4 Festlegen eines Probenahmeplans	384
2.1.2.5 Beispiele für Probenahmepläne	384
2.1.2.6 Abweichen von Probenahmeplänen	385
2.2 Geräte und Hilfsmittel	385
2.3 Probenahmetechnik	385
2.3.1 Zielsetzung der Bemusterung	386
2.3.2 Einzelne Probenahmetechniken	386
2.3.3 Probenahmemengen	386
2.3.4 Probenstabilisierung	387
2.3.5 Kennzeichnung und Probenahme-Rapport	387
3. Transport, Versand, Empfang und Lagerung von Proben	388
3.1 Rechtliche Aspekte	388
3.2 Bestehende technische Leitlinien	388
3.3 Probentransport	388
3.3.1 Allgemeine Anforderungen	388
3.3.2 Anforderungen an die Ausrüstung von Fahrzeugen zum Probetransport	389
3.4 Probenversand	389
3.5 Probeneingang und erste Beurteilung	390
3.6 Probenlagerung	390
4. Vorbereitung zur Analyse	391
4.1 Probensplitting	391
4.2 Entnahme des Untersuchungsgutes	391
4.3 Herstellung der Ausgangssuspension	392
5. Literatur	405

1. Introduction	393
2. Prise d'échantillon	393
2.1 Plans d'échantillonnage	393
2.1.1 Aspects légaux	393
2.1.2 Aspects techniques	395
2.1.2.1 Généralités	395
2.1.2.2 Plans d'organisation par classes	395
2.1.2.3 Paramètres des plans de classes	395
2.1.2.4 Élaboration d'un plan d'échantillonnage	396
2.1.2.5 Exemples de plans d'échantillonnage	396
2.1.2.6 Déviation de plans d'échantillonnage	397
2.2 Appareils et accessoires	397
2.3 Technique d'échantillonnage	397
2.3.1 Objectifs de la prise d'échantillons	398
2.3.2 Techniques d'échantillonnage isolées	398
2.3.3 Quantité de matériel à prélever	398
2.3.4 Stabilisation de l'échantillon	399
2.3.5 Désignation et rapport d'échantillonnage	399
3. Transport, expédition, réception et entreposage des échantillons	400
3.1 Aspects juridiques	400
3.2 Lignes directrices techniques existantes	400
3.3 Transport d'échantillons	400
3.3.1 Exigences générales	400
3.3.2 Exigences concernant l'équipement des véhicules transportant les échantillons	401
3.4 Expédition des échantillons	401
3.5 Réception des échantillons et première évaluation	402
3.6 Entreposage des échantillons	402
4. Préparation pour l'analyse	403
4.1 Fractionnement des échantillons	403
4.2 Prélèvement de la prise d'essai	403
4.3 Confection de la suspension de base	404
5. Bibliographie	405

1. Einleitung

Die Validierung und die Abschätzung der Messunsicherheit mikrobiologischer Untersuchungsmethoden wurde in den letzten Jahren stark vorangetrieben. In diesem Kontext entstand im Jahre 2005 ein entsprechender Leitfaden im Bereich Lebensmittel- und Umweltmikrobiologie, allerdings ohne Berücksichtigung des präanalytischen Teils. Zusammen mit einem immer grösser werdenden Angebot an Proficiency Testings (Laborvergleichsstudien) und Referenzmaterialien sollte dies zu einer vertrauenswürdigen, rückführbaren Analytik führen.

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 Probenahmeprozess. Die oft sehr komplexen Vorgänge der Probenahme vor Ort bis zur Entnahme des Untersuchungsgutes im Labor, werden dem Labor nicht ausreichend bekannt gegeben oder es fehlen die nötigen Kenntnisse der Faktoren und deren Einfluss auf die Probe und die zu untersuchenden Merkmale. Auch fehlt weitgehend eine Normalisierung. Es ist unabdingbar, dass die Proben welche zur Untersuchung gelangen, so erhoben, transportiert und zur Analyse vorbereitet wurden, dass sie nach wie vor repräsentativ für die Gesamtheit des zu untersuchenden Materials (Warenlos) sind.

Die Art der Probenahme, insbesondere die Probenmenge, ist wesentlich beeinflusst durch die Ziele der Untersuchung. Je nach dem, ob es sich um amtliche Untersuchungen nach einem Stichprobenplan, um epidemiologische Untersuchungen oder um ein Monitoring handelt, können sich unterschiedliche Vorgehensweisen aufdrängen.

Der präanalytische Teil der Analyse kann in folgende 3 Schritte unterteilt werden.

- Probenahme
- Transport und Lagerung
- Vorbereitung zur Analyse

2. Probenahme

Grundsätzlich ist so vorzugehen, dass die Proben bezüglich ihres mikrobiellen Status möglichst unverändert bleiben. Proben für mikrobiologische Untersuchungen sollten nur durch entsprechend instruierte Personen erhoben werden.

2.1 Probenahmepläne

2.1.1 Rechtliche Aspekte

Die Anforderungen an die Probenerhebung durch die kantonalen Behörden der Lebensmittelkontrolle (Kantonale Laboratorien) sind in der Verordnung des EDI über den Vollzug der Lebensmittelgesetzgebung geregelt (2). Viele der dort festgelegten Vorgehensweisen beschreiben eine «Gute Probenahmepraxis», die auch für Institutionen, die der Verordnung nicht unterworfen sind, fachlich richtungweisend

sind. In Artikel 78 «Probenahme» wird festgelegt, dass in der Regel Einzelproben entnommen werden. Artikel 79 «Stichprobenpläne» räumt den Kontrollbehörden jedoch die Möglichkeit ein, aus einem Warenlos mehrere Proben nach einem Stichprobenplan zu erheben. Dieser Weg kann beschränkt werden, wenn der Verdacht besteht, dass ein Warenlos den Anforderungen der Lebensmittelgesetzgebung nicht oder nur teilweise entspricht oder wenn das Untersuchungsziel mit Einzelproben nicht erreicht werden kann. Der im Kontext von Stichprobenplänen sehr wichtige Begriff des «Warenloses» ist in der Verordnung des EDI über die Kennzeichnung und Anpreisung von Lebensmitteln (LKV) definiert (3). Demgemäss gilt ein Warenlos als eine Gesamtheit von Produktions- oder Verkaufseinheiten eines Lebensmittels, das unter praktisch gleichen Umständen erzeugt, hergestellt oder verpackt wurde. Praktisch hilfreich, und darum an dieser Stelle erwähnt, ist auch die Umschreibung des Begriffes «Warenlos» in der zwischenzeitlich ausser Kraft gesetzten Probenerhebungsverordnung (PEV) (4). Gemäss der ehemaligen PEV sind Warenlose bestimmbare und abgrenzbare Gesamtheiten von Produkten (z.B. Importlose, Fabrikationschargen, Lagerbestände), die aufgrund ihrer Kennzeichnung (Chargennummer, Fabrikationsdatum usw.), ihrer Herkunft, ihrer Rohstoffe oder des Zeitpunktes und der Art der des Inverkehrbringens zusammengehören.

In der Vergangenheit haben die kantonalen Laboratorien bei mikrobiologischen Untersuchungen fast ausschliesslich mit Einzelstichproben gearbeitet. Dieses Vorgehen beruhte auf der Überlegung, mit den verfügbaren Mitteln ein Maximum von Warenlosen überprüfen zu können. Dies machte auch darum Sinn, weil die Kontrolltätigkeit zu einem grossen Teil in den Bereichen Gastronomie und Detailhandel erfolgt. Kamen Probenahmepläne zum Einsatz, so haben die kantonalen Laboratorien diese ohne Zutun der Bundesbehörden festgelegt. In grossen Unternehmungen der Lebensmittelbranche, insbesondere in solchen, die im internationalen Handel tätig sind, kommen Probenahmepläne im Rahmen der Selbstkontrolle häufiger zur Anwendung.

Das Bestreben der Schweizerischen Bundesbehörden im Handel mit Lebensmitteln tierischer Herkunft mit der Europäischen Union (EU) Äquivalenz zu erlangen, hatte zur Folge, dass die nationale Gesetzgebung angepasst werden musste. Unter anderem wurden in die Hygieneverordnung in grösserem Umfang mikrobiologische Kriterien der EU übernommen und damit eigene Grenz- und Toleranzwerte eliminiert, ersetzt oder modifiziert. Ein Teil dieser Kriterien ist nun zwingend an Probenahmepläne gekoppelt (5).

