

SO HÄLT DER EMMENTALERKÄSER DIE LISTERIEN UNTER KONTROLLE

Diskussionsgruppen für Emmentaler



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Volkswirtschafts-
departement EVD
Forschungsanstalt
Agroscope Liebefeld-Posieux ALP

Inhalt

1	Was man über Listerien wissen muss	1
2	Nachweismethoden / Probenerhebung	2
2.1	Allgemeines zur Untersuchung	2
2.2	Probefassung	2
3	Listerienkontaminationen beim Emmentaler	3
4	Kontaminationsquellen mit Listerien im Käseereibetrieb	3
5	Massnahmen bei Listerien positivem Befund	4
5.1	Listeria monocytogenes auf der Käseoberfläche	4
5.2	„andere“ Listerien auf der Käseoberfläche	5
6	Massnahmen zur Verhinderung von Listerien	7
6.1	Nützliche Tipps:	7
6.2	Listerien-Monitoring-Programm (LMP)	7
7	Verbindung Milchproduzent - Käser - Käsehändler	8
7.1	Milchproduzent - Käser	8
7.2	Käser - Käsehändler	8
8	Schadenfall durch Listerien	8
9	Neue mikrobiologische Methoden zur Listerienbekämpfung	8
9.1	Einsatz von Schutzkulturen gegen Listerien	8
9.2	Listerienbekämpfung mittels Bakteriophagen	10
10	Neue Grenzwerte in Vorbereitung	11
11	Zusammenfassung	13

1 Was man über Listerien wissen muss

Listerien sind ubiquitäre Keime, das heisst sie kommen überall in der Umwelt vor. Von den 7 Arten von Listerien ist nur eine Art für Menschen gefährlich: *Listeria monocytogenes*, der Erreger der Listeriose. Diese Krankheit tritt beim Menschen sehr selten auf, in der Schweiz sechs bis zehn Fälle jährlich pro 1 Million Einwohner (BAG-Bulletin 12/2006).

Listerien sind opportunistische Keime, das heisst in der Regel erkranken nur Personen an einer Listeriose, deren Immunsystem bereits durch eine bestehende Grundkrankheit oder durch sonstige Gegebenheiten (z.B. Schwangerschaft oder Rekonvaleszenz) belastet oder geschwächt ist. Eine Infektion mit *Listeria monocytogenes* kann mit Antibiotika relativ erfolgreich behandelt werden, trotzdem sterben rund 17% der erkrankten Personen.

Listerien kommen in der Natur weit verbreitet vor: In Böden, Pflanzen, Abwasser, Silage oder auch in Ausscheidungen von Menschen und Tieren. Dementsprechend gross ist die Gefahr, Listerien über Personen, Material oder Produkte in einen Produktionsbetrieb einzuschleppen. Es ist unmöglich, in

einem Betrieb eine absolute Listerienfreiheit zu garantieren. ALP hat von diesem Anspruch bereits in den 1990-er Jahren Abstand genommen und seit 1995 in den entsprechenden Schulungsunterlagen für Käserdiskussiongruppen und Beratungsunterlagen die Beherrschung der Abläufe (auf der Grundlage von Prävention, Monitoring und Notfallmassnahmen) in den Vordergrund gestellt. Dies soll vor allem sicherstellen, dass bei einer akuten Notlage der Problemherd schnell erkannt wird und keine Kreuzkontaminationen erfolgen. Ein gut ausgebautes Sicherheitskonzept, das in der Realität auch umgesetzt wird und die regelmässige Überwachung der erkannten Risikofaktoren, bilden die Grundlage für eine problemfreie Produktion. Wichtig in diesem Zusammenhang sind die im betriebseigenen Sicherheitskonzept (HACCP) formulierten Massnahmen (was tun wir, wenn...), damit im Notfall sehr schnell und sehr bestimmt gehandelt werden kann. Diese Prinzipien gewährleisten, dass jeder Betrieb in der Lage ist, hygienisch unbedenkliche Produkte herzustellen und zu vertreiben.

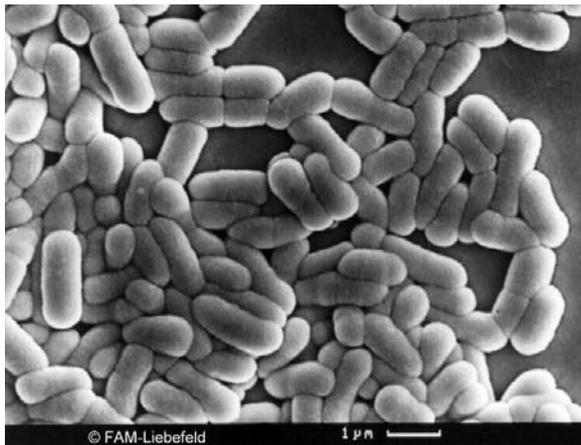


Abb. 1: Listerien unter dem Elektronenmikroskop

Tabelle 1: Wichtige Eigenschaften von *L. monocytogenes*.

Merkmal	Wert	Bemerkung
Temperatur (Wachstum)	1 bis 45°C (Optimum 37°C)	Minimum in Milch - 0.4°C
Generationszeit (Milch)	4°C: 29 - 40 h 8°C: 9 -14 h	
pH-Wert	pH 4.4 - 9.4 (Optimum pH 7.0)	
a _w -Wert	≥ 0.92 (Wachstum bis 10% NaCl)	
Sauerstoffbedarf	Fakultativ anaerob (mikroaerophil)	Toleriert hohe CO ₂ -Konzentration (> 30%)
Hitze-Resistenz Milch / Fleisch	*D-Werte bei 65°C: 28-93 s D-Werte bei 71.7°C: 4.1-12 s *Bedingungen um 90% abzutöten	Folgerung: bei einer Milchthermisation von 65°C/15s werden 30-70 % abgetötet
Resistenz gegen Trockenheit	langfristiges Überleben	
Desinfektionsmittel	i.Allg. geringe Resistenz gegenüber Desinfektionsmitteln	Achtung: Bei zu niedriger Anwendungskonzentration können sich gegen quaternäre Ammoniumverbindungen (QAV) resistente Stämme entwickeln!

