



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF

**Agroscope**

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

# Listerienkurs mit QM-Fromarte- Zertifikat

Hans Winkler

Käser-Diskussionsgruppen November 2023

Agroscope Liebefeld, Mitarbeit: Dr. E. Jakob, FoodCon

# Inhalte

- Bedeutung Listerien
- Technologisch relevante Eigenschaften der Listerien
- Verhalten von Listerien in Käse
- Vorkommen von Listerien
- GHP-Massnahmen gegen Listerien
- Listerien-Untersuchungen gem. QM-Formate 2023
- Umfeldmonitoring (Zweck, Methodik)  
Schwachstellenanalyse, Probennahmeplan, Auswertung

# Listerioseausbrüche in der Schweiz

Jahre	Lebensmittel	Gemeldete Erkrankte	Verstorben
<b>1983-1987</b>	Vacherin Mont-d'Or	122	33
<b>2005</b>	Weichkäse Tommes de Montagne (past.)	12	5
<b>2014</b>	Genussfertiger Beutelsalat	31	?
<b>2018-2020</b>	Weichkäse Typ Brie	34	10
<b>2022</b>	Geräucherte Lachsforelle	20	1



# Bakteriengattung *Listeria*

Stand 2020

*L. monocytogenes*

*L. innocua*

*L. Seeligeri*

*L. Ivanovii*

*L. Marthii*

*L. Welshimeri*

*Listeria sensu stricto*

*L. Grayi*

*L. Booriae*

*L. Fleischmannii*

*L. weihenstephanensis*

... (11 weitere Arten)

*Listeria sensu lato*



# Wie soll die Produktuntersuchung erfolgen?

Standardverfahren

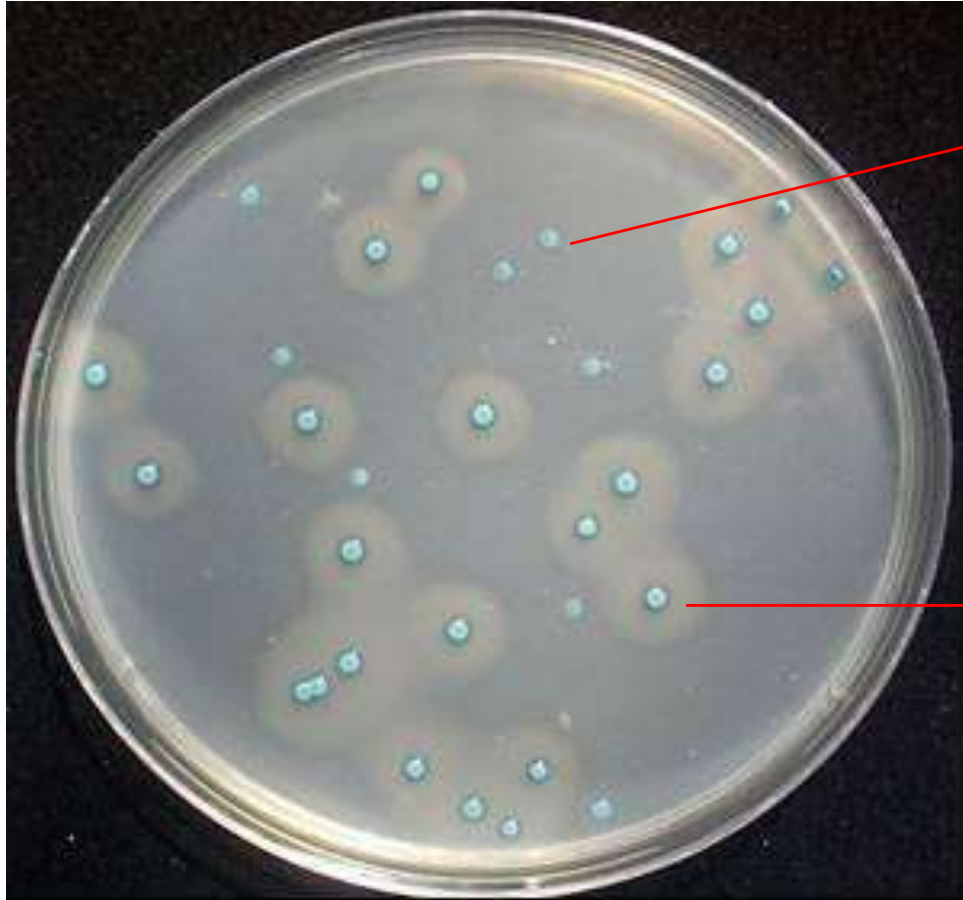
**Qualitativer** Nachweis (Grenzwert: „nicht nachweisbar in 25 g“) erfolgt nach ISO-Norm 11290-1

**Quantitativer** Nachweis (Grenzwert: „100 KbE/g“) erfolgt nach ISO-Norm 11290-2

- Diese beiden Methoden gelten als Referenzmethoden
- Alternative Nachweisverfahren sind möglich, wenn im Rahmen einer Validierung die Gleichwertigkeit mit der jeweiligen Standardmethode dokumentiert worden ist. Dies beinhaltet auch, dass das alternative Verfahren nach ISO 16140 oder nach einem anderen international anerkannten Protokoll von Dritten validiert und von der Behörde genehmigt wurde.



# Klassischer Listeriennachweis (quantitativ)



Listeria innocua /  
Listeria seeligeri

Listeria  
monocytogenes

Listerien auf ALOA-Agar (37 °C, 24 h)



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF

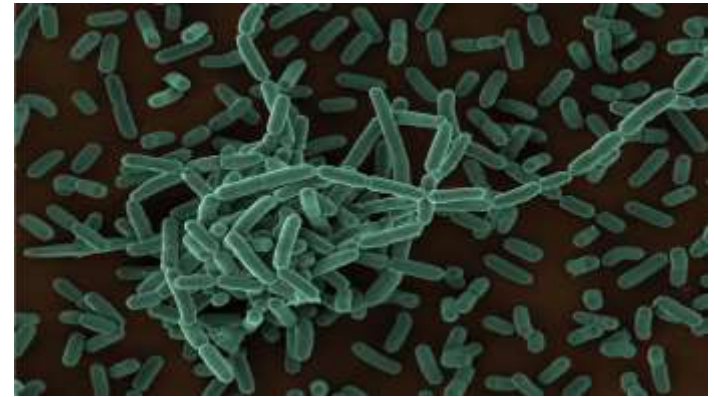
**Agroscope**

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

# Technologisch relevante Eigenschaften der Listerien

# Technologisch wichtige Eigenschaften

bewegliche Stäbchen  
bilden keine Sporen  
fakultativ anaerob (mikroaerophil)



*Bildquelle: Petra Kaiser, Robert Koch Institut*

## Hitzetoleranz in Milch

D-Wert 65°C: 15 - 90 sec  
65°C/15s → 30 - 90% Reduktion

**Salztoleranz:** Wachstum bis 12% NaCl ( $a_w$  0.927)

**Säuretoleranz:** Wachstum ab 3.5-5.0

**Kältetoleranz:** Wachstum ab -0.5°C

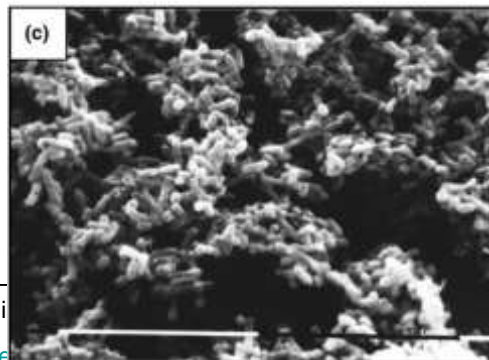
Generationszeit bei 8°C: 9 - 14 h



# 🇨🇭 Resistenz gegen Desinfektionsmittel

- i.A. gute Wirksamkeit von QAV (Halades 191), Peressigsäure und Chlor gegen frei schwimmende Zellen
- Bodenbeschaffenheit und Wasserhärte beeinflusst Wirksamkeit bei Produkten mit DPTA/Triameen  
➔ Konzentrationsanpassung
- *L. monocytogenes* bildet Biofilme auf unterschiedlichsten Werkstoffen und toleriert v.a. in älteren Biofilmen (> 7 d) praxisübliche Anwendungskonzentrationen!