2.1.2 Technische Aspekte

2.1.2.1 Allgemeines

Um eine ausreichende hygienische Qualität von Lebensmitteln zu erreichen, genügt das Befolgen einer guten Herstellungspraxis (GHP) und das Durchführen sporadischer, mikrobiologischer Untersuchungen nicht. Vielmehr sind produk-

tionsspezifische Gefahren zu identifizieren, daraus erwachsende Risiken abzuschätzen und Massnahmen zu deren Beherrschung festzulegen. In der Regel geschieht dies mit dem sogenannten Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System. Die mikrobiologische Analytik nimmt im Gesamtkontext dieses Sicherheitssystems einen wichtigen Platz ein, sei es bei der Qualitätsüberprüfung von Rohstoffen oder bei Endproduktkontrollen (Verifikation). Es liegt auf der Hand, dass die Aussagekraft einer Analytik in Bezug auf eine Charge von der Anzahl untersuchter Proben abhängt. Je mehr Proben pro Einheit analysiert werden, desto höher die Wahrscheinlichkeit, dass ein allfällig vorhandener, unerwünschter Keim entdeckt wird. Wie viele Proben sinnvollerweise analysiert werden sollten, hängt z.B. vom Umfang eines zu beprobenden Warenloses, seiner Homogenität und der Häufigkeit der nachzuweisenden Parameter ab. Die entsprechend eingesetzten Untersuchungsschemata werden als Probenahmepläne bezeichnet. Wegweisend auf diesem Gebiet sind die Arbeiten und Empfehlungen der «International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)» (6).

2.1.2.2 Klassenpläne

2.1.2.2.1 2-Klassenplan

Im 2-Klassenplan kommen meistens Anwesenheits-/Abwesenheitstests 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 auch quantitative Methoden zum Einsatz, wobei eine erlaubte und eine höchstzulässige Keimzahl pro Gramm oder Milliliter zugrunde gelegt wird. Dabei darf nur eine bestimmte Anzahl Proben die höchstzulässige Keimzahl erreichen, nicht aber überschreiten.

2.1.2.3 Kenngrössen der Klassenpläne (7)

k: Klasse

n: Zahl der zu bemusternden und untersuchenden Proben pro Warenlos oder gemäss Hygieneverordnung des Eidgenössischen Departement des Innern (5) die Anzahl Probeeinheiten der Stichprobe

m: erlaubte Keimzahl pro Gramm oder Milliliter

M: höchstzulässige Keimzahl pro Gramm oder Milliliter

c: – (2-Klassenplan): höchste Zahl an Proben, bei denen «m» überschritten sein darf

– (3-Klassenplan): höchste Zahl an Proben, bei denen «m», nicht jedoch «M» überschritten sein darf

m: erlaubte Keimzahl pro Gramm oder Milliliter

M: höchstzulässige Keimzahl pro Gramm oder Milliliter

Probenahmepläne können sich auch auf andere Probenmengen, als 1 g oder 1 ml beziehen (z.B. auf 25 g). Im Vergleich mit der in der Schweiz rechtsgültigen Hygieneverordnung (5) entspricht «m» dem «Toleranzwert» und «M» dem «Grenzwert». Grenzwerte sind sogenannte Lebensmittelsicherheitskriterien, Toleranzwerte können mikrobiologische Hygienekriterien für genussfertige Endprodukte oder für Herstellungsprozesse sein.

2.1.2.4 Festlegen eines Probenahmeplans

Dem Festlegen eines Probenahmeplans gehen mikrobiologische, epidemiologische, medizinische und statistische Überlegungen voraus. So wird 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 sind 5, 10, 15, 20, 30 oder 60 Parallelanalysen zu untersuchen. Auf weiterführende Erläuterungen zu diesem Punkt wird an dieser Stelle verzichtet und auf die umfangreiche Spezialliteratur verwiesen, insbesondere auf ein entsprechendes Standardwerk der ICMSF (6).

2.1.2.5 Beispiele für Probenahmepläne

Die nachfolgenden Pläne sind von der EU vorgeschrieben und ins schweizerische Recht übernommen worden (5). Für Untersuchungen im Rahmen der amtlichen Lebensmittelkontrolle können die 3 nachfolgenden Beispiele auch als Einzelstichproben angewendet werden, sofern bei negativem Ergebnis einer Einzeluntersuchung keine Rückschlüsse auf das ganze Warenlos gezogen werden. Bei dem Beispiel unter 2.1.2.5.3 kann dabei eine Überschreitung von «m» nicht beanstandet werden, gibt aber einen Hinweis, dass Probleme bestehen könnten.

2.1.2.5.1 Genussfertige Lebensmittel, welche die Vermehrung von *Listeria monocytogenes* erlauben

$k=2/n=5/c=0/m=M=100$ KBE pro Gramm

Bei entsprechenden Untersuchungen sind pro Warenlos 5 Proben zu berücksichtigen. Weil nur «M» festgesetzt wurde und «c» Null 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 mit quantitativem Nachweisverfahren.

2.1.2.5.2 *Enterobacter sakazakii* in Kindernährmitteln

$k=2/n=30/c=0/m=M=\text{nicht nachweisbar}$ in 10 Gramm

Bei entsprechenden Untersuchungen sind pro Warenlos 30 Proben zu berücksichtigen. Weil nur «M» festgesetzt wurde und «c» Null ist, darf in keiner der 30 Proben *E. sakazakii* nachweisbar sein. In diesem Fall handelt es sich um einen 2-Klassenplan kombiniert mit einem Anwesenheits-/Abwesenheitstest. Die hohe

Probenzahl von 30 («n») hängt damit zusammen, dass hochempfindliche Personen (Säuglinge) geschützt werden sollen.

2.1.2.5.3 Koagulase positive Staphylokokken in Rohmilchkäsen

$k=3/n=5/c=2/m=10000$ KBE pro Gramm/ $M=100000$ KBE pro Gramm

Bei entsprechenden Untersuchungen sind pro Warenlos 5 Proben zu berücksichtigen. Zwei davon dürfen 10000 KBE pro Gramm («m») überschreiten, keine jedoch 100000 KBE pro Gramm («M»). Hier handelt es sich um einen 3-Klassenplan mit einem quantitativen Testverfahren.

2.1.2.6 Abweichen von Probenahmeplänen

Untersuchungen nach Probenahmeplänen können sich sehr aufwendig gestalten, vor allem wenn die Anzahl zu untersuchender Proben («n») hoch ist. Artikel 60 der Hygieneverordnung sieht darum vor, dass unter gewissen Bedingungen von den rechtlichen Anforderungen abgewichen werden darf (5). Unter anderem kann der Umfang der zu tätigen Analysen reduziert werden, wenn sich mittels einer Dokumentation belegen lässt, dass die Produktesicherheit durch das HACCP-System gewährleistet ist. Weiter dürfen alternative Untersuchungskonzepte zur Anwendung gelangen, wenn diese nachweislich eine vergleichbare Wirkung erzielen, wie die in der Verordnung vorgeschriebenen Probenahmepläne.

2.2 Geräte und Hilfsmittel

Geräte und Hilfsmittel werden eingesetzt, um eine korrekte Probenahme zu ermöglichen oder zu erleichtern. Entnahmegерäte 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 (8). Tupfer, Wattestäbchen und Ähnliches können, falls notwendig, mit definierten Mengen 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 Verluste 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 (9).

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 also wesentlich von der Zielsetzung der Untersuchung abhängig: Geht es um die amtliche Lebensmittelkontrolle, um die privatwirtschaftliche Betriebsüberwachung im Rahmen der Selbstkontrolle, um ein Monitoring oder um die Aufklärung von Erkrankungsfällen? Daraus können unterschiedliche Probenahmepläne folgen (siehe Kap. 2.1).

2.3.2 Einzelne Probenahmetechniken

In der Regel ist eine aseptische Probenahme vorzusehen, aber bei zum direkten Verkauf bestimmter Ware kann es notwendig sein, betriebseigenes Besteck zu verwenden (z.B. Glacéportionierer), wenn man wissen will «wie der Konsument das Lebensmittel erhält».

Auf sämtliche Probenahmetechniken kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden. Neben Abschnitt 4 von Kapitel 56 des «alten» SLMB (8) und einschlägiger Fachliteratur (z.B. 10) wird besonders die Konsultation internationaler Normen empfohlen [z.B. ISO 17604:2003 (11), ISO 18593:2004 (12) und ISO/DIS 707 I IDF 50 (13)]. In diesen Normen sind Probenahme-Instrumente und ihre Verwendung (z.B. Käsebohrer), destruktive und nichtdestruktive Probenahmeverfahren sowie die Auswahl der Probenahmestellen (z.B. am Schlachtkörper) genau beschrieben.