2 Nachweismethoden / Probenerhebung

2.1 Allgemeines zur Untersuchung

ALP verfügt über eine hauseigene Methode für den qualitativen Nachweis von *Listeria monocytogenes* mit Hilfe einer Gensonde in Milch, Milchprodukten und Hilfsstoffen. Diese Methode wird vor allem für die Analysen im Rahmen des Listeria-Monitoring-Programmes (LMP) angewendet. Für die Abklärung von Kontaminationsquellen und -wegen müssen oft Käserieabfälle, Abwasser, Holzsplitter, Sand, Tupferabstriche von Oberflächen u.a. untersucht werden. Die Methode

ist jedoch für diese Probenarten nicht validiert. Auf dem Prüfbericht wird darauf hingewiesen.

Für die Untersuchung genussfertiger Milch und Milchprodukte nach schweizerischem Lebensmittelrecht (HyV) steht die Methode "Listeria monocytogenes ACCUPROBE Endproduktkontrolle" zur Verfügung.

	Listeria-Monitoring- Programm	Endproduktkontrolle
Norm	Hauseigene Methode (modifizierte Methode EN-ISO 11290-2)	EN-ISO 11290-2
Probenahme durch	Käserei, Handelslager	Käserei, Handelslager
Probemenge	10 g Rinde oder Schmiere, Tupfer für nicht geschmierte Käse mit glatter Oberfläche	25 g genussfertiger Anteil
Resultatangabe	"n.n." (nicht nachgewiesen) "andere Listerien" "Listeria monocytogenes"	"n.n." (nicht nachgewiesen) "Listeria monocytogenes"
Zweck	suchen und finden von Infektionen, Screening: Sagt etwas über den Betrieb aus	lebensmittelrechtliche Probe: Sagt etwas über das Produkt aus
Untersuchungsdauer	72 Stunden, (ab Frühling 2007 noch 48 Stunden)	72 Stunden

Was bedeutet das Resultat:

"n.n.":

"andere Listerien"

"Listeria monocytogenes"

bitte beachten:

Im untersuchten Probenmaterial konnten keinerlei Listerien nachgewiesen werden.
Im untersuchten Probenmaterial wurden andere Arten von Listerien nachgewiesen, aber keine *L. monocytogenes*.

Im untersuchten Probenmaterial wurden *L. monocytogenes* nachgewiesen.

Die Aussage im Prüfbericht beschränkt sich auf das an das Labor eingesandte und untersuchte Probenmaterial. Auf die Probenahme (wie wurde die Probe genommen?) und die Repräsentativität der Probe (wie viel Material von wie vielen Käsen aus einem oder mehreren Kellern?) hat das Labor keinen Einfluss.

2.2 Probefassung

Analysen im Rahmen des LMP sollen Aussagen über den Hygienezustand der Betriebe im Bezug auf *L. monocytogenes* liefern. Proben werden routinemässig von der Käseoberfläche und, wenn nötig, auch von der Umgebung (z.B. Wasser, Abläufe, Kondenswasser, Abstriche von Böden, Wänden, Maschinen, Türklinken) genommen. Für die Anleitung wie eine Probe genommen werden soll, gibt es von ALP eine "Richtlinie für die Probefassung".

Die Häufigkeit der Probenahme und die Anzahl der Proben für eine Untersuchung im Rahmen des LMP ist spezifisch für jeden Betrieb und muss als Einzelfall beurteilt werden. Als Faustregel gelten:

1. Die minimalen Anforderungen der Sortenorganisation sollten eingehalten werden.
2. Bei Resultaten mit "andere Listerien" sollten Nachkontrollen durchgeführt und zusätzlich Umgebungsproben gefasst werden. Bei wiederholten solchen Resultaten sollte eine Beratung durch den regionalen Berater angefordert werden.
3. Betriebe, die sehr häufig untersuchen lassen und die seit Jahren keine listerien-positiven Befunde erhalten haben, können die Frequenz der Probenahme senken. Dabei aber nie unter das Minimum der Anforderungen der Sortenorganisation gehen.

3 Listerienkontaminationen beim Emmentaler

Beim Emmentaler überleben Listerien im Teig nicht. Es handelt sich immer um Oberflächenkontaminationen. Im Rahmen des LMP werden periodisch Käseoberflächen untersucht. Die Probenfassung erfolgt sowohl in der Käseereien wie auch in den Käsehandlungen.

Erfreulicherweise liegen die *L. monocytogenes* positiven Ergebnisse in den Käseereien durchschnittlich unter 1 % und in den Handlungen unter 4 %. Die sinkende

Tendenz in den letzten Jahren ist erfreulich. Die Ergebnisse zeigen, in den Handlungen prozentual mehr Listerien positive Proben gefunden werden als in den Käseereien. Dies erstaunt nicht, da die Verschleppung von Partie zu Partie wahrscheinlich ist. Auch bezüglich „andere Listerien“ liegen in den Käseereien verglichen mit den Handlungen weniger positive Ergebnisse vor.

4 Kontaminationsquellen mit Listerien im Käseereibetrieb

Damit eine Listerienkontamination möglichst ausgeschlossen werden kann, ist es von Vorteil, für die Käseerei relevante Kontaminationsquellen zu kennen

und vorbeugend entsprechende Verhinderungsmassnahmen zu treffen.

Besondere Risikobereiche Reifungskeller:

- Warenfluss (Kreuzkontaminationen)
- fehlende oder ungenügende Fuss- und Raddesinfektion bei allen Eintritten in Keller
- Auflagefläche und Rollen der Transportwagen
- Käseladen (Palette von Käsehandelsfirma)
- Betriebsfremde Käse für Ortverkauf oder als Dienstleistung
- Käsebankungen
- Spritzwasser vom Boden
- Käsepflegeutensilien (Eimer, Lappen, Roboter etc.)
- Personalhygiene (Schürzen, Stiefel, Hände, etc.)
- Käseputzmaschine (siehe Abb.2)
- Wasserschläuche



Abb. 2: Emmentaler-Käseputzmaschine

Salzbad:

- Salzbadgestelle

Fabrikation:

- Konsequente Trennung der verschiedenen Arbeitsvorgänge (Milchannahme, Fabrikation, Reifung, Verkauf, Schweinemast)

Mit einem konsequenten Umsetzen der guten Herstellungspraxis und einem sinnvollen HACCP-Konzept ist die Gewähr, dass die Gefahr von Listerien beherrscht wird gross.

