

# Richtlinien zur Durchführung der mikrobiologische Fleischuntersuchung gemäß Fleischuntersuchungsverordnung 2009

## I. Mikrobiologische Fleischuntersuchung

### 1. Probenbearbeitung, Bakterienfärbung und Kulturversuch

Die Proben, die bei der Schlachtung gemäß Durchführungserlass 3/in der aktuellen Version für Probenahmen und Probenversand zur Durchführung von Hilfsuntersuchungen im Rahmen der Schlacht- und Fleischuntersuchung sowie im Zuge von Hygienekontrollen in Schlacht-, Zerlegungs- und Wildbearbeitungsbetrieben entnommen worden sind, sind wie folgt zu bearbeiten:

- Den Muskeln und Lymphknoten anhaftendes Binde- und Fettgewebe ist zu entfernen und die Probenoberfläche durch Abflammen keimfrei zu machen.
- Mit sterilen Instrumenten sind aus der Mitte jedes Muskelstückes etwa bohngroße Proben zu entnehmen und auf einer Agarplattenhälfte auszustreichen. Bei jeder Platte ist eine frische Probenoberfläche zu verwenden.
- Organe und Lymphknoten sind mit sterilen Instrumenten einzuschneiden, Material aus der Tiefe zu entnehmen und auf Agarplatten auszustreichen.
- Bei krankhaft veränderten Proben, insbesondere bei Milzbrand-, Tuberkulose- oder Septikämieverdacht, sind außerdem Färbepreparate (Gram, Ziehl-Neelsen, Giemsa, Olt) anzufertigen.
- Vor dem Abflammen sind von jeder Probenart Teilproben zu entnehmen, mit sterilen Instrumenten grob zu zerkleinern und in einem Flüssigmedium auf Salmonellen anzureichern (insgesamt etwa 10 g Probenmaterial auf 100 ml Medium).

Erforderliche Kulturmedien und Bebrütung:

- Blutagarplatten, z.B. Columbia-Agar mit 5% Schafblutzusatz, zur **aeroben** Bebrütung, mind. 40 Stunden bei 37° C
- Blutagarplatten, z.B. Schaedler-Agar mit 5% Schafblutzusatz, zur **anaeroben** Bebrütung z.B. in Glove-Box, mind. 40 Stunden bei 37° C
- Selektiv- und Differentialagar für **Enterobacteriaceae**, z.B. MacConkey-Agar, Bebrütung aerob, mind. 40 Stunden bei 37° C

Kulturmedien zur Salmonellenanreicherung :

- Tetrathionat - Bouillon oder gleichwertiges, z.B. Rappaport-Vassiliadis, Bebrütung 18-24 Stunden bei 37° C oder 42 - 43° C, und anschließend selektive, differenzierende Agarplatte, z.B. XLD-Agar, Bebrütung 18-24 Stunden bei 37° C oder
- es kann auch gepuffertes Peptonwasser eingesetzt werden, Bebrütung 18-24 Stunden bei 37° C, und anschließend halbfester MSR-V-Agar, Bebrütung 18-24 Stunden bei 42° C Subkultivierung z.B. auf XLD - und/oder Rambach - Agar

## 2. Keimidentifizierung und Beurteilung

Die Beurteilung der Kulturen erfolgt nach mindestens 18 und 40 Stunden.

Zu unterscheiden sind

„**Spezifisch-pathogene Keime**“ gemäß § 13 Abs. 1 Z 1 und 2 Fleischuntersuchungsverordnung 2006 (BGBl 2006/109 idgF)

und „**Unspezifische Keime**“ gemäß § 13 Abs. 1 Z 3 Fleischuntersuchungsverordnung 2006 (BGBl 2006/109 idgF)

Unspezifische Keime sind **auch quantitativ** zu erfassen: Geringgradig - weniger als 10, mittelgradig - 10 bis 30, hochgradig - mehr als 30 Kolonien pro Plattenhälfte.

Ergibt sich aus der grobsinnlich - mikroskopischen Beurteilung der Kulturen bzw. Färbepreparate ein Verdacht auf das Vorliegen von spezifisch-pathogenen Keimen gemäß § 13 Abs. 1 Z 1 u. 2 Fleischuntersuchungsverordnung 2006 (BGBl 2006/109 idgF), sind die nach dem neuesten Wissensstand für **eine Identifizierung** erforderlichen, mikroskopischen, kulturellen, serologischen oder biochemischen, Untersuchungen durchzuführen (z.B. Staphaurex, CAMP-Test, Objektträgeragglutination, API-Identifizierungssysteme).

Ist anzunehmen, dass ein starker Keimgehalt einzelner Proben auf eine Kontamination (z.B. infolge mangelhafter Kühlung beim Transport, übermäßig lange Transportdauer, unsachgemäße Verpackung) zurückzuführen ist, so ist dies dem Einsender mitzuteilen.

