

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF

Agroscope

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

Listerien bei der Käseherstellung und -reifung

Gruyère- und Halbhartkäsetagung

Sempach, 26. Oktober 2023

Thomas Aeschlimann, Agroscope Liebefeld, Autor: Dr. E. Jakob, FoodCon

Inhalte

Teil 1

- Einleitung Bedeutung Listerien
- Eigenschaften von Listerien
- Verhalten von Listerien in Käse
- Vorkommen
- GHP-Massnahmen gegen Listerien
- Listerien-Untersuchungen gem. QM-Fromarte 2023
- Umfeldmonitorung (Zweck, Methodik)

Teil 2

Praktischer Teil in der Käserei Trutigen (Schwachstellenanalyse, Knotenpunkte im Betrieb, Probennahmeplan, Auswertung)

Listerioseausbrüche in der Schweiz

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

Agroscope

Bakteriengattung Listeria Stand 2020

L.monocytogenes

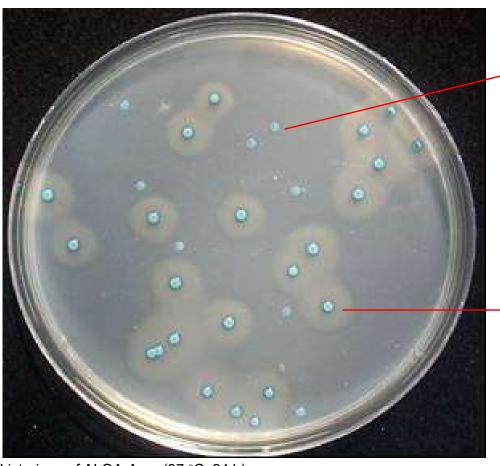
- L.Innocua
- L. Seeligeri
- L. Ivanovii
- L. Marthii
- L. Welshimeri
- L. Grayi
- L. Booriae
- L. Fleischmannii
- L. weihenstephanensis
 - ... (11 weitere Arten)

Listeria sensu stricto

Listeria sensu lato

Klassischer Listeriennachweis

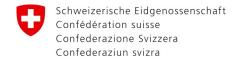
(quantitativ)



Listeria innocua / Listeria seeligeri

Listeria monocytogenes

Listerien auf ALOA-Agar (37 °C, 24 h)



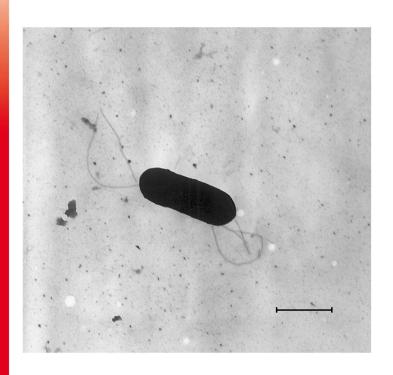
Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF

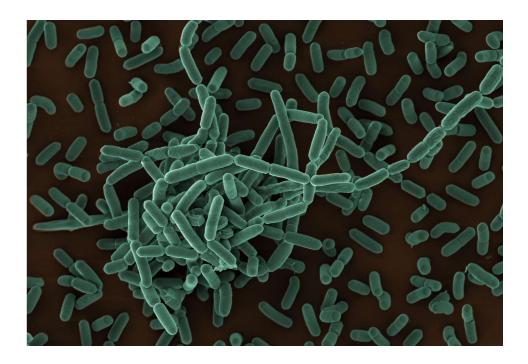
Agroscope

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

Technologisch relevante Eigenschaften der Listerien

Listeria monocytogenes





Bildquellen:

Elizabeth White. 2002. Public Health Image Library. US Centers of Disease Control and Prevention CDC (links) Petra Kaiser, Robert Koch Institut (rechts)

Technologisch wichtige Eigenschaften

bewegliche Stäbchen

bilden keine Sporen fakultativ anaerob (mikroaerophil)

Hitzetoleranz in Milch

D-Wert 65°C: 15 - 90 sec

 $65^{\circ}\text{C}/15\text{s} \rightarrow 30 - 90\%$ Reduktion

Salztoleranz: Wachstum bis 12% NaCl (a_w 0.927)

Säuretoleranz: Wachstum ab 3.5-5.0

Kältetoleranz: Wachstum ab -0.5°C

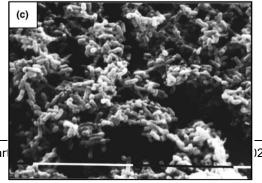
Generationszeit bei 8°C: 9 - 14 h

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 ohne Kalkbinder

 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, 2nd Edition)