5 Massnahmen bei Listerien positivem Befund

Mit dem heute angewendeten Listerienmonitoringprogramm der Sortenorganisation Emmentaler Switzerland (ES) ist ein bewährtes „Früherkennungs-

System“ eingeführt und gibt dem Käser Sicherheit. Wie reagiert der Käser bei einem Listerien positiven Probenergebnis?

5.1 *Listeria monocytogenes* auf der Käseoberfläche

Wird dem Käser ein positiver Untersuchungsbefund gemeldet, besteht unmittelbarer Handlungsbedarf:

1. Mitarbeiter informieren
 2. Nachkontrolle
 3. keine Käseauslieferung
 4. a) Käse mit positivem Befund sofort als separates Lot behandeln
b) Reinigung und Desinfektion der Umgebung
- c) Käse ab Salzbad als neues Lot einlagern
 - Käse auf gereinigten und auf unverletzten Unterlagen lagern
 - Waschwasser, Lappen, Scotch usw nur innerhalb dieses Lots verwenden
 - Separate Schürze und Handschuhe verwenden

Ergebnisse Nachkontrolle: wenn alle Ergebnisse *Listeria monocytogenes* negativ sind:

⇒ laufendes Monitoringprogramm ergänzen
d.h. befristet die Probenfrequenz erhöhen.

wenn ein positives Ergebnis vorliegt:

⇒ Information an Händler und Beratung
⇒ betroffene Käse mit Alkohol behandeln
und Nachkontrolle durchführen

- Der Einsatz von Alkohol während der Sanierung wird toleriert. Diese Behandlungsmethode soll sich aber nicht zur gängigen Praxis entwickeln. Käse ist ein Naturprodukt.
- Die Behandlung der Käseoberfläche mit Alkohol ist im Notfall eine gute Methode, die Verschleppung von Listerien zu verhindern.
- Alkohol mit Lebensmittel untauglichen Vergällungssubstanzen (z.B. MEK, Propanol) ist verboten.
- Die beste Wirkung zur Eliminierung der Listerien erbrachte eine 70 bis maximal 80 %-ige Alkohollösung, die mit einem Zerstäuber (Behälter mit Spritzpistole) direkt auf die Oberfläche gespritzt wird.
- Alkohol zur Behandlung der Käseoberfläche kann im Fachhandel bezogen werden.

Erstellen eines Sanierungskonzeptes (Der Beizug der Käseerberatung ist empfehlenswert)
Das Erstellen eines Sanierungskonzeptes beinhaltet:

a) Schwachstellenanalyse

- bauliche Situation
- Waren-, Material und Personenfluss
- Arbeitsabläufe aufzeigen (wie genau wird was wann gemacht)
- Analysen zur Aufdeckung von Kontaminationsherden
- Situation Ortsreserve Käse
- Welche Massnahmen wurden bereits ergriffen

b) Schwachstellen in Bezug auf Listerienkontaminationen definieren und gewichten

c) Erstellen eines Massnahmenkataloges

Für die Umsetzung sind die aufgeführten Massnahmen zu priorisieren. Massnahmen mit hoher Priorität, sind sofort zu erledigen. Diejenigen mit einer niedrigeren Priorität, sind mit dem Umsetzungstermin zu versehen.

Umsetzung der Massnahmen

Die Erfahrung bei betroffenen Betrieben zeigt immer wieder, dass in den meisten Fällen die Sanierungsmassnahmen (zu) schnell und mit aller Kraft angepackt werden. In dieser Phase ist zu beachten, dass nicht unüberlegtes Handeln wie z.B. mit Reinigungsarbeiten zum falschen Zeitpunkt oder an einem ungünstigen Ort durchgeführt werden und somit neue Listerienkontaminationen geschehen.

In dieser Phase ist es wichtig, die Umsetzung der einzelnen Massnahmen und die zeitliche Reihenfolge der Umsetzung mit der Beratung bis in die Einzelheiten abzusprechen.

Käsereinigungsmaschine: Die Wahrscheinlichkeit, dass Listereinkontaminationen durch die Käsereinigungsmaschine stattfinden, ist gross. Wenn die Käsereinigungsmaschine mit Listerien kontaminiert ist, genügt eine Reinigung und eine chemische Desinfektion unter Umständen nicht. Besonders kritisch sind kontaminierte Bürsten. Um eine kontaminierte Käsereinigungsmaschine wieder listerienfrei zu kriegen, empfiehlt sich eine:

- gründliche Reinigung und Desinfektion
- Revision (Ersatz der Bürste, Dichtungen und so weiter)

Kritische Punkte

Desinfektion von Käsebankungen: Holzbankungen und -unterlagen sind mit Hitze zu desinfizieren. Bei chemischer Desinfektion (insbesondere mit chlorhaltigen Produkten) besteht die Gefahr von unerwünschten chemischen Verbindungen (z.B. Chlorphenole), die vom Käse aufgenommen werden. Für eine erfolgreiche Hitzedesinfektion muss die Holzoberfläche pasteurisiert werden. Geeignet sind Dampfzellen oder Wasserbäder.