Wichtige Grundprinzipien sind:

- Die mikrobiologische Probenahme erfolgt stets vor derjenigen für chemische oder andere Untersuchungen.
- Aseptische Probenahme: Probenkontaminationen durch defekte Packungen, unsachgemäße Öffnung, kontaminierte Probenahmewerkzeuge und Probenbehälter, durch die Hände oder aerogen bedingte Kontaminationen sind zu vermeiden.
- Während der Probenahme darf die vorhandene Keimzahl nicht verringert werden, z.B. durch unvollständiges Verdunsten lassen des Ethanol oder unvollständiges Erkalten lassen des Probenahmewerkzeuges 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, sollte aber in der Regel mindestens 100 g betragen. Die Menge einer Oberflächenprobe (z.B. Käserinde) kann geringer als 100 g sein (13). 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 soll eine Mischprobe aus mehreren Portionen von jeweils 10–50 g hergestellt werden.

Bei nichtdestruktiven Verfahren ist in der Regel eine Probefläche von mindestens 100 cm² abzudecken.

Inhomogene Proben sind, wenn möglich, als Ganzes zu erheben (z.B. Cremeschnitte).

2.3.4 Probenstabilisierung

Proben sind derart zu erheben und gegebenenfalls 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 Prüflabor verlangt), so muss sichergestellt sein, dass ihre Eigenschaften die nachfolgende Analyse nicht stören. Einsatz und Menge des Konservierungsstoffs müssen im Probenahme-Rapport notiert werden.

So sind z.B. bei Trinkwasser allfällige inhibitorische Mengen Chlor durch einen Zusatz von Natriumthiosulfat zu inaktivieren. Zu diesem Zweck wird den Probenflaschen vor dem Sterilisieren 0,1 ml Natriumthiosulfatlösung pro 100 ml Probenvolumen zugesetzt (9). 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.

2.3.5 Kennzeichnung und Probenahme-Rapport

Jede Probe ist sofort nach ihrer Erhebung eindeutig und unverwechselbar zu kennzeichnen.

Der Probenahme-Rapport sollte folgende Einzelheiten enthalten:

- Ort, Datum und falls relevant, Zeit der Probenahme
- Probeninhaber
- Grund der Probenahme
- Probenehmende Person und ggf. Zeugen
- Genaue Probenbeschreibung (z.B. Eigenschaften, Verpackung, Identifizierungscode des Warenloses, Produzent, Datum der Herstellung, angegebene Haltbarkeit und Aufbewahrungsbedingungen, Kerntemperatur eines Vergleichsproduktes, erhobene Menge/Stückzahl)
- Insgesamt vorhandene Menge
- Anlässlich der Probenahme allfällig zugegebene Hilfsmittel, wie Konservierungsstoffe, Puffer, Nährmedien
- Relevante Anmerkungen zu den Probenahmeumständen (Temperatur, Feuchtigkeit, sensorischer Zustand des Untersuchungsgutes, präzise Angabe der Probenahmetechnik, aufgetauchte Probleme)
- Adresse, wohin die Proben überbracht oder gesendet werden sollen

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. Sie sollen so rasch als möglich zur Untersuchung gebracht werden. Ausnahmen sind Haltbarkeitsbestimmungen, bei denen die Proben bis zur Analyse nach fixierten Zeitspannen unter definierten Bedingungen gelagert werden.

3.1 Rechtliche Aspekte

Die Verordnung des EDI über den Vollzug der Lebensmittelgesetzgebung hält in Artikel 85 «Transport» fest, dass Proben, zusammen mit dem Probenahmerapport, so aufbewahrt und transportiert werden müssen, dass das Untersuchungsergebnis nicht verfälscht wird (2).

3.2 Bestehende technische Leitlinien

Die Vollzugsverordnung legt lediglich die Grundanforderungen an den Transport von Proben fest. Einen Schritt weiter geht die Ausgabe 1985 von Kapitel 56 «Mikrobiologie» des Schweizerischen Lebensmittelbuches, wo zusätzlich folgende Anweisung gegeben wird (8):

«Leichtverderbliche und gekühlte Lebensmittel sind nicht bei über +5°C zu transportieren; sie dürfen nicht gefrieren.»

In der Ausgabe 2000 von Kapitel 56 «Mikrobiologie» wird der Transport nicht mehr direkt angesprochen und lediglich folgende Aussage gemacht:

«Proben sind derart zu erheben und gegebenenfalls aufzubewahren, dass der mikrobiologische Status nicht verfälscht werden kann» (9).

In der ISO-Norm 7218:1996 werden ebenfalls Anforderungen zu Transport, Empfangnahme und Lagerung von Proben festgehalten (14).

3.3 Probentransport

3.3.1 Allgemeine Anforderungen

Gewisse Prüfstellen erheben eigenständig Proben, so zum Beispiel betriebsinterne Laboratorien. Es sind auch Dienstleistungslaboratorien tätig, welche im Auftrag von Kunden integrale Aufträge von der Erhebung von Proben, über die Untersuchung bis hin zur Interpretation von Prüfergebnissen abwickeln. Beim Transport der Proben an den Ort der Untersuchung muss beachtet werden, dass der mikrobielle Status nicht verfälscht wird. Verfälschungen können sich durch Absterben oder Vermehrung von Keimen ergeben. Es liegt in der Eigenverantwortung der Proben erhebenden Prüfstelle zu beurteilen, ob für den Transport Massnahmen wie Tiefkühlung oder Kühlung zu treffen sind. Beachtet werden müssen die Art der zu transportierenden Proben (Verderblichkeit), die Umgebungstemperatur sowie die Transportzeit. Ebenfalls zu beachten sind die in der Hygieneverordnung für gewisse Lebensmittelkategorien vorgeschriebenen Kühltemperaturen. So muss Hackfleisch

beispielsweise bei 2°C und pasteurisierte Milch bei 5°C gelagert werden (5). 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 weiter 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 (in der Regel $\leq 5^\circ\text{C}$) erreicht ist. Werden an mehreren Standorten Proben erhoben, so ist die Temperatur der Kühleinrichtung jedesmal zu messen und festzuhalten. Es muss eine zur Temperaturmessung geeignete und kalibrierte Einrichtung (z.B. Infrarotthermometer, Temperaturlogger) eingesetzt werden.

Im Fahrzeug müssen die zur Probenahme geeigneten und sterilen Behältnisse und Instrumente vorhanden sein und ebenso die zur eindeutigen Kennzeichnung von Proben benötigten Utensilien.

Für den Fall, dass ein im Fahrzeug installierter Kühlschrank den Dienst versagt oder die benötigte Kühlleistung nicht erbringt, muss das entsprechende Vorgehen verbindlich geregelt sein.

In Fällen, wo nicht sicher beurteilt werden kann, ob in einer ungekühlten Probe eine Keimvermehrung erfolgen kann, sind vorsorglich alle zum bakteriologischen Untersuch erhobenen Proben bei $\leq 5^\circ\text{C}$ zu kühlen.

Wird Gefriergut erhoben, so ist sicherzustellen, dass dieses bis zum Eintreffen im Prüflabor gefroren bleibt. Dies kann beispielsweise durch eine im Fahrzeug eingebaute Tiefkühleinrichtung oder Mitführen ausreichender Mengen Trockeneis bewerkstelligt werden.

3.4 Probenversand

Häufig erhalten Laboratorien Proben von Kunden zugestellt, sei es durch Kurier oder per Post. Falls Mängel festgestellt werden, sollte dies den Kunden mitgeteilt werden. Proben sind derart zu versenden, 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 in Proben ein Keimwachstum während des Versandes stattfinden kann.

3.5 Probeneingang und erste Beurteilung

Bei von der Prüfstelle in Empfang genommenen Proben ist, falls relevant, die Temperatur zu messen und protokollieren. Weiter ist festzuhalten, ob die Probenmenge ausreichend ist, die Probenbehälter intakt sind und Kontaminationen durch die Umwelt ausgeschlossen werden können. Falls hinsichtlich dieser Punkte Abweichungen festgestellt werden, ist Rücksprache mit dem Auftraggeber zu nehmen, das Ausführen der Analyse zu verweigern und neues Probenmaterial zu verlangen (15). Falls dies nicht möglich ist und trotzdem eine Analyse vorgenommen werden muss, darf der Prüfbericht nur unter Vorbehalt und Vermerk der beim Probeneingang festgestellten Mängel abgegeben werden (15).