7 Tage alter Biofilm von L. monocytogenes auf Edelstahl

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

Wirksamkeit der Desinfektion

Problem Biofilm

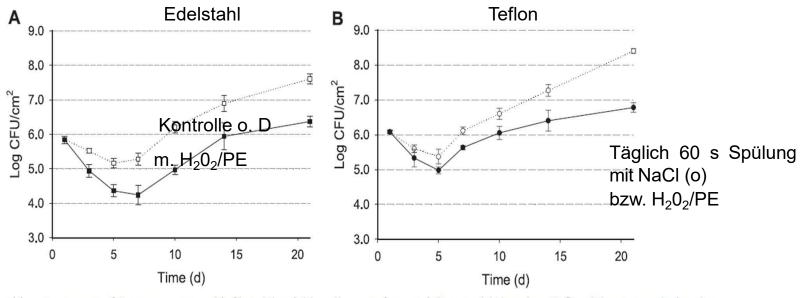
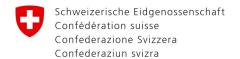


FIG. 2. Sanitizer treatments of *L. monocytogenes* biofilms. The viable cell counts from stainless steel (A) and on Teflon (B) coupons during the 3-week SFP system are shown. The dotted lines (open symbols) represent the control samples without sanitizer treatment. The solid lines (filled symbols) represent the Matrixx samples. The error bars indicate the standard deviation.

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



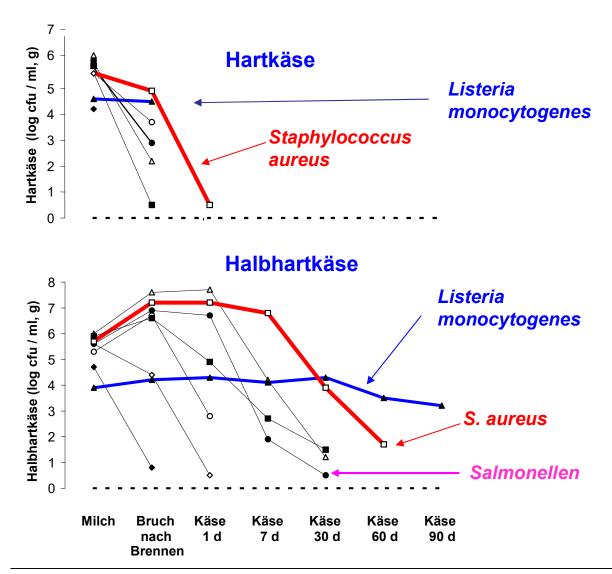
Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF

Agroscope

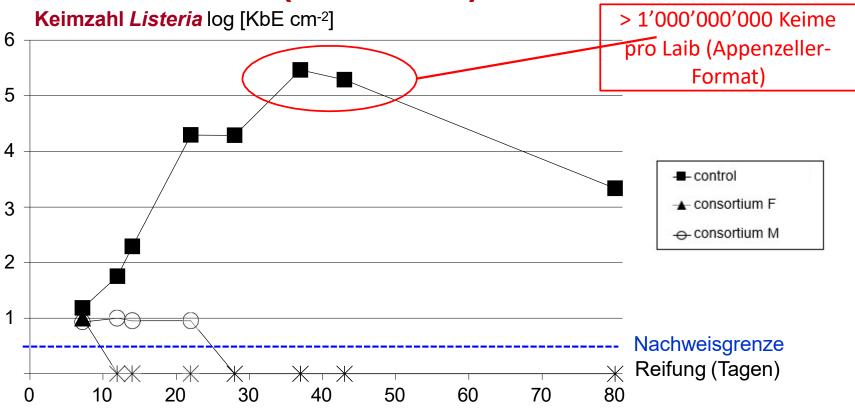
Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

Verhalten von Listerien im Käse

Überleben von Listerien im Käse

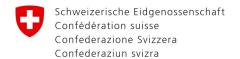


♥ Verhalten von L. monocytogenes in Käse- Rinde (HH-Käse)