- (Azizoglu et al. 2015. Resistance of *Listeria Monocytogenes* Biofilms to Sanitizing Agents. In: Pometto & Demirci. Biofilms in the Food Environment. 2<sup>nd</sup> Edition)



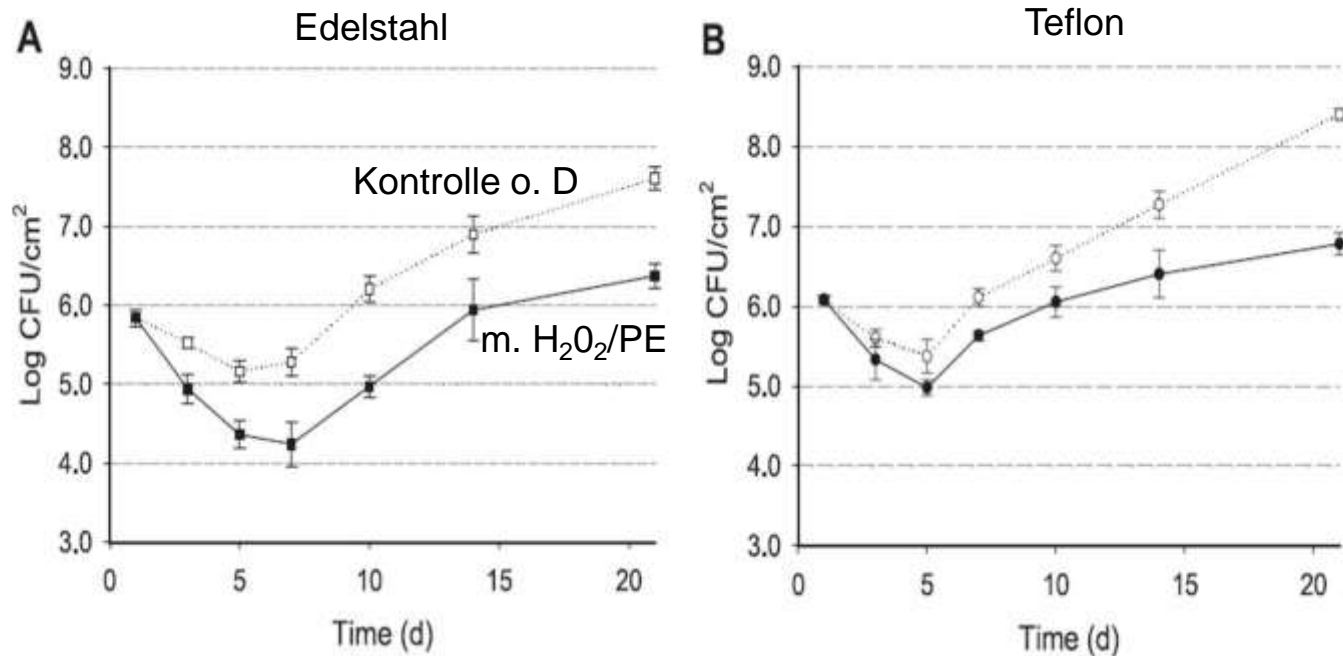
7 Tage alter Biofilm von *L. monocytogenes* auf Edelstahl

Bild: Chavant et al. 2002. AEM 68 (2)

# Wirksamkeit der Desinfektion

## Problem Biofilm

Pan et al. 2006. Resistance of *L. monocytogenes* Biofilms to Sanitizing Agents in a Simulated Food Processing Environment. AEM 72 (12) 7711-7717



⇒ Die kombinierten Hunger-, Wasch- und Hygienebedingungen in dieser Studie führten in der ersten Woche des Experiments zu einer Verringerung der Gesamtzellzahl von *L. monocytogenes* in Biofilmen. Die Zellen passten sich anschließend an die SFP-Bedingungen an und begannen, sich zu vermehren.



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF

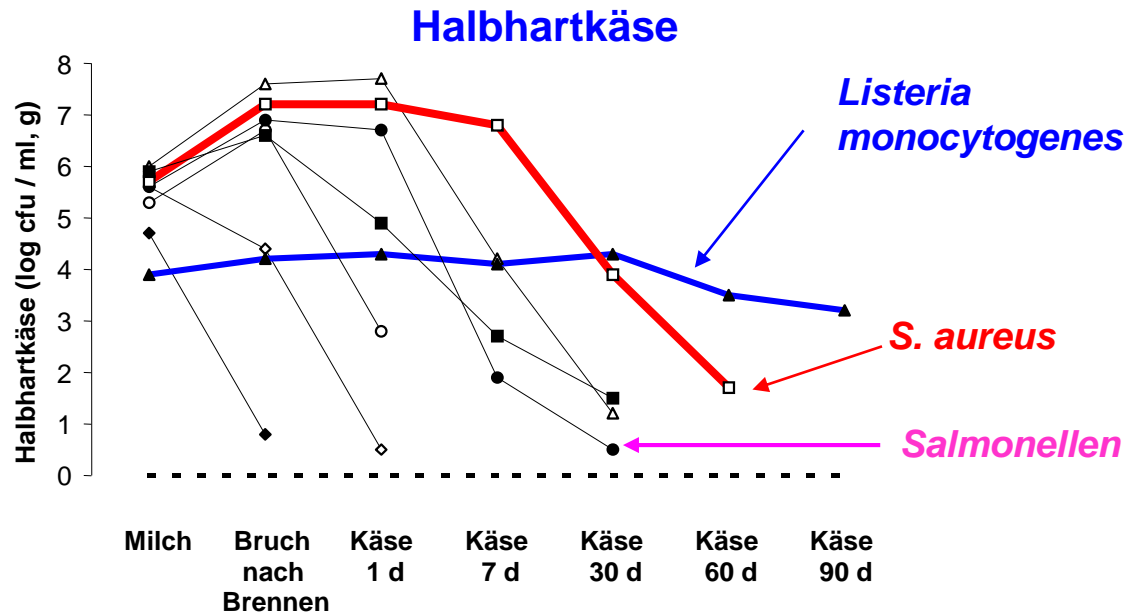
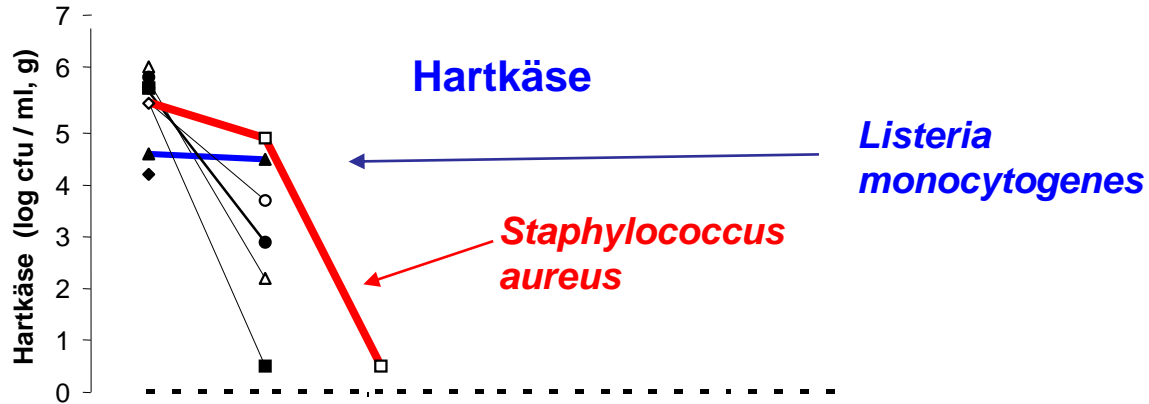
**Agroscope**