Beim Eingang der Proben werden diese mit einer eindeutigen, laboreigenen Bezeichnung versehen. Das verwendete System muss so ausgelegt sein, dass jederzeit die Rückführbarkeit auf die ursprüngliche Bezeichnung der Probe durch den Auftraggeber oder Kunden gewährleistet ist. Die Bezeichnung muss auch sicherstellen, dass in den folgenden Untersuchungsschritten jegliche Verwechslung ausgeschlossen ist. Ebenso ist das Eingangsdatum und falls relevant die Eingangszeit zu protokollieren.

3.6 Probenlagerung

In Räumlichkeiten, wo Proben entgegengenommen, gelagert und weiterverteilt werden, sollten die Platzverhältnisse so ausgelegt sein, dass die zum Ausschluss von Verwechslungen benötigte Übersichtlichkeit gewährleistet ist. 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 Analyse besteht. Dies gilt insbesondere für Proben aus dem Bereich der Primärproduktion. Unter Umständen ist eine Risikobeurteilung unter Einbezug von 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 die Prüfstelle 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 in der Prüfstelle untersucht werden. Bei längerer Lagerung unter Kühlung besteht die Gefahr, dass sich psychrotrophe Mikroorganismen vermehren oder gewisse 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 Kühlschranktemperaturen vermehren können.

4. Vorbereitung zur Analyse

Vielfach beginnt erst hier die «eigentliche Laborarbeit». Für die Beschreibung der einzelnen Schritte (Probensplitting, Entnahme des Untersuchungsgutes und Herstellung der Ausgangssuspension) gibt es viele Beispiele in der Literatur. An dieser Stelle werden in erster Linie folgende internationale Normen als Referenz verwendet: ISO/DIS 7218 (15), ISO 6887-1, -2, -3 & -4 (16), ISO/DIS 8261 (17).

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 des Untersuchungsgutes für die mikrobiologische Analyse findet zuerst statt. Bis zum Splitting muss die Probe so gelagert werden, dass der mikrobielle Status nicht verfälscht wird. Entsprechendes gilt für Rückstellmuster.

Dabei ist zu beachten, dass die chemischen Analyten nicht verändert werden (z.B. Analyse auf flüchtige Verbindungen oder Malachitgrün).

4.2 Entnahme des Untersuchungsgutes

Von der Probe [«laboratory sample», ISO 7002 (18)], die ins Labor gesendet wird, wird in der Regel ein Teil in der Analyse eingesetzt. Dies wird im Folgenden «Untersuchungsgut» benannt [«test portion», ISO 7002 (18)].

Grundsätzlich werden aseptische Techniken verwendet.

Sofern keine speziellen anderen Anforderungen bestehen, werden tiefgekühlte Proben bei max. 37°C so schnell wie möglich aufgetaut und untersucht (9).

Bei inhomogenen Proben sollte das Untersuchungsgut derart entnommen werden, dass die unterschiedlichen Komponenten wenn möglich entsprechend ihren Anteilen berücksichtigt werden (z.B. Weichkäse mit genussfertiger Rinde: 10% Rinde und 90% Teig). Es sind aber auch andere Anteilszusammensetzungen möglich, je nach Zielsetzung der Untersuchung. Daher muss grundsätzlich zwischen dem Auftraggeber und dem Labor eine Vereinbarung bestehen, welche Anteile der Probe untersucht werden sollen.

Manchmal ist es üblich, dass Proben gepoolt werden. So werden z.B. bei der bakteriologischen Untersuchung von Schlachtkörpern vor der Analyse die von den verschiedenen Stellen entnommenen Proben des zu beprobenden Schlachtkörpers entsprechend gepoolt und eine einzige Analyse durchgeführt (11).

Die Analyse von Poolproben kann allerdings problematisch werden, falls das Vorgehen nicht festgelegt ist oder keine Absprache mit dem Auftraggeber besteht. Für die Interpretation des Resultates ist es wichtig, dass ein genauer Beschrieb der Probenzusammensetzung vorliegt.

Von inhomogenen Proben werden nach Möglichkeit mindestens 40 g entnommen, von homogenen Proben mindestens 10 g oder 10 ml (je nach Angaben des spezifischen Probenvorbereitungs-Standards).

Werden qualitative Methoden verwendet, sollten in der Regel mindestens 25 g entnommen werden (5, 19).

4.3 Herstellung der Ausgangssuspension

Zur Herstellung der Ausgangssuspension ist in der Regel ein Homogenisierungsschritt (Ausnahme: homogene Flüssigkeiten) mit dem entnommenen Untersuchungsgut und ein Verdünnungsschritt mit einer Verdünnungslösung notwendig. Die daraus resultierende Ausgangssuspension ist meistens eine 1:10 Verdünnung (in der Regel 10 g oder ml homogenes Untersuchungsgut + 90 g oder ml Verdünnungslösung).

Die Ausgangssuspension wird entweder als Erstanreicherungsmedium verwendet (qualitative Verfahren) oder es werden aus ihr weitere dezimale Verdünnungen hergestellt (quantitative Verfahren).

Hinsichtlich Homogenisation und Verdünnung sind ebenfalls die relevanten Normen zu konsultieren (v.a. 15, 16, 17). Dabei ist besonders zu beachten, dass je nach Matrix und Untersuchungskeim unterschiedlich verfahren werden kann oder werden muss. Beispiele sind das Schmelzen von Butter (17), die Verwendung von Natriumcitrat bei der Verdünnung von Käse (17), oder die Verwendung spezieller Erstanreicherungsmedien beim Salmonellennachweis von Kakao und kakaohaltigen Produkten sowie sauren oder säuernden Produkten (20). Werden Lebensmittelzusätze untersucht, die inhibitorische Substanzen (z.B. Zwiebelpulver, Knoblauch, Origano, Pfeffer, bestimmte Teesorten und Kaffee) enthalten, so müssen grössere Verdünnungen (z.B. 1/100 für Zimt und Origano, 1/100 für Gewürznelken) verwendet werden oder K_2SO_4 zum gepuffertem Peptonwasser zu einer Endkonzentration von 0,5 % zugegeben werden (16, part 4).

1. Introduction

Ces dernières années, des études intensives se sont consacrées à la validation et l'estimation de l'incertitude de mesure dans le domaine des méthodes d'analyses microbiologiques. Dans ce contexte, un guide correspondant à ces chapitres a été publié en 2005 pour le domaine de la microbiologie alimentaire et de l'environnement, sans toutefois considérer la partie pré-analytique. Avec une offre croissante de tests d'aptitude (études comparatives de laboratoires) et de matériaux de référence, la réalisation d'une analytique fiable et de bonne traçabilité devrait être réalisable.

Malgré cela, on trouve toujours et encore de grandes divergences entre les résultats de différents laboratoires ou des écarts significatifs par rapport aux valeurs cibles des matériaux de référence. La partie pré-analytique demeure un point faible à cet égard. La plus grande source d'erreur, qui est dans la plupart des cas sous-estimée, réside dans le processus d'échantillonnage. Les étapes parfois très complexes entre la prise de l'échantillon sur place et la pesée de la prise d'essai au laboratoire, ne sont pas communiquées suffisamment en détail au laboratoire. Les facteurs et leur influence sur l'échantillon et les paramètres à analyser ne sont pas assez connus. Une normalisation fait aussi largement défaut. Il est indispensable que les échantillons à analyser soient prélevés, transportés et préparés à l'analyse de telle manière qu'ils soient constamment représentatifs de l'ensemble du matériel à tester (lot de marchandise).

Le type d'échantillonnage, en particulier la quantité d'échantillon, est essentiellement déterminé par les objectifs de l'analyse. Des procédés différents peuvent s'imposer selon qu'il s'agit d'analyses officielles exécutées selon un plan d'échantillonnage élémentaire, d'examen épidémiologiques ou d'un monitoring.

La partie pré-analytique des analyses peut se diviser selon les 3 étapes suivantes.

- Prise d'échantillon
- Transport et entreposage
- Préparation pour l'analyse

2. Prise d'échantillon

En principe il faut procéder de manière à ce que l'échantillon conserve son statut microbiologique autant que possible inchangé. Les échantillons destinés aux analyses microbiologiques ne devraient être prélevés que par des personnes formées de manière appropriée.