### **Identifizierungskriterien für Salmonellen:**

Salmonellen zeigen in der Regel, aber nicht immer, Schwarzfärbung der Kolonien auf XLD -Agar oder charakteristische Rotfärbung der Kolonien auf Rambach - Agar, letzteres zeigen praktisch nur Salmonellen, Schwarzfärbung auf XLD - Agar auch andere Bakterienarten.

Bei positiven oder fraglichen Schwärmzonen auf MSR-V-Agar sind Subkulturen anzulegen, vorzugsweise auf XLD - und Rambach - Agar.

Meist genügen zur sicheren Identifizierung von Salmonellen die typische Färbung auf einem Differential - Agar verbunden mit einer positiven serologischen Reaktion in der Objektträgeragglutination.

**Objektträgeragglutination** mit polyvalenten Antiseren I,II,III und Gruppenserum B, C, D, E. In der Regel genügt die Agglutination mit polyvalentem Antiserum I. Kreuzreaktionen (z.B. bei *Hafnia alvei*) sind jedoch möglich, auch inagglutinable Salmonellen können auftreten.

In Zweifelsfällen sollte daher die biochemische Differenzierung mittels API 20 E oder einem gleichwertigen System durchgeführt werden.

Zur weiteren Differenzierung sind die Salmonellen an die AGES IMED-GRZ, 8010 Graz, Beethovenstraße 6, zu senden.

## II. Biologischer Hemmstofftest

Das **STAR Protokoll** - Screening Test For Antibiotic Residues (entwickelt vom gemeinschaftlichen Referenzlabor in Frankreich) – ist als Biologischer Hemmstofftest für alle mikrobiologischen Untersuchungen gem. Fleischuntersuchungsverordnung 2006 anzuwenden.

Dabei hat die Durchführung des Tests gemäß der aktuellen Version der Prüfvorschrift **PV\_VET\_MOE\_BAKT\_002 des IVET Mödling** bzw. der entsprechenden, an den anderen Instituten adaptierten Prüfvorschriften zu erfolgen.

## III. Nachweis von Chloramphenicol

### A. Screening

Im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung ist bei jeder Probe sofort auf das Vorhandensein von Chloramphenicol (qualitativ) mit einem Nachweisvermögen ( $CC_{\beta}$ : definiert in der Entscheidung der Kommission 2002/657/EG vom 12. August 2002) von 0,3µg/kg zu untersuchen.

Der Chloramphenicolnachweis wird mittels Chloramphenicol-EIA<sup>1</sup> Testkits durchgeführt. Die Prüfung ist nach dem Prüfverfahren des nationalen Referenzlaboratoriums für Chloramphenicol (AGES – Kompetenzzentrum für Tierarzneimittel und Hormone) durchzuführen. Zur Erstellung der institutseigenen Prüfvorschrift ist die aktuelle Version der Prüfvorschrift des AGES-Kompetenzzentrums für Tierarzneimittel und Hormone (A-1220 Wien, Spargelfeldstraße 191) heranzuziehen.

Das Probenmaterial ist bis zur Abschlussuntersuchung bei einer Temperatur unter -15°C zu lagern.

---

<sup>1</sup> EIA ... Enzymimmunoassay

## **B. Bestätigung**

Bei jeder nicht negativen Probe ist das Ergebnis zu bestätigen.

Für die Bestätigungsuntersuchung ist eine gemäß Entscheidung der Kommission 2002/657/ EG vom 12. August 2002 festgelegte Analyseverfahren anzuwenden.

Die Bestätigungsuntersuchungen werden im nationalen Referenzlaboratorium für Chloramphenicol (AGES – Kompetenzzentrum für Tierarzneimittel und Hormone) durchgeführt.

## **IV. Mitteilung der Ergebnisse**

Die Untersuchungsergebnisse werden mittels Telefax dem einsendenden Tierarzt mitgeteilt.

Werden Bakterien gemäß § 13 Abs. 1 Z 1 u. 2 Fleischuntersuchungsverordnung 2006 (BGBl 2006/109 idgF) nachgewiesen, so ist das Ergebnis entsprechend den Angaben in Kapitel I Ziffer 2 zu melden.

Ferner ist das Ergebnis des biologischen Nachweises von Hemmstoffen, des qualitativen Chloramphenicolnachweises und angeforderter Zusatzuntersuchungen mitzuteilen. Das Ergebnis der Bestätigungsuntersuchung von Chloramphenicol ist nachzumelden.

Stellt die Untersuchungsstelle fest, dass die eingesandten Proben für eine ordnungsgemäße Untersuchung ungenügend waren (z.B. Fehlen von vorgeschriebenen Proben, Kleinheit der Proben, ...) oder die Proben eine unsachgemäße Behandlung erfahren haben (z.B. ungenügende Verpackung, lange Zeitdauer des Transportes bei zu hohen Temperaturen), so ist dies dem Einsender mitzuteilen und auf die eingeschränkte Verwendbarkeit des Untersuchungsergebnisses hinzuweisen.