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

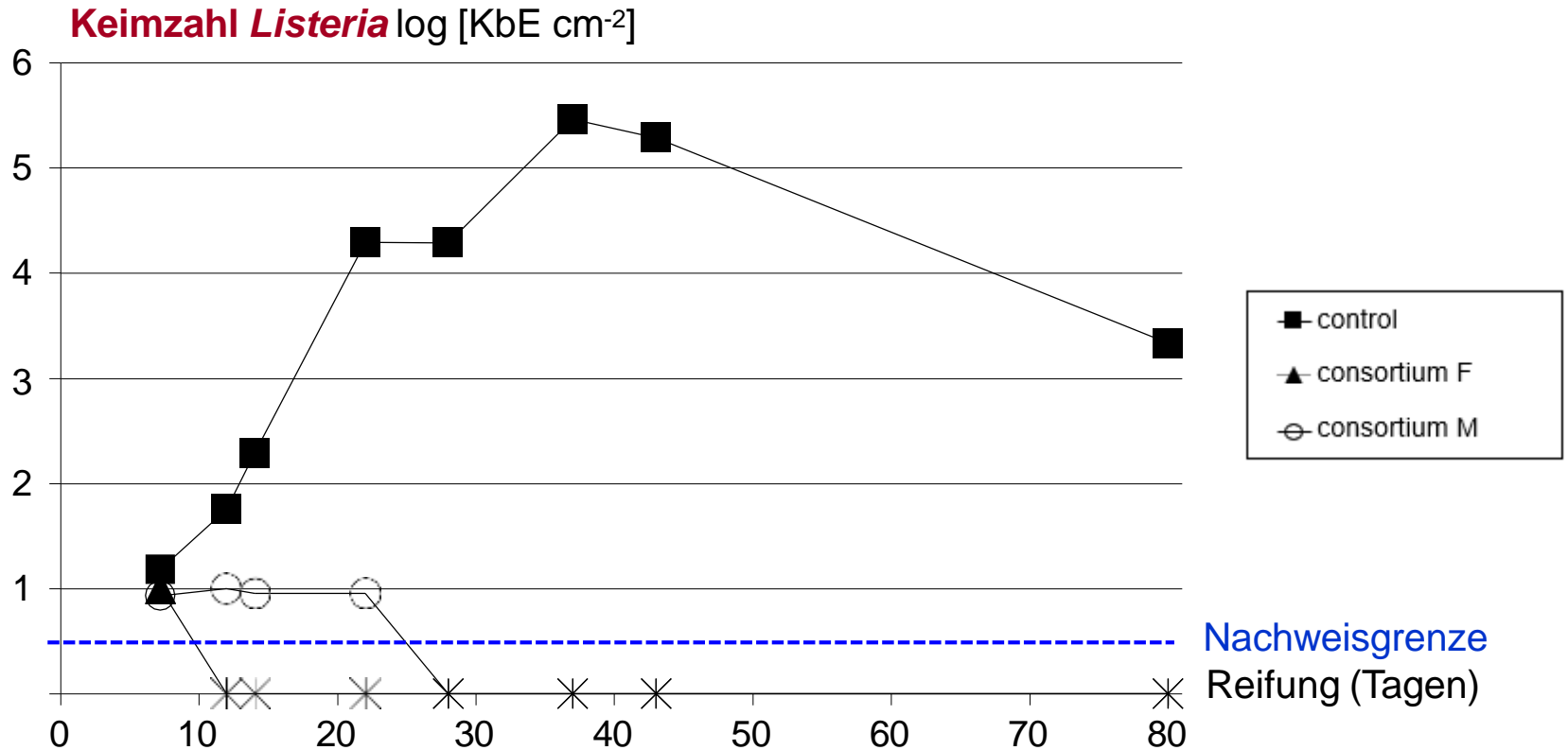
# Verhalten von Listerien im Käse



# Überleben von Listerien im Käse



# Verhalten von *L. monocytogenes* in Käse-Rinde (HH-Käse)



- Schmiereökosystem F und M zeigen **eine starke Antilisteria-Wirkung**
  - Hemmende Wirkung bleibt über die ganze Reifung bestehen.

Quelle: E. Arias-Roth, Agroscope Käseerberatertagung, 2.3.2015

Listerienseminar Käser-Diskussionsgruppen November 2023

Hans Winkler, [hans.winkler@agroscope.admin.ch](mailto:hans.winkler@agroscope.admin.ch)



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF

**Agroscope**

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

# Vorkommen von Listerien

# 🇨🇭 Listerienvorkommen in der Natur



30 % der Bodenproben pos. in 25 g

26 % der Oberflächenwasserproben pos. in 500 mL

5 % der Proben mit mehr als einer Spezies

Mehr L. mono. In landw. und urbanen Regionen.

Linke et al. 2014. Reservoirs of Listeria Species in Three Environmental Ecosystems AEM 80 (18, 5583-5592)

# Listerien in Stuhlproben gesunder Menschen

Land (Quelle)	N	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. innocua</i>
Frankreich (1)	900	10 % (PCR)	4 %	1 %	
USA (2)	827	0.12 %			
Österreich (1)	505	0.2 %			
Deutschland (1)	2000	0.8 %			2 %

(1) Schoder, Guldemann & Märtlbauer, 2022. Foods 2022, 11, 3472 (17 p.)

(2) Saunders B.D. et al. 2005. J. Food Prot. 68 (1), 178-181



# Prävalenz von *L. monocytogenes* auf Rohmilch

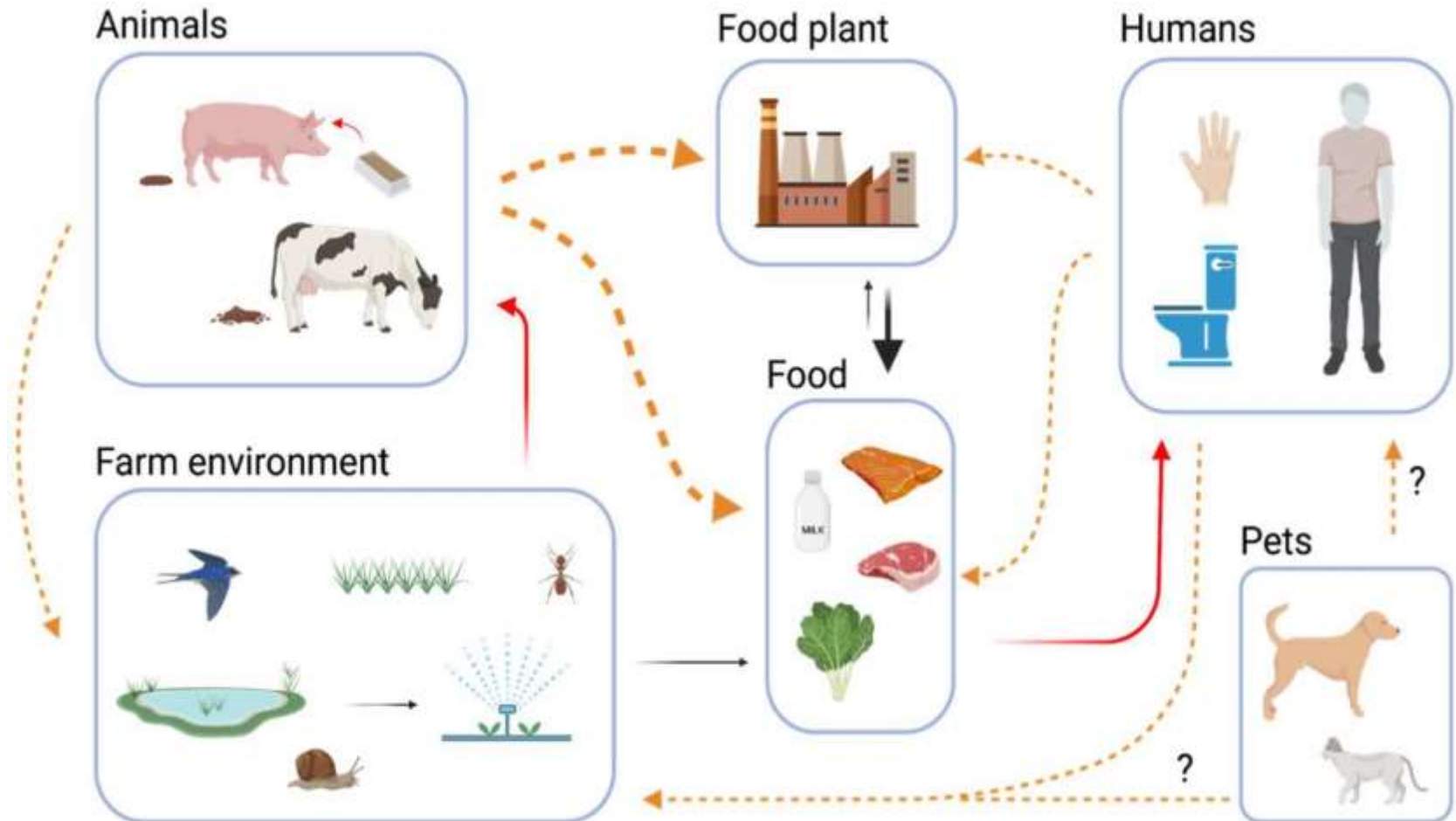
## Silofreie Käseemilch CH (Lieferantenmilch)