2.1 Plans d'échantillonnage

2.1.1 Aspects légaux

Les exigences liées au prélèvement des échantillons par les autorités cantonales (Laboratoires cantonaux) du contrôle des denrées alimentaires sont réglées dans l'Ordonnance du DFI pour l'exécution de la Loi sur les denrées alimentaires (2). De nombreuses marches à suivre mentionnées dans cette ordonnance décrivent une

«bonne pratique d'échantillonnage», indiquant des manières scientifiquement admissibles, valables également pour des institutions qui ne sont pas soumises à l'ordonnance. L'article 78 «Prélèvement des échantillons» mentionne qu'en règle générale, on prélève un échantillon élémentaire par marchandise. L'article 79 «Plans d'échantillonnage» mentionne que les organes de contrôle peuvent prélever plusieurs échantillons sur un lot de marchandises selon un plan d'échantillonnage. Cette démarche peut être suivie en particulier s'il y a lieu de supposer que le produit n'est pas conforme, en tout ou en partie, à la législation sur les denrées alimentaires, ou si le but de l'analyse ne peut pas être atteint par des prélèvements isolés. Dans le contexte des plans d'échantillonnage, la notion très importante de «lot de marchandise» est définie dans l'Ordonnance du DFI sur l'étiquetage et la publicité des denrées alimentaires (OEDAI) (3). Selon ce texte, par lot de marchandise on entend un ensemble d'unités de production ou de vente d'une denrée alimentaire produite, fabriquée ou conditionnée dans des circonstances pratiquement identiques. D'une bonne utilité pratique, la description de la notion «lot de marchandise» dans l'ordonnance sur le prélèvement d'échantillons de denrées alimentaires et d'objets usuels (OPE), entre-temps abrogée, est également mentionné dans le présent guide (4). Selon cette ordonnance passée, les lots de marchandise sont des ensembles déterminés et définissables de produits (p. ex. lots d'importation, charges de fabrication, stocks) qui vont ensemble sur la base de leur marquage (numéro de charge, date de fabrication etc.), de leur origine, de leurs matières premières ou du moment et de leur type de mise en circulation.

Par le passé, les laboratoires cantonaux ont effectué les analyses microbiologiques presque exclusivement dans des échantillons élémentaires uniques. Cette manière reposait sur la réflexion de pouvoir effectuer, avec les moyens disponibles, des analyses dans un maximum de lots de marchandises. C'était aussi logique, car les activités de contrôle s'effectuent en grande partie dans les domaines de la gastronomie et du commerce de détail. Si des plans d'échantillonnage étaient utilisés, les laboratoires cantonaux les avaient fixés sans l'aide des autorités fédérales. Dans les grandes entreprises alimentaires, en particulier celles qui sont actives dans le commerce international, on fait appel plus fréquemment aux plans d'échantillonnage dans le cadre de l'autocontrôle.

L'effort des autorités fédérales suisses vers une équivalence des lois, dans le commerce des denrées alimentaires d'origine animale avec l'Union européenne (UE), a entraîné que la législation nationale devait être adaptée. Parmi d'autres, les critères microbiologiques de l'UE ont été incorporés dans une plus large mesure dans l'ordonnance sur l'hygiène et ainsi nos propres valeurs de tolérance ou limite ont été éliminées, remplacées ou modifiées. Une partie de ces critères est maintenant couplée impérativement à des plans d'échantillonnage (5).

2.1.2 Aspects techniques

2.1.2.1 Généralités

Afin d'arriver à une qualité hygiénique suffisante des denrées alimentaires, il ne suffit pas de suivre les bonnes pratiques de fabrication (BPF), ni de mettre en oeuvre des analyses microbiologiques sporadiques. Il s'agit davantage d'identifier les dangers spécifiques aux produits, d'estimer les risques qui en découlent et de fixer les mesures pour les maîtriser. En règle générale, on se base sur un système appelé Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP). L'analytique microbiologique occupe une place importante dans le contexte général de ce système de sécurité, que ce soit pour l'examen de la qualité des matières premières ou lors des contrôles de produits finis (vérifications). Pour une charge de marchandise, la valeur d'une analytique et des conclusions que l'on peut en tirer dépend clairement du nombre d'échantillons examinés. Plus il y a d'échantillons analysés par unité, plus la probabilité est grande de découvrir un possible micro-organisme indésirable. Le nombre d'échantillons devant être analysés dépend entre autres de la taille d'un lot de marchandise à tester, de son homogénéité et de la fréquence du paramètre à déterminer. Les schémas d'analyses proposés dans ce but sont appelés plans d'échantillonnage. Dans ce domaine, les travaux et recommandations de l'«International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)» donnent la direction à prendre (6).

2.1.2.2 Plans d'organisation par classes

2.1.2.2.1 Plan à 2 classes

Dans un plan à 2 classes, l'application concerne la plupart du temps les analyses de présence/absence. On les utilise dans la détection de pathogènes comme par exemple les salmonelles.

2.1.2.2.2 Plan à 3 classes

Dans les plans à 3 classes, on comprend aussi l'application de méthodes quantitatives, dans lesquelles on se base sur des nombres de micro-organismes acceptables ou un nombre limite exprimé par gramme ou par millilitre. Dans ces cas, seul un nombre donné d'échantillons peut atteindre la valeur limite sans la dépasser.

2.1.2.3 Paramètres des plans de classes (7)

k: classe

n: nombre d'échantillons à prélever et à analyser par lot de marchandise [ou conformément à l'ordonnance sur l'hygiène du DFI (5)] nombre d'unités d'échantillons élémentaires de l'échantillon)

m: Nombre de micro-organismes acceptables par gramme ou par millilitre

M: Nombre limite de micro-organismes permis par gramme ou par millilitre

- c: – (plan à 2 classes): nombre le plus élevé d'échantillons, dans lesquels le «m» peut être dépassé
- (plan à 3 classes): nombre le plus élevé d'échantillons, dans lesquels «m» peut être dépassé, mais dans lesquels le «M» ne peut pas être dépassé.

Des plans d'échantillonnage peuvent aussi se baser sur d'autres quantités d'échantillon que 1 g ou 1 ml (p. ex. 25 g). En comparaison avec l'ordonnance sur l'hygiène légale (5) en Suisse, le «m» se rapporte à la valeur de tolérance et le «M» à la valeur limite. Les valeurs limite sont des critères de sécurité alimentaire, les valeurs de tolérance pouvant être des critères microbiologiques d'hygiène pour les produits finis prêts à la consommation ou pour des processus de fabrication.

2.1.2.4 Élaboration d'un plan d'échantillonnage

Des réflexions microbiologiques, épidémiologiques, médicales et statistiques précèdent l'élaboration d'un plan d'échantillonnage. De cette manière, on prend en considération quelle menace provient des produits alimentaires à contrôler et quelle est la composition du groupe cible des consommateurs. Un facteur à considérer est aussi le degré du danger que représente un micro-organisme à exclure. Selon le degré de risque, 5, 10, 15, 20, 30 ou 60 analyses en parallèle doivent être effectuées. De plus amples explications ne sont pas fournies dans ce document, mais on se réfère à la vaste littérature spécialisée, en particulier au travail de normalisation correspondant de l'ICMSF (6).

2.1.2.5 Exemples de plans d'échantillonnage

Les plans suivants ont été prescrits par l'UE et incorporés au droit suisse (4). Dans le cadre du contrôle officiel des denrées alimentaires, les 3 exemples suivants peuvent aussi être appliqués comme échantillonnage élémentaire unique. Toutefois, le résultat négatif d'une analyse particulière ne permet de tirer aucune conclusion sur le lot entier de marchandise. Dans l'exemple cité sous 2.1.2.5.3, on ne peut pas contester un dépassement de «m», mais le résultat donne néanmoins une indication que des problèmes pourraient exister.

2.1.2.5.1 Denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de *Listeria monocytogenes*

$$k=2/n=5/c=0/m=M=100 \text{ UFC/g}$$

Pour les analyses correspondantes, 5 échantillons doivent être pris en considération par lot de marchandise. Parce que seulement «m» a été déterminé et que «c» est zéro, aucun de ces échantillons ne doit contenir plus de 100 UFC/g de *L. monocytogenes*. Dans cet exemple, il s'agit d'un plan à 2 classes avec une méthode quantitative.

2.1.2.5.2 *Enterobacter sakazakii* dans des aliments pour nourrissons

$$k=2/n=30/c=0/m=M=\text{non détectable dans 10 grammes}$$

Pour les analyses correspondantes, 30 échantillons doivent être examinés par lot de marchandise. Parce que seulement «M» a été déterminé et que «c» est zéro,

E. sakazakii ne doit être détectable dans aucun des 30 échantillons. Dans ce cas, il s'agit d'un plan à 2 classes combiné avec un test d'absence ou de présence. Le nombre élevé d'échantillons de 30 («c») est en rapport avec les personnes très sensibles (nourrissons) qui doivent être protégées.