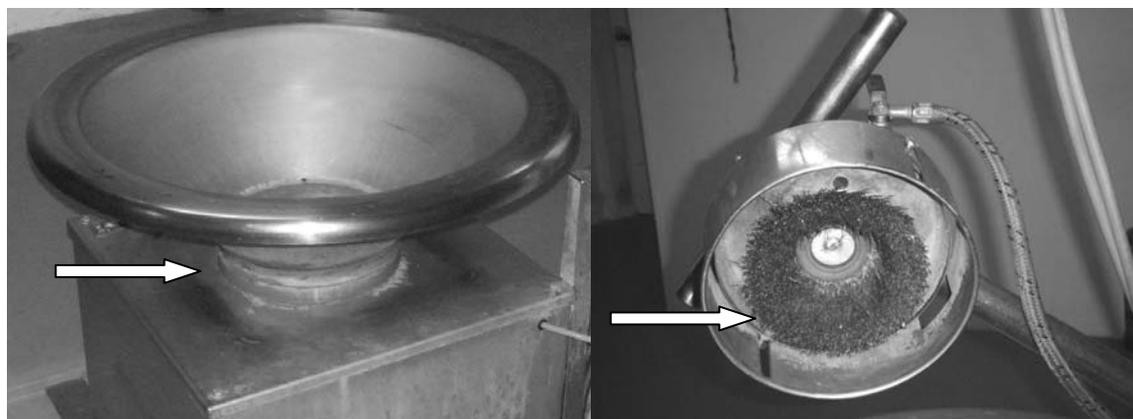


Abb. 4: Ersatz kritischer Teile der Käsereinigungsmaschine

→ Langzeitpasteurisation der Maschine (Material muss während mindestens 30 Minuten 65 °C aufweisen, zu hohe Temperaturen sind zu vermeiden). Bewährt hat sich die Erhitzung in einer Kammer mit Warmluft (Schreinerei, Metzgerei usw.), ev. vorsichtshalber elektronische Teile ausbauen.

Lotbildung: Der Sinn der Lotbildung ist ein in sich abgeschlossene Einheit. Ein Lot muss sich im Standort, den Käseunterlagen und den Käsepflegeutensilien klar abgrenzen.

Besonders kritische Punkte:

- mehrere Lots in einem Keller. Die mikrobiologische Kontaminationsgefahr von einem Lot zum andern wird erhöht
- wenn mehrere Personen das gleiche Lot pflegen
- striktes Einhalten aller Barrieren über längere Zeit

Salzlake als Kontaminationsquelle

Da Listerien, wenn auch selten, in der Salzlake gefunden werden, muss in einem Sanierungsfall auch

die Salzlake auf Listerien untersucht werden. Werden Listerien gefunden muss die Salzlake entkeimt oder ersetzt werden. Zur Entkeimung kann eine richtig durchgeführte UV-Behandlung oder (wenn technisch machbar) eine Pasteurisation empfohlen werden.

Probenplan nach einer Sanierung

Die Sanierung muss analytisch sinnvoll begleitet werden, um den Erfolg oder Schwachstellen sofort zu kennen. Zu empfehlen ist eine wöchentliche Kontrolle. Standardprogramm: **Käseoberfläche** und **Bodenprobe im Bereich des Ablaufes**. Tritt ein positives Ergebnis auf, sind sofort die nötigen Massnahmen zu treffen und eine erweiterte Nachkontrolle zu erheben.

5.2 „andere“ Listerien auf der Käseoberfläche

Wird dem Käser ein positiver Untersuchungsbefund gemeldet, sind die hygienischen Parameter im Kellerbereich zu überprüfen und sofort eine Nachkontrolle zu veranlassen.

Bei einem negativen Befund in der Nachkontrolle sind die Listerienkontrollen ebenfalls vorübergehend zu intensivieren.

wenn ein positives Ergebnis vorliegt:

⇒ In Absprache der Beratung muss über das Vorgehen bei der Sanierung entschieden werden. Um eine erfolgreiche Sanierung durchzuführen, braucht es auch im Falle von anderen Listerien ein gut durchdachtes Sanierungskonzept.

6 Massnahmen zur Verhinderung von Listerien

6.1 Nützliche Tipps:

Grundsätzlich kann jede Käserei plötzlich zum „Listerienfall“ werden. Daher ist Prävention gross geschrieben. Immer in „Alarmbereitschaft“ zu bleiben, ist eine echte Herausforderung. Daher ist es wichtig, ein auf den Betrieb angepasstes, schlankes aber auf tatsächliche Risiken basierendes Verhinderungskonzept „zu leben“! Mit einem gewissenhaft erstellten HACCP-Konzept wird die Gefahr von Listerien erfasst und die betriebspezifischen Massnahmen zur Beherrschung sind festgelegt.

- **Käseabtransport zur Handlung**
Das periodische Käseladen bedeutet eine zusätzliche Gefahr, dass Listerien in den Keller gelangen können. Besonders kritisch sind Palette und Rollis von extern. Mit Desinfektionsbäder für Rollis kann eine allfällige Verschleppung durch den Rolli verhindert werden. Besonders kritisch sind Paletten, da es aus logistischen Gründen für die Handelsfirma kaum machbar ist, ausschliesslich vorgängig gereinigtes und desinfiziertes Material einzusetzen. Daher ist der Standort der leeren Gebinde im Keller wichtig. Diese dürfen im Keller nur mit dem Boden in Kontakt kommen. Nach dem Käseladen ist der Boden gründlich zu reinigen und zu desinfizieren.
- **„Fremde Käse“ nie in Reifungskeller**
Mit der Einlagerung von „fremden Käsen“ wie auch bei Rücknahme von eigenen Käsen aus der Käsehandlung zur erneuten Reifung wird ein beträchtliches Risiko zur Einschleppung von Listerien eingegangen. Dies gilt es unbedingt zu vermeiden. Für den Ortsverkauf hat sich der Einkauf von konsumreifen Käsen, die bis zum Verkauf verpackt im Kühlraum zwischengelagert werden bewährt.



Abb. 5: gutes Beispiel einer Aufhängung ohne Deckebohrung

- **Stromkabel vom Käseroboter**
Das Stromkabel vom Käseroboter darf nicht über den Kellerboden gelegt sein, da über dieses immer wieder Kontakte vom Boden zur Schürze oder Hände des Käsepflegers oder aber direkt zu Käse oder Käseunterlagen auftreten. Die Führung des Kabel an der Kellerdecke ist oft die Lösung (siehe Abb. 5).
- **Käseunterlagen**
Wichtiger Grundsatz: keine Deckel und Bankungsladen auf den Boden stellen.
- **Fuss- und Raddesinfektion**
Mit einer konsequenten Fuss- und Raddesinfektion bei allen Eintritten in den Keller kann ein Listerieneintrag über Füsse und Räder verhindert werden – natürlich nur wenn die Desinfektionsanlagen richtig gewartet und ausnahmslos benutzt werden!

6.2 Listerien-Monitoring-Programm (LMP)

Ziel des Listeria-Monitoring-Programmes von ALP ist es, Infektionen im Betrieb so schnell wie möglich festzustellen, um unverzüglich Notfallmassnahmen einleiten zu können. Eine Kosten / Nutzen-Betrachtung des LMP darf sich nicht allein an den zu bezahlenden Analysenkosten ausrichten. Diese Ausgaben müssen

im Bezug auf einen möglichen Schadensfall angesehen werden.