0.1 bis 1% (2 von 601 Proben = 0.3% *L. monocytogenes* pos.)

Quelle: Jakob & Eugster 2016, Agrarforschung Schweiz 7, 476-483

- Daten in Überarbeitung mit angepasster Probenmenge

# Kontaminationswege



Schoder, Guldemann & Märtlbauer, 2022. *Foods* 2022, 11, 3472 (17 p.)



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF

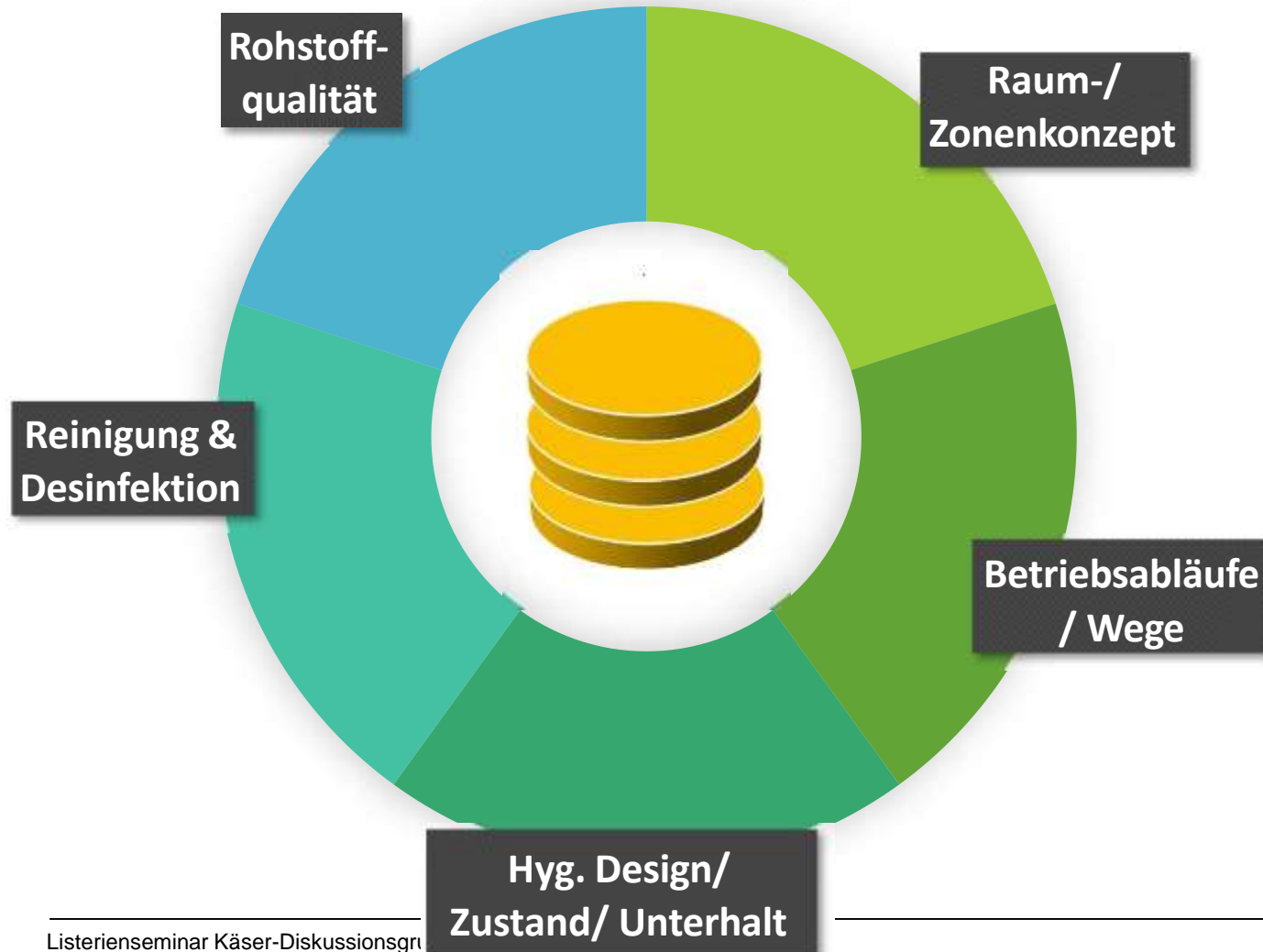
**Agroscope**

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

# Gute Hygienepraxis

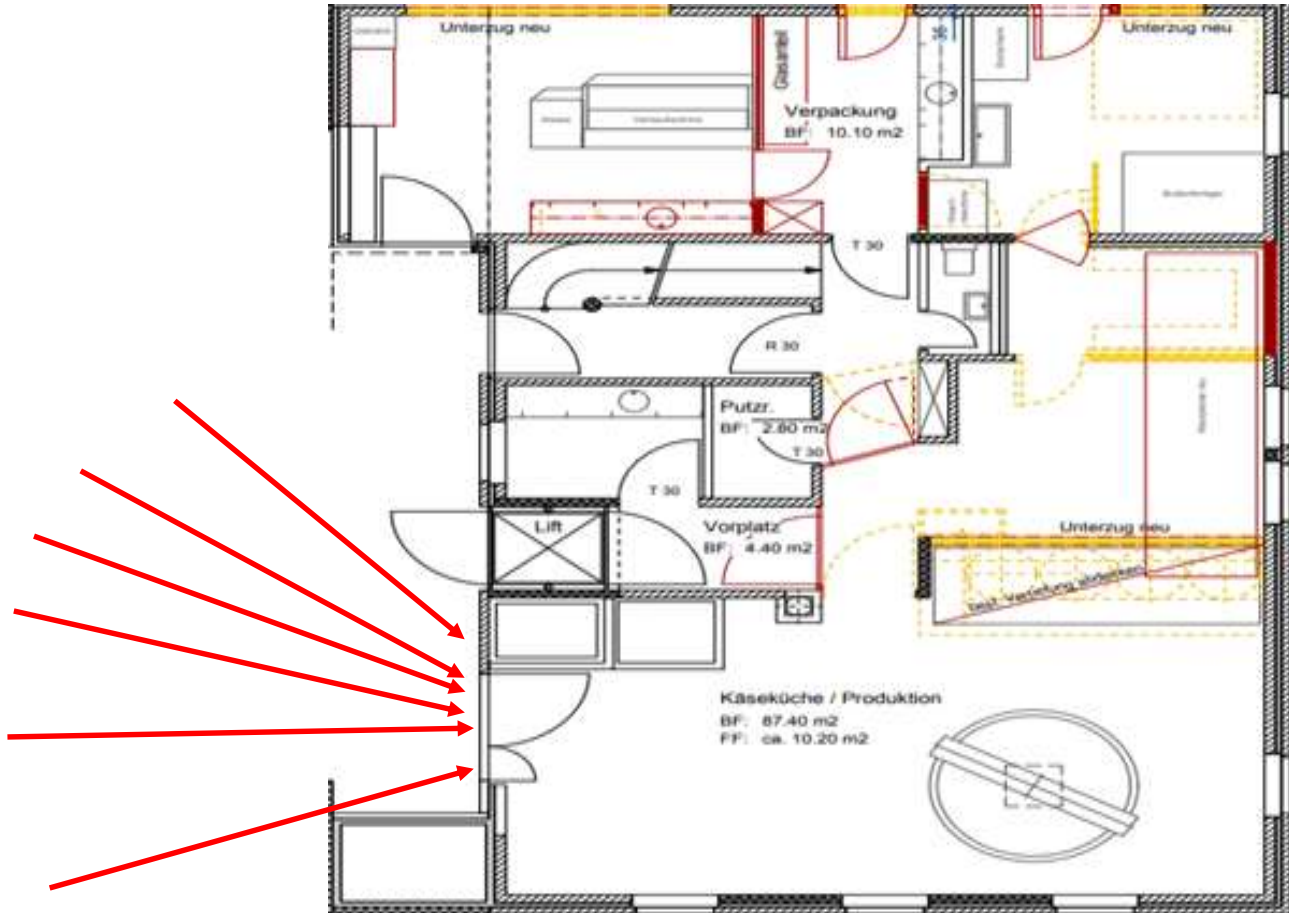
## Massnahmen gegen Listerien

# Listerienprävention (GHP)



# Listerienprävention (GHP)

Gefahren?



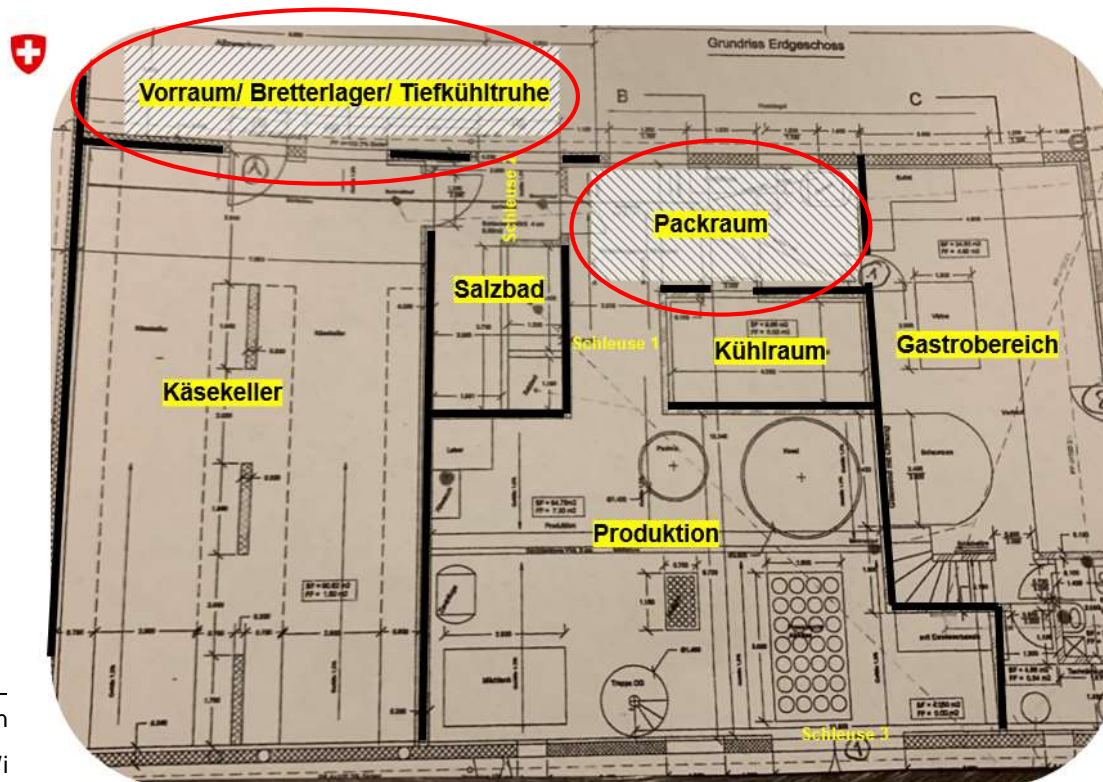
Var. 2

# Massnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen

Nach Risiko getrennte Herstellung, Salzung und Reifung: Weichkäse unpast.

> Weichkäse past. > Halbhartkäse past. > Halbhartkäse unpast. > Hartkäse

Produktionsablauf/Warenfluss und Geh-/Transportwege so organisieren, dass das Risiko Kreuzkontaminationen minimiert wird