2.1.2.5.3 Staphylocoques à coagulase positive dans des fromages au lait cru

$$k=3/n=5/c=2/m=10000 \text{ UFC/g}/M=100000 \text{ UFC/g}$$

Dans ces analyses, 5 échantillons sont à examiner par lot de marchandise. 2 d'entre eux peuvent dépasser 10000 UFC/g («m»), mais aucun ne doit dépasser 100000 UFC/g («M»). Il s'agit ici d'un plan à 3 classes avec une méthode quantitative.

2.1.2.6 Déviation de plans d'échantillonnage

Les analyses qui dépendent d'un plan d'échantillonnage peuvent s'avérer très laborieuses, en particulier si le nombre «n» d'échantillons à analyser est élevé. L'article 60 de l'ordonnance sur l'hygiène prévoit que dans des conditions données, il est permis de dévier des exigences légales (5). Ainsi le nombre d'analyses à effectuer peut être réduit, lorsque par une documentation établie, il est possible d'assurer la sécurité du produit au moyen du système HACCP. Des concepts analytiques alternatifs peuvent en outre être appliqués lorsqu'ils aboutissent à un effet démontrable comparable à ceux décrits dans les plans d'échantillonnage de l'ordonnance.

2.2 Appareils et accessoires

On utilise des appareils et des accessoires pour réaliser une prise d'échantillon correcte ou pour la faciliter. Les outils de prélèvement comme les cuillers, les louches, les sondes, les cylindres, les forets, les pipettes, les mesureurs, les cisailles, les brucelles, les grattoirs, les agitateurs, etc. doivent être propres, stériles et secs. Ils doivent être transportés dans des emballages stériles et étanches aux contaminations (8). Pour des examens quantitatifs, les écouvillons, les tiges de coton et analogues peuvent si nécessaire être humectés avec un volume restreint et défini de liquide stérile.

Les récipients d'échantillons en verre, en matière synthétique ou en métal doivent être stériles et libres de substances ayant un effet inhibiteur sur les analytes, ou pouvant provoquer une dilution indésirable. Ils doivent pouvoir se fermer de telle manière qu'aucune contamination ne puisse s'y produire et qu'aucune perte d'échantillon ne soit possible.

2.3 Technique d'échantillonnage

Le statut microbiologique d'un aliment change lors de la fabrication, de l'entreposage, de l'emballage, du transport et de la distribution au consommateur. Les échantillons doivent être prélevés et conservés de telle manière que l'état microbiologique ne puisse pas être faussé (9).

De ce principe important découlent les recommandations particulières de technique de prélèvement décrits dans ce chapitre.

2.3.1 Objectifs de la prise d'échantillons

Le choix du matériel même de l'échantillon et le moment de l'échantillonnage dépend donc fortement de l'objectif de l'analyse: s'agit-il du contrôle officiel des denrées alimentaires, de la surveillance d'exploitations privées dans le cadre d'un auto-contrôle, d'un monitoring ou d'une clarification lors de cas de maladie? Selon les cas, des plans d'échantillonnage différents sont mis en œuvre (voir Chap. 2.1).

2.3.2 Techniques d'échantillonnage isolées

Dans la règle, il faut prévoir un échantillonnage aseptique, mais dans le cas de vente directe de certaines marchandises, il peut s'avérer nécessaire d'utiliser les ustensiles de l'exploitation (par exemple: louches à glaces), lorsque l'on veut savoir «comment le consommateur reçoit la denrée alimentaire».

Il n'est pas possible ici de mentionner toutes les techniques d'échantillonnage. Outre le paragraphe 4 du Chapitre 56 de l'«ancien» MSDA (8) et de la littérature spécialisée (p. ex. 10), la consultation des normes internationales est recommandée [p. ex. ISO 17604:2003 (11), ISO 18593:2004 (12) et ISO/DIS 707 I IDF 50 (13)]. Dans ces normes, on décrit exactement les instruments de prélèvement et leur application (p. ex. emporte-pièce pour fromages), les méthodes de prélèvements destructives et non-destructives, le choix de l'endroit de prélèvement (p. ex. sur carcasses à l'abattoir).

Les principes de base importants sont:

- la prise d'échantillon pour la microbiologie a lieu toujours avant celle destinée aux examens chimiques ou autres.
- prise d'échantillon aseptique: il faut éviter les contaminations de l'échantillon causées par un emballage défectueux, par une ouverture non-conforme et par des appareils de prélèvement et des récipients, ces derniers pouvant être souillés par les mains; de même, les contaminations aérogènes doivent être évitées.
- lors du prélèvement, le nombre de micro-organismes présents ne doit pas être diminué, p. ex. par l'évaporation incomplète d'éthanol, ou par la chaleur de l'outil de prélèvement insuffisamment refroidi après son passage à la flamme.
- lors de méthodes invasives, selon le problème posé, il peut s'avérer nécessaire d'écarter la couche superficielle aseptiquement avant le prélèvement effectif de l'échantillon.

2.3.3 Quantité de matériel à prélever

La quantité d'échantillon à prélever dépend du but de l'analyse, mais devrait être en règle générale au minimum de 100 g. La quantité d'échantillon de surface (p. ex. croûte de fromage) peut être inférieure à 100 g (13). Dans tous les cas, il faut considérer particulièrement l'homogénéité de l'échantillon et effectuer le prélèvement en conséquence. Des produits emballés devraient si possible être prélevés dans l'embal-

lage original; à partir d'une marchandise en vrac, il faut réaliser un échantillon mélangé de plusieurs portions de 10–50 g.

Dans le cas d'échantillonnages non-destructifs, il faut couvrir une surface d'échantillon de 100 cm² au minimum.

Dans la mesure du possible, il faut prélever des échantillons inhomogènes en entier (p. ex. millefeuilles).

2.3.4 Stabilisation de l'échantillon

Les échantillons doivent être prélevés et conservés d'une telle manière que l'état microbiologique ne puisse pas être faussé.

En règle générale, il n'est pas permis d'ajouter des agents conservateurs dans les échantillons destinés à l'analyse microbiologique. Si l'adjonction de ces substances est malgré tout exigée (p. ex. par le laboratoire), il faut alors s'assurer que leurs propriétés ne dérangent pas l'analyse à laquelle l'échantillon est destiné. L'utilisation et la quantité de l'agent conservateur ajouté doivent figurer dans le rapport d'échantillonnage.

Dans le cas de l'eau potable, les excès de chlore possiblement inhibiteurs doivent être inactivés par l'adjonction de thiosulfate de sodium. Dans ce but, on ajoute avant la stérilisation 0,1 ml de solution de thiosulfate de sodium par 100 ml de volume d'échantillon dans les flacons d'échantillons (9). La congélation de l'échantillon jusqu'au moment de l'analyse n'est permise que si des analyses ont montré au préalable et de manière représentative que le paramètre à déterminer n'était pas modifié de manière significative.

2.3.5 Désignation et rapport d'échantillonnage

Immédiatement après son prélèvement, chaque échantillon doit être identifié clairement et sans ambiguïté.

Le rapport d'échantillonnage doit comporter les points spécifiques suivants :

- lieu, date, et si nécessaire heure du prélèvement
- propriétaire
- motif de l'échantillonnage
- échantillonneur et éventuellement témoins présents
- description exacte de l'échantillon (p. ex. propriétés, emballage, code d'identification du lot de marchandise, producteur, date de fabrication, durée et conditions de conservation, température intérieure d'un produit comparable, quantité prélevée, nombre d'unités)
- quantité totale disponible
- tous les matériaux et ustensiles nécessaires à l'échantillonnage, tels les agents conservateurs, les tampons, les milieux de culture
- toute remarque importante concernant les conditions d'échantillonnage (température, humidité, état sensoriel de la marchandise à analyser, indications précises de la technique d'échantillonnage, problèmes survenus)
- adresse à laquelle les échantillons doivent être apportés ou envoyés

3. Transport, expédition, réception et entreposage des échantillons

L'objectif fixé est de transporter et d'entreposer les échantillons de telle manière que les résultats d'analyses ne soient si possible pas faussés. Ils doivent être analysés aussi rapidement que possible. Les déterminations de la durée de conservation sont une exception dans laquelle les échantillons sont stockés dans des conditions définies jusqu'au moment fixé pour leur analyse.

3.1 Aspects juridiques

L'ordonnance du DFI sur l'exécution de la loi sur les denrées alimentaires mentionne dans son article 85 «Transport» que l'échantillon accompagné de son rapport d'échantillonnage doit être conservé et transporté de telle manière que le résultat d'analyse ne soit pas faussé (2).