Das LMP ist eine Massnahme im Vorbeugebereich um grosse Schadensfälle zu vermeiden. Eine Infektion im Betrieb baut sich in der Regel langsam auf und kann im Rahmen des LMP noch in der Frühphase erkannt und eingedämmt werden.

Wichtig: Analysenresultate mit *L. monocytogenes* nicht auf die leichte Schulter nehmen sondern unmittelbar darauf reagieren und die beschlossenen oder bereits vorgesehenen Massnahmen konsequent durchziehen. Sofort Beratung (MIBD oder ALP Listerien-Beratungsteam) beiziehen. Nicht zu lange warten und "pröbeln".

7 Verbindung Milchproduzent - Käser - Käsehändler

7.1 Milchproduzent - Käser

Listerien können auch mit der Rohmilch in die Käserei gelangen. Eine Untersuchung der ALP an mehr als 4'000 Lieferantenmilchproben zeigte, dass ca. 0.4 % der Proben *L. monocytogenes* enthalten. In weiteren 0.4 % der Proben konnten andere Listerienarten nachgewiesen werden. Uns ist ein Fall von Halbhartkäse, bei welchem *L. monocytogenes* aus Roh-

milch die Ursache für kontaminierte Käse im Teig war. Aufgrund der hygienischen Situation auf dem Produzentenbetrieb und der allgemein ungenügenden Milchqualität hätte die Milch nicht angenommen werden dürfen. Also: Nur käseereitaugliche Milch verarbeiten!

7.2 Käser - Käsehändler

Das Verschleppen von Listerien ist sowohl von der Käserei ins Handelslager wie auch vom Handelslager in die Käserei möglich. Damit dies verhindert werden kann, sind auf der Seite Käserei wie auf der Seite

Handelslager Konzepte aufzustellen und offen über die Situation bezüglich Listerien zu informieren. Eine gute Zusammenarbeit ist wichtig.

8 Schadenfall durch Listerien

Mit *L. monocytogenes* kontaminierte Käse führen sofort zu grossen wirtschaftlichen Schäden für den betroffenen Betrieb. Epidemieversicherungen übernehmen bei entsprechendem Vertrag diese Kosten. Mit allfälliger Regressnahme bei ungenügender Wahrnehmung der Sorgfaltspflicht (HACCP, GHP usw.)

muss gerechnet werden. Haftpflichtversicherungen kommen nur für Schäden an Dritten auf. Es ist für den Unternehmer wichtig, die für seinen Betrieb bestehenden Risiken zu analysieren und die richtigen Schlüsse zu ziehen.

9 Neue mikrobiologische Methoden zur Listerienbekämpfung

9.1 Einsatz von Schutzkulturen gegen Listerien

Seit Jahren ist bekannt, dass gewisse Stämme von Milchsäurebakterien, Propionsäurebakterien und anderen Mikroorganismen antimikrobielle Stoffe bilden, sogenannte Bacteriocine. Bacteriocine sind Eiweissstoffe mit einer typischen Kettenlänge von 20-45

Aminosäuren. Sie können sich an die Zellwand grampositiver Bakterien heften und diese für Zellinhaltsstoffe durchlässig machen. In der Folge bricht der Stoffwechsel der Zelle zusammen oder die Zelle lysiert sogar.

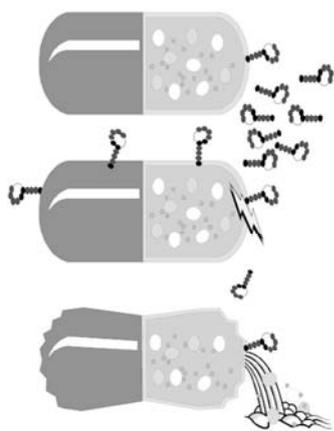


Abb. 6
Wirkungsweise von Nisin auf gram+ Bakterienzellen.

1. Adsorption an der Zellwand.
2. Zellwand wird durchlässig.
3. Leckage führt zu Inaktivierung der Zelle. (Bild Danisco)

Als Resultat der Bacteriocinforschung sind in den vergangenen Jahren verschiedene Produkte zur Bekämpfung unerwünschter Mikroorganismen auf den Markt gekommen.

Grundsätzlich gibt es vier Sorten von Produkten (Abb. 7)

- Getrocknete Rohextrakte von bacteriocinproduzierten Kulturen (Fermentate)
- Gereinigte Bacteriocine
- Schutzkulturkonzentrate zur Beimpfung und Vermehrung im Lebensmittel
- bacteriocinangereicherte Schutzkulturkonzentrate, die ihre Schutzwirkung auch ohne Vermehren entfalten.