# ☑ Massnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen

- Hygienezonen einrichten mit nicht umgehbaren Zugangsschleusen (Wechsel von Schuhwerk, Kleidung; Desinfektion; nach Zone strikt getrennte Transportmittel, Gebinde, Reinigungsutensilien etc.)



Listerienseminar Käser-Disk  
Hans Winkler, [hans.winkler@agroscope.ch](mailto:hans.winkler@agroscope.ch)

# ☑ Massnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen

- Hygienisches Design, intakter Zustand, Farbkonzept



Listerienseminar Käser-D  
Hans Winkler, [hans.winkl](http://hans.winkl)



# 🇨🇭 Massnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen

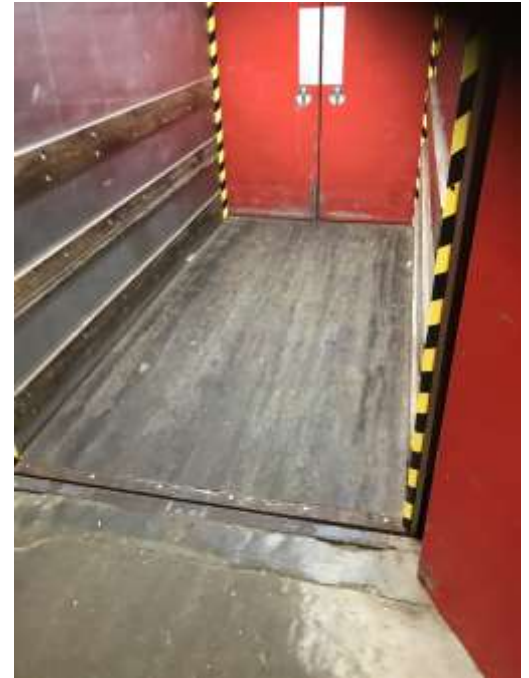
Bildung von **Aerosolen** und deren Verfrachtung in hygienisch sensible Bereiche bei Reinigungsarbeiten vermeiden (z.B. bei Reinigung von Käsebrettern)

**Regelmässige Desinfektion der Käsebretter** (Tauchbad oder Dampfbehandlung, so dass  $> 70^{\circ}\text{C}$  Kerntemp. erreicht werden), der **Schmiermaschinen** ( $>65^{\circ}\text{C}$  über Nacht), **Bürsten** und andere krit. Gerätschaften brühen bei  $>80^{\circ}\text{C}$ )