3.2 Lignes directrices techniques existantes

L'ordonnance d'exécution fixe seulement les exigences de base concernant le transport des échantillons. Le chapitre 56 du MSDA dans sa version de 1985 va plus loin en donnant en plus les instructions suivantes (8):

«Les denrées alimentaires facilement périssables et les produits réfrigérés ne doivent pas être transportés à plus de +5 °C, ils ne doivent pas être congelés».

Dans son édition de 2000, le chapitre 56 «Microbiologie» ne mentionne plus le transport directement mais affirme seulement que :

«Les échantillons doivent être prélevés et conservés de telle manière que l'état microbiologique ne puisse pas être faussé» (9).

Dans la norme ISO 7218:1996 les exigences concernant le transport, la réception et l'entreposage des échantillons sont également prescrites (14).

3.3 Transport d'échantillons

3.3.1 Exigences générales

Certains laboratoires d'essai prélèvent des échantillons de manière autonome, ainsi par exemple les laboratoires d'entreprise. Certains laboratoires de service proposent également des contrats intégraux à leurs clients, incluant tous les travaux de l'échantillonnage aux analyses, et se terminant par l'interprétation des résultats. Lors du transport des échantillons jusqu'au lieu de l'analyse, il faut faire attention à ce que le statut microbiologique ne soit pas faussé. Les altérations peuvent se produire par disparition ou surtout par multiplication de micro-organismes. Le laboratoire d'essai qui reçoit l'échantillon a la responsabilité de juger si des mesures telles la réfrigération ou la congélation sont nécessaires pour le transport. Il faut prendre en considération le type d'échantillons à transporter (caractère périssable), la température ambiante ainsi que la durée du transport. Il faut aussi tenir compte des températures prescrites par l'ordonnance sur l'hygiène pour certaines catégories de denrées alimentaires. Ainsi la viande hachée doit, par exemple, être entreposée à 2 °C et

le lait pasteurisé à 5 °C (5). Des écarts à ces directives légales ne sont autorisés que s'il est démontré, sur la base d'une évaluation des risques, qu'une altération du statut microbiologique peut être exclue.

3.3.2 Exigences concernant l'équipement des véhicules transportant les échantillons

Dans certaines circonstances, les échantillons doivent être prélevés dans une localité éloignée, de sorte que l'utilisation d'un véhicule est nécessaire. Ce dernier doit être équipé au besoin d'installations frigorifiques, de sorte que les exigences générales retenues sous 3.3.1 soient réalisées. Si un tel véhicule est équipé d'un réfrigérateur, le refroidissement devrait être aussi garanti lorsque le véhicule s'arrête. Avant que le premier échantillon ne soit transféré dans le réfrigérateur, il faut vérifier que la température de fonctionnement nécessaire (généralement ≤ 5 °C) soit atteinte. Si des échantillons sont prélevés en plusieurs endroits, la température des installations réfrigérées doit être mesurée à chaque fois et documentée. La mesure de la température doit être effectuée à l'aide d'un instrument approprié étalonné (p. ex. thermomètre à infra-rouge ou logger de température).

Dans le véhicule, les récipients et instruments stériles appropriés à l'échantillonnage doivent être disponibles de même que les ustensiles nécessaires au marquage clair des échantillons.

Au cas où un réfrigérateur installé dans le véhicule tombe en panne ou ne fournit pas le refroidissement nécessaire, la procédure à suivre doit être obligatoirement réglée.

Lorsqu'il n'est pas possible de juger avec certitude qu'une multiplication du nombre de micro-organismes aura lieu dans certains produits alimentaires non refroidis, par précaution tous les échantillons destinés aux analyses bactériologiques seront refroidis à ≤ 5 °C.

Si l'échantillon de marchandise est congelé, il faut garantir que celui-ci reste congelé jusqu'à l'arrivée dans le laboratoire d'essai. Ceci peut être assuré par exemple par une installation de congélation dans le véhicule ou par des quantités suffisantes disponibles de neige carbonique.

3.4 Expédition des échantillons

Fréquemment, les laboratoires reçoivent des échantillons envoyés par des clients, que ce soit par service de courrier ou par poste. Si des lacunes sont constatées, il faudrait les communiquer aux clients. Les échantillons doivent être expédiés de telle manière que le statut microbiologique ne puisse pas être modifié. Concrètement, cela signifie que des contaminations de l'environnement doivent être exclues au moyen de récipients d'échantillons et de matériel d'emballage appropriés. Si nécessaire, des mesures comme une réfrigération peuvent empêcher qu'une croissance de germes se produise dans les échantillons pendant l'expédition.

3.5 Réception des échantillons et première évaluation

Si nécessaire, il faut mesurer et enregistrer la température dans les échantillons reçus par le laboratoire d'essai. Il faut en outre s'assurer que la quantité d'échantillon est suffisante, que les récipients d'échantillons sont intacts et que des contaminations par l'environnement peuvent être exclues. Si, pour ces points, des lacunes sont remarquées, il faut consulter le donneur d'ordre, renoncer à effectuer l'analyse et exiger un nouvel échantillon (15). Si ce n'est pas possible, et que malgré tout une analyse est effectuée, le rapport d'essai ne peut être délivré que sous réserve, avec la mention des manquements constatés à la réception de l'échantillon (15).

A leur réception, les échantillons sont marqués clairement avec l'identité propre au laboratoire. Le système utilisé doit être conçu de telle sorte qu'à tout moment la traçabilité soit garantie pour le donneur d'ordre ou le client sur l'appellation originale à l'échantillon. L'identification doit aussi garantir que toute erreur soit exclue dans les étapes d'analyses suivantes. La date de réception, de même que l'heure si c'est pertinent, doivent être enregistrées dans le procès-verbal.

3.6 Entreposage des échantillons

Dans les locaux où les échantillons reçus sont stockés et redistribués aux laboratoires, les places doivent être attribuées de telle sorte que la clarté nécessaire à l'exclusion des erreurs soit garantie. L'air à l'intérieur du local ne doit pas être entravé de manière à ce que des contaminations d'échantillons soient possibles ou qu'une autre influence puisse altérer le résultat d'analyse (p. ex. aération, ventilateurs, climatiseurs, autre matériel stocké). Cela vaut en particulier pour des échantillons du secteur de la production primaire. Si les circonstances s'y prêtent, une évaluation des risques incluant les dénombrements de micro-organismes dans l'air ambiant doit être entreprise.

Les échantillons doivent être stockés de façon satisfaisante jusqu'à l'analyse. Avec des marchandises facilement périssables, la chaîne frigorifique ne peut être interrompue que durant le temps nécessaire au laboratoire d'essai pour le contrôle à la réception et à l'enregistrement.

Si des échantillons sont fractionnés (par exemple pour des analyses microbiologiques et chimiques), il faut procéder de telle manière que le statut microbiologique ne soit pas modifié (voir 4.1).

Lorsqu'une augmentation des bactéries est attendue dans des échantillons, ils doivent être examinés si possible dans un délai de 24 heures après leur arrivée au laboratoire d'essai. Lors d'un stockage prolongé sous réfrigération, le danger existe que des micro-organismes psychrotrophes se multiplient et que certains types de micro-organismes meurent.

Dans l'éventualité d'une répétition d'analyse, les échantillons doivent être stockés de telle sorte qu'ils ne puissent ni être contaminés par d'autres échantillons, ni que leur statut microbien soit modifié. Il faut considérer que quelques micro-organismes, comme p. ex. des *Listeria*, peuvent aussi se multiplier aux températures du réfrigérateur.

4. Préparation pour l'analyse

Bien souvent, c'est ici que débute le travail effectif du laboratoire. Il existe de nombreux exemples dans la littérature concernant la description des étapes individuelles (fractionnement des échantillons, prélèvement de prise d'essai, confection de la suspension de base). Les normes internationales suivantes servent de références à ce sujet: ISO/DIS 7218 (15), ISO 6887-1, -2, -3 & -4 (16), ISO/DIS 8261 (17).

4.1 Fractionnement des échantillons

Si des analyses microbiologiques et chimiques sont demandés pour un même échantillon, il faut que le fractionnement nécessaire ait lieu impérativement dans des conditions aseptiques. Cela signifie que le prélèvement pour l'analyse microbiologique doit se faire en premier. Jusqu'au moment du fractionnement, l'échantillon doit être stocké de telle sorte que le statut microbien ne soit pas altéré. Ceci est aussi valable pour les échantillons de réserve.

Il faut aussi veiller à ce que les analytes chimiques ne soient pas modifiés (p. ex. analyse de composés volatiles ou de vert malachite).