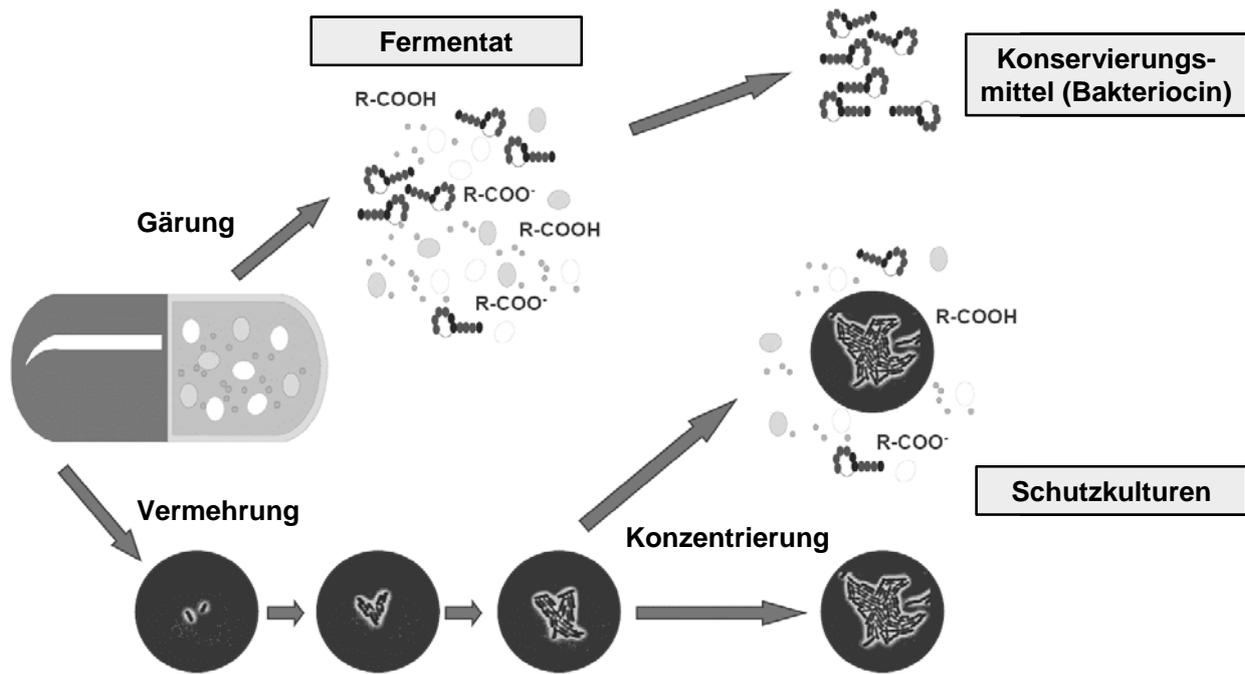


Abb. 7 Technologische Nutzung von bakteriocinbildenden Kulturen (Bild Danisco)

Bekanntestes Produkt ist das Bakteriocin Nisin, welches auch in der Schweiz seit einigen Jahren als Konservierungsmittel für Käse, Schmelzkäse und Crèmes zugelassen ist. Nisin wird aus einem speziellen Stamm von *Lactococcus lactis* gewonnen und wirkt, wie eingangs erwähnt gegen gram-positive Bakterienarten, zum Beispiel:

- Clostridien (Buttersäure- und Putrifikus-Sporen)
- *Bacillus* sp.
- Mikrokokken
- Laktobazillen
- Listerien

Der Einsatz von Nisin oder ähnlichen Zusatzstoffen ist bei den meisten Schweizer Käsesorten ausgeschlossen, sei es wegen privatrechtlicher Vereinbarungen innerhalb der Sortenorganisationen oder wegen Labelvorschriften (AOC, Biokäse). Gelangt der Zusatzstoff in den essbaren Anteil des Käses, ist er ausserdem zwingend zu deklarieren.

Statt die Bakteriocine zu isolieren und als Zusatzstoffe können - wie oben (Abb. 7) dargestellt - auch Kulturen eingesetzt werden, welche Bakteriocine produzieren.

Danisco der Pionier auf diesem Gebiet solcher Schutzkulturen, bietet unter dem Namen Holdbac® *Listeria* eine Schutzkultur zur Bekämpfung von *Listeria monocytogenes* in Käse an. Es handelt sich dabei um einen Stamm des heterofermentativen *Lactobacillus plantarum*, der das Bakteriocin Pediocin ACh bildet. Der Hersteller bemerkt zur Kultur: „Die Kultur inhibiert erwiesenermassen das Wachstum von Listerien auf der Oberfläche von Weichkäse. Die Wirkung hängt vom Stamm und von der Spezies ab.“

Der Einsatz von Schutzkulturen bedeutet nicht, dass die Hygiene vernachlässigt werden kann“.

Holdbac® *Listeria* wird direkt zum Schmierewasser geschüttet. Bei Käse vom Format eines Raclette-Käses kostet eine einmalige Behandlung der gesamten Oberfläche rund 40 Rappen pro Laib. Der Hersteller empfiehlt, die Behandlung alle drei Wochen zu wiederholen, da das Bakteriocin durch die Proteasen der Schmierflora abgebaut wird.

Aus der Art der Anwendung lässt sich schliessen, dass die Wirkung der Schutzkultur auf dem bereits im Pulver enthaltenen Pediocin beruht. Der oben zitierte Hinweis des Herstellers zeigt zudem, dass die heute verfügbaren Schutzkulturen nicht das Patentrezept zur Lösung von Listerienproblemen in der Käseherstellung darstellen.

In der Tat sind zur langfristig erfolgreichen Bekämpfung von Listerien mittels Schutzkulturen verschiedene Hürden zu überwinden:

- Bildung von resistenten Listerienstämmen
- Mögliche Hemmung von erwünschten Gärorganismen (Säuerungsstörung, Veränderung der Schmierflora)
- Abhängigkeit der Schutzwirkung (Bakteriocinbildung) vom Milieu. Eventuell sind spezielle Kulturmedien erforderlich.

Für die Praxis bedeuten Schutzkulturen für **schmieregeriffte** Käse einen interessanten Ansatz und die weitere Entwicklungen in diesem Bereich sind zu verfolgen. Noch sind aber - wie oben angedeutet - viele Fragen offen, nicht zuletzt auch die Frage der Deklarationspflicht und der Übereinstimmung mit dem Pflichtenheft der jeweiligen Käsesorte.

9.2 Listerienbekämpfung mittels Bakteriophagen

Einen ganz anderen Ansatz zur Bekämpfung von pathogenen Keimen verfolgt die niederländische Firma EBI Food Safety. Forscher um Prof. Loessner, Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften ETH Zürich, entdeckten einen Bakteriophagen, welcher ein

sehr breites Wirkungsspektrum gegen *Listeria monocytogenes* und andere Listerienarten hat. Unter dem Namen Listex® P100 bietet die Firma EBI Food Safety seit einigen Monaten eine solche Phagensuspension zur Bekämpfung von Listerien an.



Abb. 8.
Befall einer Bakterienzelle durch
Bakteriophagen (Bild: EBI Food Safety)

Zum Schmierwasser hinzugefügt, befallen die Listerienphagen allenfalls vorhandenen Listerienzellen und spritzen ihre DNA in die Zelle (Abb. 8). Die Phagen-DNA übernimmt in der Folge die Kontrolle über die Zelle und leitet die Produktion neuer Phagen ein. Schliesslich wird die Zellwand abgelöst, wodurch die Zelle abstirbt und bis zu mehreren hundert neue Phagen freigesetzt werden.