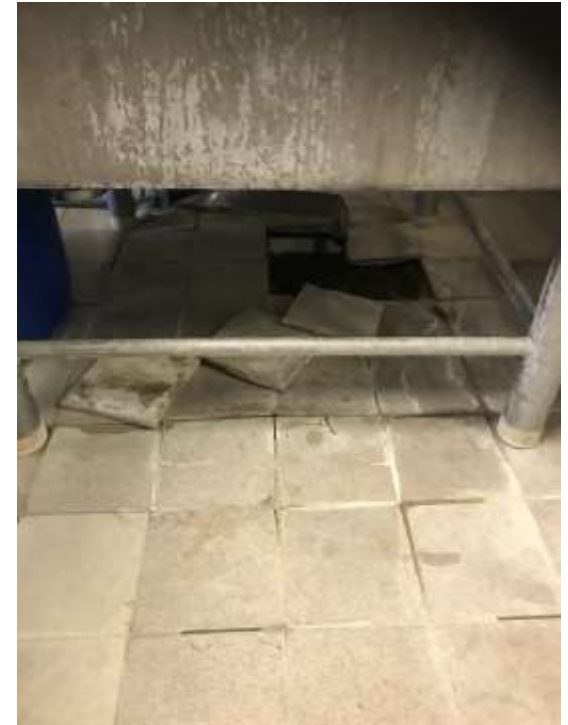
# 🇨🇭 Schlechte Beispiele

(pos. Listerienbefunde)



# Schlechte Beispiele

(pos. Listerienbefunde)



Listeriensen

3

Hans Winkler, [hans.winkler@agroscope.admin.ch](mailto:hans.winkler@agroscope.admin.ch)



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF

**Agroscope**

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

# Listerien-Untersuchungen gemäss QM-Fromarte 2023

**Achtung: Minimalvorgaben solange  
einwandfreie Befunde!**

# Revision QM-Fromarte

## Stufe Produktion -Produkteproben

Art der Probe	Untersuchungen (Version 7.4.2010)	Untersuchungen neu
Hart- und Extrahartkäse	2 x / Jahr	2 x / Jahr
Halbhartkäse aus Rohmilch*	6 x / Jahr	8 x / Jahr (1/45 Chargen)
Halbhartkäse thermisiert	6 x / Jahr	8 x / Jahr (1/45 Chargen)
Halbhartkäse pasteurisiert	4 x / Jahr	8 x / Jahr (1/45 Chargen)
Weichkäse aus Rohmilch*	wöchentlich	wöchentlich (1/6 Ch.)
Weichkäse thermisiert	monatlich	wöchentlich (1/6 Ch.)
Weichkäse past.	4 x / Jahr	4 x / Jahr (1/90 Ch.)
Reibkäse	2 x / Jahr	4 x / Jahr (1/90 Chargen)

*\*Bisher kein Umfeldmonitoring & keine Untersuchung von Salzlake vorgesehen!*

# Revision QM-Fromarte

## Stufe Produktion –Umfeldmonitoring (Neu)

Käsesorte	Salzlake	Boden, Gullys etc*
Extrahartkäse	2, falls Salzlake für HH-Käse benutzt wird (n.n. in 100 mL)	2 x /Jahr
Emmentaler	2 x / Jahr (n.n. in 100 mL)	2 x / Jahr
Gruyère	2 x / Jahr (n.n. in 100 mL)	4 x / Jahr
Halbhartkäse mit Rohmilch	2 x / Jahr (n.n. in 100 mL)	8 x / Jahr
Halbhartkäse thermisiert (min. 65°C / 15s)	2 x / Jahr (n.n. in 100 mL)	6 x pro Jahr
Halbhartkäse past.	2 x / Jahr (n.n. in 100 mL)	6x pro Jahr
Weichkäse nicht past.	2 x / Jahr (n.n. in 100 mL)	6x pro Jahr
Weichkäse pasteurisiert	-	6x pro Jahr

\* *nach betriebseigenem Beprobungsplan (Oberflächen, Gullywasser etc.)*



# Revision QM-Fromarte

## Affinage/Handel- Umfeldmonitoring (Neu)

Produktgruppe	Art der Beprobung	Frequenz
Aufschnitt, Verpackung von <b>Fremdkäse (zur Verpackung zugekauft)</b>	gesammelte Käsekrümel von Schneidmaschine	Wöchentlich
Trockengereifte Hartkäse (Emmentaler, Sbrinz)	Umfeldproben nach betriebseigenem Monitoringplan (Oberflächen, Gullywasser etc.)	2 x / Jahr
Hartkäse mit Rotschmiere	dito	4 x / Jahr
Halbhartkäse	dito	6 x / Jahr
Weichkäse	Es gelten die Vorgaben Stufe Produktion	

# Revision QM-Formate

## Affinage/Handel- Umfeldmonitoring (Neu)

	Eingangskontrolle	Käsereifung	Endprodukt (Verifikation)
Hartkäse	2x / Jahr (Rinde)	2 x / Jahr (Rinde o. Pfliegewasser) 1 Probe pro gemeinsam gepflegtes Lot	2 x / Jahr (Rinde)
Halbhartkäse	4 x / Jahr (Rinde)	6 x / Jahr (Rinde o. Pfliegewasser) 1 Probe pro gemeinsam gepflegtes Lot	2 x / Jahr (Rinde)
Reibkäse (ohne Fondue)	-	-	Jedes Lot





Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF

**Agroscope**

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

# Umfeldmonitoring bezgl. *Listeria monocytogenes*

# Gesetzliche Bestimmungen – Umfeldmonitoring (*Listeria monocytogenes*)

HyV Art. 69 Probenahme in Verarbeitungsbereichen  
und bei Ausrüstungen

1. ...
2. Lebensmittelbetriebe, die genussfertige Lebensmittel herstellen, die ein durch *Listeria monocytogenes* verursachtes Risiko für die menschliche Gesundheit bergen könnten, haben im Rahmen ihres Probenahmeplans **Proben aus den Verarbeitungsbereichen und den verwendeten Ausrüstungen auf *Listeria monocytogenes* zu untersuchen.**

# Zweck der Umfeldbeprobung

- Erfüllen einer gesetzlichen Vorgabe (dazu gehört auch das QM Formate)
- Erkennen von hygienischen Schwachstellen, notorischen Eintragswegen, Biofilmsituationen
- Sensibilisierung der Mitarbeitenden
- Kein «Clean washing», z.B. durch Probenahme nach Reinigung und Desinfektion