4.2 Prélèvement de la prise d'essai

Seule une partie de l'échantillon [«laboratory sample», échantillon pour laboratoire, ISO 7002 (18)], envoyé au laboratoire est en règle générale utilisée dans l'analyse. Dans ce qui suit, cette fraction est appelée prise d'essai [«test portion», ISO 7002 (18)].

En principe, on applique des techniques aseptiques.

Pour autant qu'aucune autre spécification ne soit prescrite, les échantillons congelés sont dégelés à maximum 37°C et analysés aussi rapidement que possible (9).

Avec des échantillons hétérogènes, la prise d'essai devrait être prélevée de telle manière que les différentes composantes soient présentes si possible conformément à leurs portions respectives (p. ex. fromages à pâte molle avec croûte consommable: 10% de croûte et 90% de pâte). D'autres compositions de parts sont aussi possibles, selon l'objectif de l'analyse. Pour cette raison, il faudrait définir, par convention entre le client et le laboratoire, quelles parts de l'échantillon doivent être examinées.

Il est parfois d'usage que des échantillons soient mis en commun ou «poolés». Ainsi p.ex. les examens bactériologiques de carcasses d'animaux se déroulent sur des prélèvements effectués sur différentes parties de la carcasse, qui sont ensuite rassemblées en un seul échantillon poolé, dans lequel l'analyse est effectuée (11).

L'analyse de tels échantillons poolés peut poser problème lorsque la démarche n'est pas précisée ou qu'il n'y a pas eu d'accord avec le client. Pour l'interprétation du résultat, il est important qu'une description de la composition de l'échantillon soit disponible.

Pour des échantillons hétérogènes, il faudrait si possible prélever au moins 40 g, pour les échantillons homogènes au moins 10 g ou 10 ml (selon les indications de la norme de préparation d'échantillon spécifique).

Pour des méthodes qualitatives, on devrait généralement prélever au moins 25 g (5, 19).

4.3 Confection de la suspension de base

En règle générale, pour réaliser une suspension de base, une étape de dilution et d'homogénéisation entre la prise d'essai et une solution est nécessaire (exception: liquides homogènes). La suspension de base initiale résultant de cette étape est la plupart du temps une dilution de 1:10 (généralement 10 g ou ml de prise d'essai homogène + 90 g ou ml de solution de dilution).

La suspension de base est utilisée soit en tant que milieu de pré-enrichissement (analyses qualitatives), soit comme point de départ des dilutions décimales suivantes (analyses quantitatives).

En ce qui concerne l'homogénéisation et la dilution, les normes correspondantes doivent également être consultées (15, 16, 17). Il faut considérer particulièrement que selon la matrice et le micro-organisme recherché, le processus peut ou doit même être différent. Les exemples sont la fonte du beurre (17), l'utilisation de citrate de sodium lors de la dilution des fromages (17) ou l'utilisation de milieux de pré-enrichissement spéciaux pour la détection de Salmonelles dans le cacao et des produits contenant du cacao, ou dans des produits acides ou acidifiants (20). Dans l'analyse des additifs de denrées alimentaires contenant des substances inhibitrices (p. ex. poudres d'oignon, d'ail, d'origan, de poivre et certaines variétés de thé ou de café), il faut réaliser des dilutions plus élevées (p. ex. 1/100 pour la cannelle et l'origan, 1/100 pour les clous de girofle), alternativement une adjonction de K_2SO_4 à l'eau peptonée tamponnée à une concentration finale de 0,5 % est admise (16, part 4).

Key words

Microbiology; pre-analytic; sampling; food-control; guideline

5. Literatur/Bibliographie

- 1 Europäische Union: Guidance Document on official controls, under Regulation (EC) No 882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs, 2006 Union Européenne: Guidance Document on official controls, under Regulation (EC) No 882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs, 2006
- 2 Das Eidgenössische Departement des Innern: Verordnung des EDI über den Vollzug der Lebensmittelgesetzgebung vom 23. November 2005, Stand am 27. Dezember 2005 (SR 817.025.21). Bundesamt für Bauten und Logistik, 3003 Bern
Département fédéral de l'intérieur: Ordonnance du DFI du 23 novembre 2005 sur l'exécution de la législation sur les denrées alimentaires, état au 27 décembre 2005, (SR 817.025.21) Office fédéral des constructions et de la logistique (OFCL), 3003 Berne
- 3 Das Eidgenössische Departement des Innern: Verordnung des EDI über die Kennzeichnung und Anpreisung von Lebensmitteln vom 23. November 2005, Stand am 27. Dezember 2005 (LKV, SR 817.022.21). Bundesamt für Bauten und Logistik, 3003 Bern
Département fédéral de l'intérieur: Ordonnance du DFI du 23 novembre 2005 sur l'étiquetage et la publicité des denrées alimentaires (OEDAL), état au 27 décembre 2005, (SR 817.022.21). Office fédéral des constructions et de la logistique (OFCL), 3003 Berne
- 4 Der Schweizerische Bundesrat: Verordnung über die Probenerhebung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen vom 4. Juni 1984, Stand am 1. Juli 1995 (Probenerhebungsverordnung; PEV; SR 817.94; ausser Kraft gesetzt). Bundesamt für Bauten und Logistik, 3003 Bern
Conseil fédéral suisse: Ordonnance sur le prélèvement d'échantillons de denrées alimentaires et d'objets usuels (OPE), du 4 juin 1984, état au 1^{er} juillet 1995 (Ordonnance sur l'échantillonnage; SR 817.94; abrogé). Office fédéral des constructions et de la logistique (OFCL), 3003 Berne
- 5 Das Eidgenössische Departement des Innern: Hygieneverordnung des EDI vom 23. November 2005, Stand am 15. November 2006 (HyV; SR 817.024.1). Bundesamt für Bauten und Logistik, 3003 Bern
Département fédéral de l'intérieur: Ordonnance du DFI sur l'hygiène du 23 novembre 2005 (OHyg), état au 15 novembre 2006, (SR 817.024.1). Office fédéral des constructions et de la logistique (OFCL), 3003 Berne
- 6 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
(<http://www.foodscience.afisc.csiro.au/icmsf/icmsf2.pdf>)
- 7 *Pichhardt K*: Lebensmittelmikrobiologische Grundlagen für die Praxis. Kapitel 4, Stichprobenpläne- Produktklassifizierung, Seiten 235 bis 256. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1998 (ISBN: 3-540-63380-4)
- 8 Bundesamt für Gesundheit: Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 56 «Mikrobiologie», Ausgabe 1985. Bundesamt für Logistik und Bauten
Office fédéral de la santé publique: Manuel suisse des denrées alimentaires, chapitre 56 «Microbiologie», Edition 1985. Office fédéral des constructions et de la logistique (OFCL), 3003 Berne
- 9 Bundesamt für Gesundheit: Kapitel 56 «Mikrobiologie», Neuausgabe 2000, Überarbeitung 2004. In: Schweizerisches Lebensmittelbuch 2005. Bundesamt für Bauten und Logistik, 3003 Bern (http://www.bag-anw.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Start.pdf).
Office fédéral de la santé publique: Chapitre 56 «Microbiologie» Nouvelle édition 2000, révisée en 2004 dans Manuel suisse des denrées alimentaires 2005. Office fédéral des constructions et de la logistique (OFCL), 3003 Berne.
(http://www.bag-anw.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Start.pdf)
- 10 *Baumgart J. und Becker B.*: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, Loseblatt-Ausgabe (1994, laufende Aktualisierungen)

- 11 ISO 17604:2003: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Carcass sampling for microbiological analysis
- 12 ISO 18593:2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs
- 13 ISO/DIS 707 | IDF 50: Milk and milk products – Guidance on sampling (in preparation)
- 14 ISO 7218:1996: Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examinations
- 15 ISO/DIS 7218: Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations (in preparation)
- 16 ISO 6887-1, -2, -3, -4: 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 (1999)
Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products (2003)
Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products (2003)
Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products (2003)
- 17 ISO 8261:2001: Milk and milk products: General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination
- 18 ISO 7002:1986: Agricultural food products – layout for a standard method of sampling from a lot
- 19 Europäische Union: Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel
Union Européenne: Règlement (CE) Nr. 2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires
- 20 ISO 6579:2002: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for for the detection of *Salmonella* spp.

Korrespondenzadresse: Andreas Baumgartner, Bundesamt für Gesundheit,
Sektion «Mikrobiologische und Biotechnologische Risiken», 3003 Bern, Schweiz,
Phone: 041 31 322 95 82, E-Mail: andreas.baumgartner@bag.admin.ch