Dank der sehr hohen Wirtsspezifität sind von Listerienphagen keine Auswirkungen auf die Entwicklung von Gärorganismen oder die Eigenschaften der Schmiere zu befürchten. Nach Angaben des Herstellers wirkt Listex gegen mindestens 99% der Stämme von *L. monocytogenes*.

In Flüssigkulturen mit 10'000 KBE/ml von *L. monocytogenes* waren etwa 10⁸ Phagen pro ml notwendig, um alle lebenden Zellen zu infizieren und abzutöten. Schon im Reagenzglas ist also sehr hohe Phagendichte notwendig. In der Schmiere und im Schmierwasser

muss eine hohe Phagendichte erst recht gewährleistet sein, da die Listerien hier unter Umständen besser geschützt sind. Bei ungenügender Phagendichte steigt die Gefahr der Resistenzbildung. Es ist also sehr wichtig, die empfohlene Dosierung nicht zu unterschreiten.

Da es sich bei Listex P100 um ein junges Produkt handelt, gibt es noch wenig Praxiserfahrungen. Wegen der Möglichkeit der Resistenzbildung bieten auch Phagen keinen absoluten Schutz vor Listerien. Auch Phagen sind daher kein Ersatz für die bewährten Hygienemassnahmen zur Vermeidung von Listerienkontaminationen.

Obwohl es noch an breiten Erfahrungen mangelt, sind für die neuen Methoden der Listerienbekämpfung durchaus interessante Einsatzmöglichkeiten denkbar. Zum Beispiel als Instrument der Krisenintervention oder als zusätzliche Sicherheitsmassnahme bei der Annahme von Käse im Handel.

10 Neue Grenzwerte in Vorbereitung

Im Zuge der weiteren Harmonisierung zwischen den Lebensmittelgesetzgebungen der Schweiz und der EU wird die Hygieneverordnung vom 23. November 2005 eine Reihe von Veränderungen erfahren. Betroffen sind auch Vorschriften betreffend Listerien.

Gemäss dem vorliegenden Revisionsentwurf sind folgende Neuerungen zu erwarten:

Art. 58d (neu) Probenahmen von Fabrikationsräumen, Einrichtungen und Apparaten

Betriebe, welche genussfertige Lebensmittel herstellen, die anfällig auf Infektionen durch *Listeria monocytogenes* sind, werden verpflichtet in Rahmen ihres Probenahmeplans regelmässig Umgebungsproben in Fabrikationsräumen und von Einrichtungen und Apparaten zu erheben.

Lebensmittelsicherheitskriterien - Grenzwerte

Bislang galten bezüglich *Listeria monocytogenes* folgende Limiten:

1. Verordnungen über die Qualitätssicherung in der Milchverarbeitung und in Käsebereitung und Käseverpackung (Geltungsbereich: Exportkäse in Fabrikations- und Handelsbetrieben; Vollzug: MIBD)
 - Käse inkl. anteilmässige Oberfläche: *L. monocytogenes* n.n. in 25 g
2. Hygieneverordnung vom 23. November 2005 (Geltungsbereich: alle Käsesorten bei der Inverkehrbringung; Vollzug: Kantonschemiker)
 - Käse (für den Verzehr geeigneter Anteil): *L. monocytogenes* n.n. in 25 g

Das Problem der unterschiedlichen Massstäbe, d.h. dass die Rinde gemäss den QS-Verordnungen in die Untersuchung miteinzubeziehen war, in der Hygieneverordnung aber nicht, wird ab dem 1. Januar 2007 endgültig beseitigt sein, da die QS-Verordnungen auf diesen Zeitpunkt ausser Kraft treten.

Mit der bevorstehenden Revision wird aber auch der Grenzwert angehoben: Im vorliegenden Revisionsentwurf zur HyV, Anhang 1 – Lebensmittelsicherheitskriterien, Grenzwerte, gelten für *Listeria monocytogenes* die Zukunft folgenden Kriterien :

Produktgruppe	Stichprobenplan		Grenzwert KbE m = M
	n	c	
1) Genussfertige Lebensmittel, welche die Vermehrung von <i>L. monocytogenes</i> begünstigen können *)	5	0	100 pro g
2) Genussfertige Lebensmittel, welche die Vermehrung von <i>L. monocytogenes</i> nicht begünstigen können **)	5	0	100 pro g

n = Anzahl der Proben

m = Schwellenwert für die Keimzahl; das Ergebnis gilt als zufriedenstellend, wenn die Keimzahl jeder einzelnen Probe den Wert „m“ nicht übersteigt

M = Höchstzahl für die Keimzahl; das Ergebnis gilt als nicht befriedigend, wenn die Keimzahl einer oder mehrerer Proben den Wert „M“ erreicht oder überschreitet

c = Anzahl der Proben mit einer Keimzahl zwischen „m“ und „M“; das Ergebnis gilt als akzeptabel, wenn die Keimzahl der übrigen Proben höchstens den Wert „m“ erreicht

*) Die Verantwortliche Person im Lebensmittelbetrieb muss nachweisen können, dass das Produkt die Grenzwerte während der Haltbarkeitsdauer nicht überschreitet.

***) In diese Kategorie fallen die folgenden Produkte :

- Produkte mit $\text{pH} \leq 4.4$ oder einem aw-Wert ≤ 0.92
- Produkte mit $\text{pH} \leq 5.0$ und aw-Wert ≤ 0.94
- alle Produkte mit einer Haltbarkeit von weniger als 5 Tagen

Die Bestimmungen gelten für Produkte auf dem Markt bis zum Ablauf des Haltbarkeitsfrist.

Was bedeuten die angekündigten Grenzwerte für die Praxis?

Einteilung der Käse

- Alle traditionellen Schweizer Käsesorten fallen in die Kategorie der Lebensmittel, welche die Vermehrung von Listerien begünstigen können, da ihr a_w -Wert generell über 0.94 liegt. Nur Frischkäse mit einer Haltbarkeit von weniger als 5 Tagen fallen in die zweite Kategorie.
- Das heisst, gerade bei vorverpackten Käsen und bei Käsen, deren Rinde ganz oder teilweise mitkonsumiert wird sind **Untersuchungen am Verfalldatum** zwingend. Nur für Frischkäse mit einer Haltbarkeit von weniger als 5 Tagen genügt die Untersuchung im Moment der Inverkehrbringung.