# Umfeldmonitoring

## Identifikation von Schwachstellen

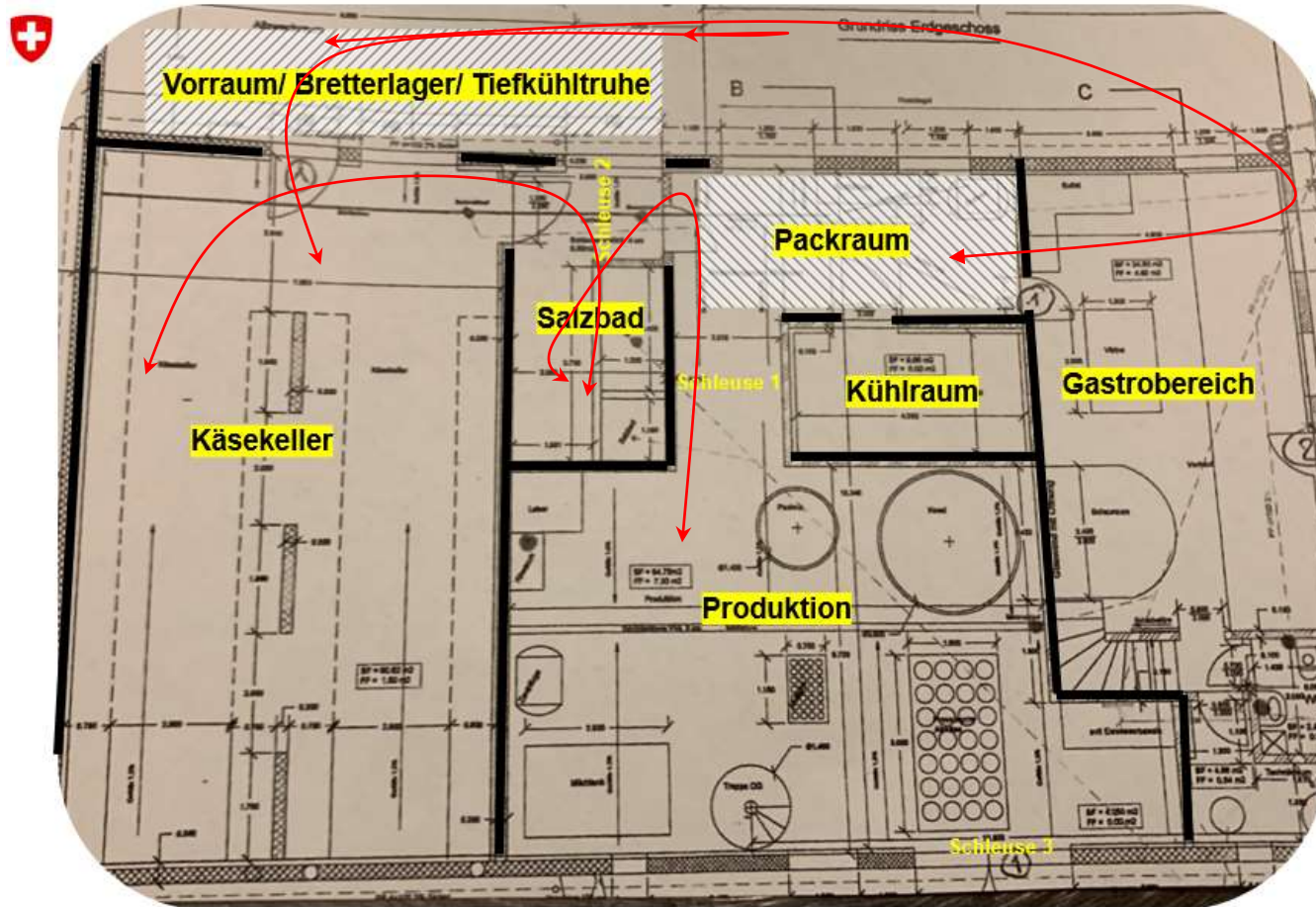
- ↳ Zonenabgrenzung, Schleusenfunktion
- ↳ Betriebsabläufe, «Verkehrswege»
- ↳ Hygienesdesign, Zugänglichkeit für Reinigung von Räumen und Anlagen
- ↳ Zustand von Räumen und Anlagen

## Identifikation von Orten mit besonderem Risiko

- ↳ «Verkehr», Kreuzungspunkte
- ↳ Dauernässe

# Identifikation von Schwachstellen

Analyse von Personen-, Waren- und Materialverkehr



# Probenarten

- ↳ Abstriche oder Wischproben von Oberflächen (Arbeitsflächen, Rohrleitungen, Schläuchen, Reinigungsutensilien, Böden etc.)
- ↳ Gully-Flüssigkeit
- ↳ Spülwasser (z.B. gereinigte Schmiermaschine nach 1 h Leerbetrieb mit Wasser)
- ↳ Ganze Arbeitsutensilien (z.B. Bürsten)
- ↳ Produktreste aus der Vorverpackung

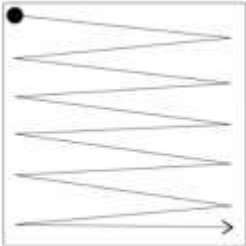
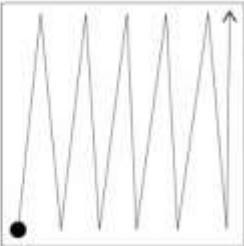



steril, feucht oder trocken  
erhältlich





# Probenahme

Tupfer	Tuch/Schwamm	
schwer erreichbare Flächen	leicht erreichbare, große Flächen	
20 bis 100 cm <sup>2</sup>	100 bis 1000 cm <sup>2</sup>	
Tupfer aus Röhrchen entnehmen	Tuch/Schwamm mit Handschuh aus Beutel entnehmen oder Tuch/Schwamm durch umgestülpten Beutel fassen	
 Step 1	 Step 2	

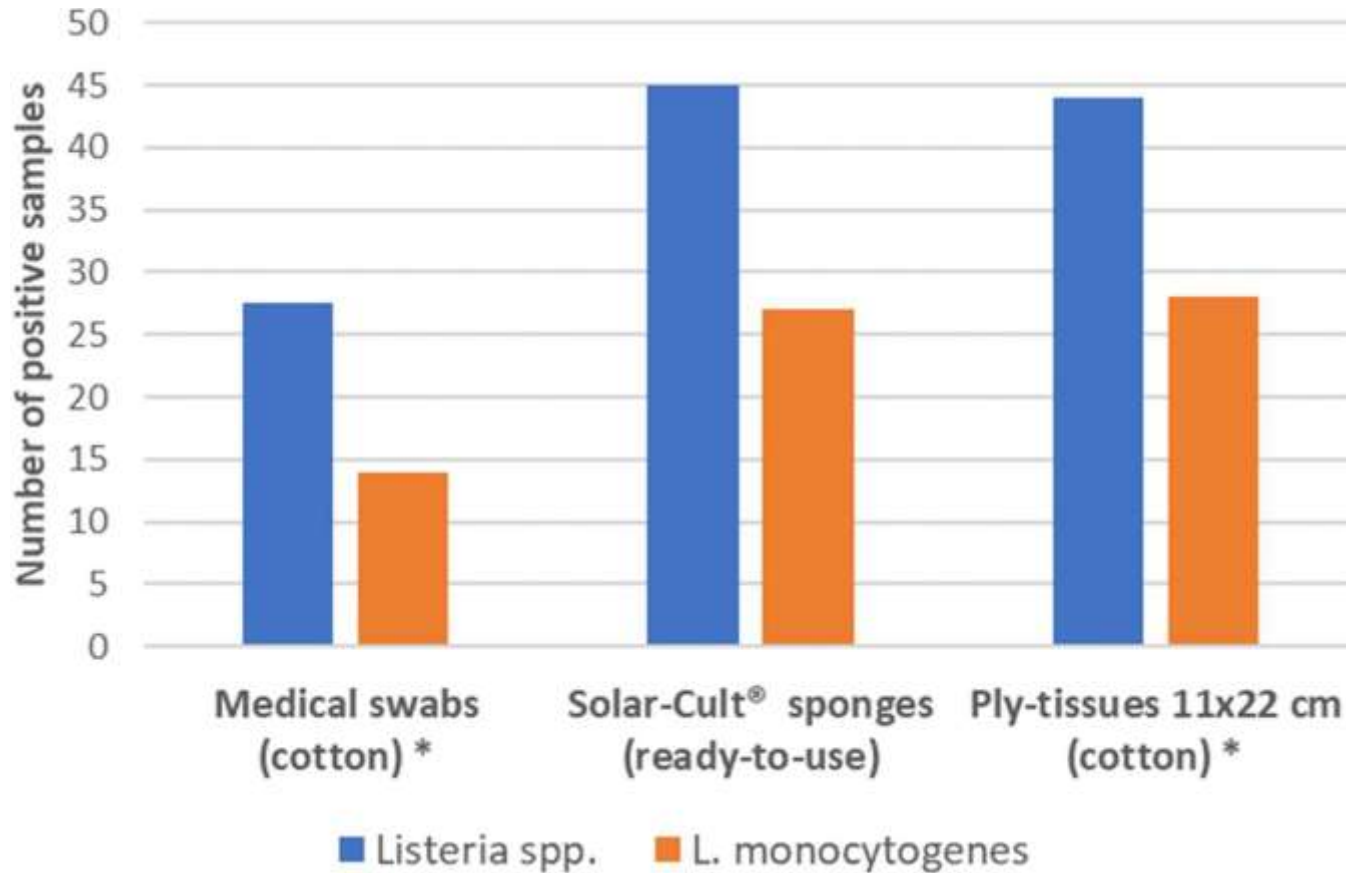
dazwischen drehen (alle Seiten des Tupfers/Schwamms nutzen)