Höherer Grenzwert – neue Methode

- Der neue quantitative Grenzwert von 100 KbE/g ist theoretisch 2500 mal höher als bisherige qualitative Grenzwert „nicht nachweisbar in 25g“. (Der Grenzwert „nicht nachweisbar in 25g“ wird in Zukunft nur noch für Säuglingsnährmittel gelten.) Die Zahl 2500 ist ein theoretischer Wert, da zur Überprüfung des quantitativen Grenzwertes eine andere Labormethode zur Anwendung kommt (siehe Abb. 9).

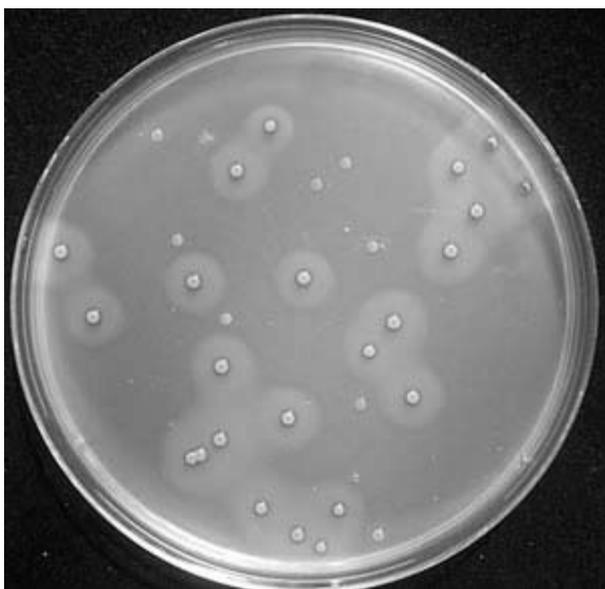


Abb. 9:
Quantitative Bestimmung von Listerien auf einem Selektivagarmedium. *L. monocytogenes* bildet hellblaue Kolonien mit trübem Hof.
(Bild: Oxoid Ltd., Basingstoke GB)

- Die bisher praktisch ausschliesslich angewandte qualitative Methode (Anreicherungsverfahren) kann, wenn sie positiv ist, keine Aussage darüber machen, ob der Grenzwert von 100 KbE/g allenfalls überschritten ist oder nicht. Trotzdem wird die qualitative Methode für die Branche die wichtigere Methode bleiben: Der Befund „Listerien nicht nachweisbar“ wird auch in Zukunft das Ziel Käses bleiben.
- Bei den amtlichen Kontrollen von Käseproben wird die quantitative Methode zur Anwendung kommen. Wegen des höheren Grenzwertes ist zu erwarten, dass die Häufigkeit von Grenzwertüberschreitungen dann zurückgehen wird.

Untersuchungen nach Stichprobenplan

- Qualitätskontrollen nach Stichprobenplänen konnten schon die bisherigen Verordnungen über die Qualitätssicherung, fanden aber in der Praxis kaum Anwendung.

Die zukünftige Vorgabe bezüglich *Listeria monocytogenes* von $n = 5$ und $c = 0$, $m = 100$ bedeutet, dass von $n = 5$ Proben aus einem Warenlos höchstens $c = 0$ Proben den Wert $m = 100$ KbE/g erreichen oder überschreiten dürfen.

Was ein Warenlos ist, muss der Betrieb und/oder sein Händler selbst definieren. Es wird in vielen Fällen zweckmässig sein, das eine Monatsproduktion als Warenlos zu definieren. Um dieses Warenlos zu beurteilen müssten also fünf Proben entnommen werden und quantitativ auf Listerien geprüft werden.

Trotzdem wird sich beim Hartkäse, wo Listerien in Hartkäse ausschliesslich auf der Oberfläche vorkommen, die bisherige einfache Probenahmepraxis mittels eines Abstrichtupfers weiterhin behaupten. Dies aus folgenden Gründen:

- Die qualitative Untersuchung einer Abstrichprobe von mehreren Käse erlaubt eine mindestens so sichere Aussage, wie fünf quantitative Einzelanalysen
- Der Handel akzeptiert keine positiven Käse auch wenn die Keimdichte unter 100 KbE/g liegt.

Für das Listerienmonitoring werden die bevorstehende Revision der Hygieneverordnung keine grossen Veränderungen zur Folge haben.

11 Zusammenfassung

Listeriosen treten relativ selten auf. Die Krankheit ist aber für schwangere Frauen und ungeborene Kinder in hohem Masse lebensbedrohend und daher sehr ernst zu nehmen. Obwohl nur *Listeria monocytogenes* gefährlich ist akzeptiert der Handel aus Sicherheitsgründen meist nur Käse, welche keinerlei Listerien enthalten.

Listerienkontaminationen bei Emmentalerkäse beschränken sich auf die Käserrinde, sind also ein Problem der Käsereifung. Hier gilt es, die Einrichtungen und Betriebsabläufe immer wieder auf mögliche Kontaminationsrisiken zu überprüfen und diese konsequent zu eliminieren. Ein regelmässiges Listerienmonitoring hilft, übersehene Schwachstellen zu erkennen, und einen allfälligen Schaden zu begrenzen.

Bei positivem Listerienbefund ist eine gründliche Analyse der Situation (Umfang, mögliche Ursachen,

Schwachstellen etc.) und eine sorgfältige Planung und Umsetzung der zu treffenden Massnahmen angezeigt. Neue mikrobiologische Produkte zur Listerienbekämpfung wie die Schutzkultur Holdbac® oder die Phagensuspension Listex® sind kein Ersatz für ein durchdachtes Hygienekonzept, das im Betriebsalltag lückenlos umgesetzt wird.

Mit der nächsten Revision der Hygieneverordnung werden die Betriebe neben der Endproduktkontrolle auch zu einem Umgebungsmonitoring auf Listerien verpflichtet. Ausserdem wird der bisherige qualitative Grenzwert „n.n. in 25 g“ durch eine quantitative Limite von 100 KbE/g abgelöst. Für das Listerienmonitoring wird diese Limite jedoch keine grossen Veränderungen zur Folge haben.