Quelle: F. Schwarz, A. Wicke. Empfehlungen des Europäischen Referenzlabors zur Probenahme von *L. monocytogenes* auf Oberflächen und Ausrüstungsgegenständen. Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, 2014

Hans Winkler, [hans.winkler@agroscope.admin.ch](mailto:hans.winkler@agroscope.admin.ch)



# Umfeldbeprobung – Einfluss der Probennahme



Auswertung von je 240 Umfeldproben erhoben während 5 Monaten in einem kanadischen Fleischverarbeitungsbetrieb (\* selbst befeuchtet mit neutr. Puffer)

Quelle: Kovačević et al. 2009. J. of Food Protection, 72 (4) 696-671 (adaptierte Grafik)

[Marie.Wimmer@agrroscope.admin.ch](mailto:Marie.Wimmer@agrroscope.admin.ch)

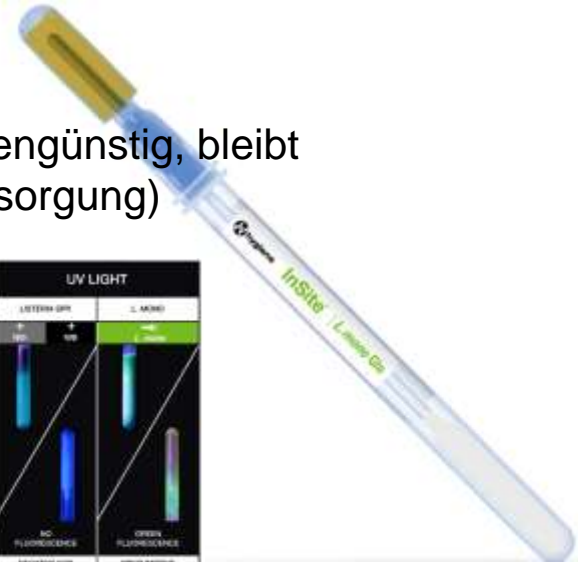
# Probenahmezeitpunkt

- ↳ Normalfall: Während der Produktion bzw. vor Produktionsende bzw. vor Reinigung und Desinfektion
- ↳ Im Kontaminationsfall bzw. in bei hohem Infektionsdruck (Rohstoff!): Nach Reinigung und Desinfektion (Kontrolle der Wirksamkeit).

*Immer gleiche Stellen, gleiche Beprobungsart, gleiche Fläche cm<sup>2</sup>, gleicher Zeitpunkt im Betriebsablauf  
→ Vergleichbare Ergebnisse*

# Umfeldbeprobung - Einflussfaktoren

- ↳ Keimdichte
- ↳ Beprobte Fläche (cm<sup>2</sup>)
- ↳ Oberflächenbeschaffenheit (porös, glatt...)
- ↳ Beprobungsmittel (Schwamm, Swab...)
- ↳ Befeuchtungsmittel (m/o Inaktivator)
- ↳ Präsenz von Desinfektionsmitteln, Salz etc.
- ↳ Zeit/Temperatur bis zur Analyse
- ↳ Analysenmethode



- ▶ Einfach, rel. Kostengünstig, bleibt geschlossen (Entsorgung)

NATURAL LIGHT			UV LIGHT	
NEGATIVE	L. MONO spp.	L. MONO spp.	L. MONO spp.	L. MONO
+	+	+	+	+
YELLOW	GREY	BLACK	NO FLUORESCENCE NEGATIVE FOR L. MONO	GREEN FLUORESCENCE POSITIVE FOR L. MONO
PREDICTION: POSITIVE FOR L. MONO spp.			PREDICTION: POSITIVE FOR L. MONO	

InSite L. mono Glo (hygiene)



RapidChek® Listeria (Romer Labs)

- ▶ sehr spezifisch – muss geöffnet werden

N-Light™ *Listeria monocytogenes* (NEMIS Technologies)



- ▶ Keine ssp!



# Umfeldmonitoring

## 2. Erstellen eines Probenplans

Probenahmestelle	Art der Beprobung	Art der Beprobung	Fläche	Zeitpunkt	Frequenz	
P2_01	Werk 2, Boden innen bei Rampe	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	30x30 cm	frei	1 x / Monat
P2_02	Werk 2, Zugang Seitentür, innen	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	30x30 cm	vor R&D	1 x / Monat
P2_03	Werk 2, Boden n. Schleuse	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	30x30 cm	vor R&D	1 x / Monat
P2_04	Werk 2, Gully Waschplatz	Abstrich Innenkante Gully	Abstrichtupfer trocken	-	vor R&D	1 x / Monat
P2_05	Werk 2, RR1 Boden Einfahrseite	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	30x30 cm	vor R&D	1 x / Monat
P2_06	Werk 2, RR1 Boden bei Gully	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	50 x 50 cm	vor R&D	1 x / Monat
P2_07	Werk 2, RR2 Boden Einfahrseite	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	30x30 cm	vor R&D	1 x / Monat
P2_08	Werk 2, RR2 Boden bei Gully	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	50 x 50 cm	vor R&D	1 x / Monat
P3_01	Werk 3, Verpackung Boden Ein-/Ausfahrt	Wischprobe Boden	Feuchtschwamm 3M	30x30 cm	vor R&D	1 x / Monat
P3_02	Werk 3, Gully Waschplatz	Abstrich Innenkante Gully	Abstrichtupfer trocken	-	vor R&D	1 x / Monat
P3_03	Werk 3, Krümel Entrindung/Portionierer	Rindenmaterial	Steriler Becher	25 g	vor R&D	1 x / Monat

*Siehe auch QM Fromarte AA 14.06 Listerien-Monitoring*



# Umfeldmonitoring

## 3. Erstellen eines Interventionsplans

- ↳ Personalinfo
- ↳ Sperren von Warenlosen
- ↳ Sperren von Arbeitsbereichen
- ↳ Reinigung & Desinfektion
- ↳ Nachkontrollen
- ↳ Probenahmen bei potentielle gefährdeten Produkten
- ↳ Ursachenabklärung und ggf. Intervention
- ↳ Dokumentation des Vorfalls





# Zusammenfassung

- Die Listeriose zeigt in Europa die höchste Todesrate unter den durch Lebensmittel verursachte Infektionskrankheiten.
- *Listeria monocytogenes* kommt überall vor, v.a. im Umfeld der Tierhaltung.
- Listerien haben viele Eigenschaften, die eine Beherrschung erschweren: Wachstum  $< 5^\circ$ , Widerstandsfähigkeit, Wachstum mit und ohne Sauerstoff, Biofilmbildung
- Vermehrungsfähigkeit auf feuchten Käseoberflächen bis  $>1$  Mio kbE/cm<sup>2</sup>
- Hürden gegen die Einschleppung von Listerien in den Käsereibetrieb bzw. den Käsekeller, sind absolut notwendig.
- Ein regelmässiges Listerien-Monitoring zeigt, ob die präventiven Massnahmen funktionieren, und hilft, wirtschaftlichen und reputativen Schaden abzuwenden.





**Danke für Ihre Aufmerksamkeit**

**Hans Winkler**

**[hans.winkler@agroscope.admin.ch](mailto:hans.winkler@agroscope.admin.ch)**



**Agroscope** gutes Essen, gesunde Umwelt

[www.agroscope.admin.ch](http://www.agroscope.admin.ch)