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

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



Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF

Agroscope

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

Vorkommen von Listerien

Listerienvorkommen in der Natur



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

30 % der Bodenproben pos. in 25 g

26 % der Wasserproben pos. in 500 mL

5 % der Proben mit mehr als einer Spezies

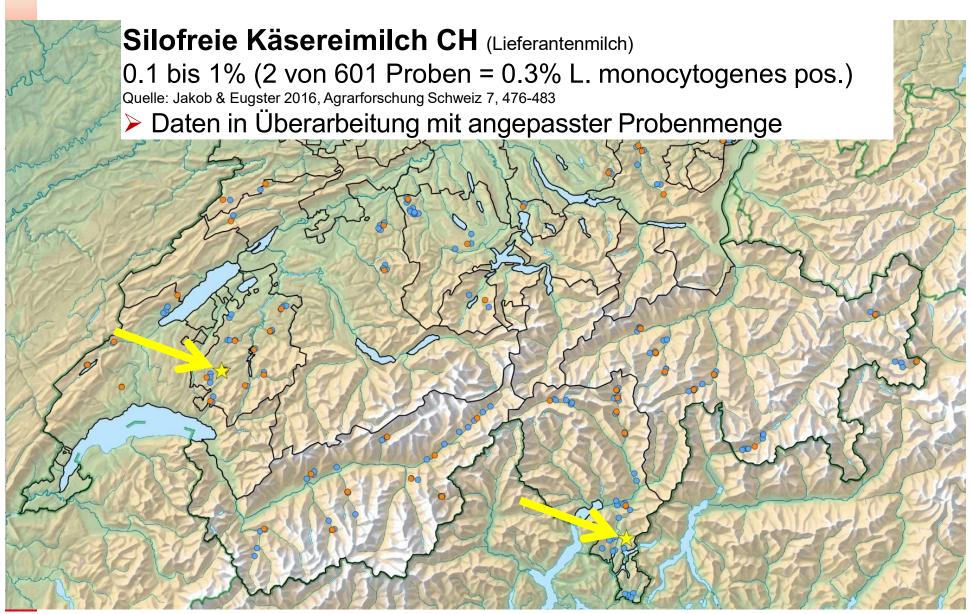
Mehr L. mono. In landw. und und urbanen Regionen.

Listerien in Stuhlproben gesunder Menschen

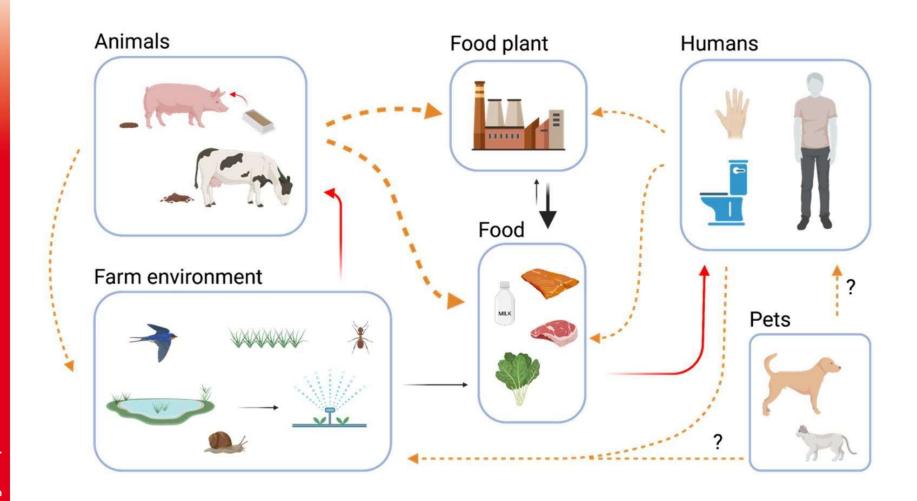
Land (Quelle)	N	L. monocytogenes	L. ivanovii	L. welshimeri	L. innocua
Frankreich (1)	900	10 % (PCR)	4 %	1 %	
USA (2)	827	0.12 %			
Österreich (1)	505	0.2 %			
Deutschland (1)	2000	0.8 %			2 %

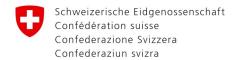
- (1) Schoder, Guldimann & Märtlbauer, 2022. Foods 2022, 11, 3472 (17 p.)
- (2) Sauders B.D. et al. 2005. J. Food Prot. 68 (1), 178-181

Prävalenz von L. monocytogenes auf Rohmilch



Kontaminationswege





Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF

Agroscope

Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln MSL

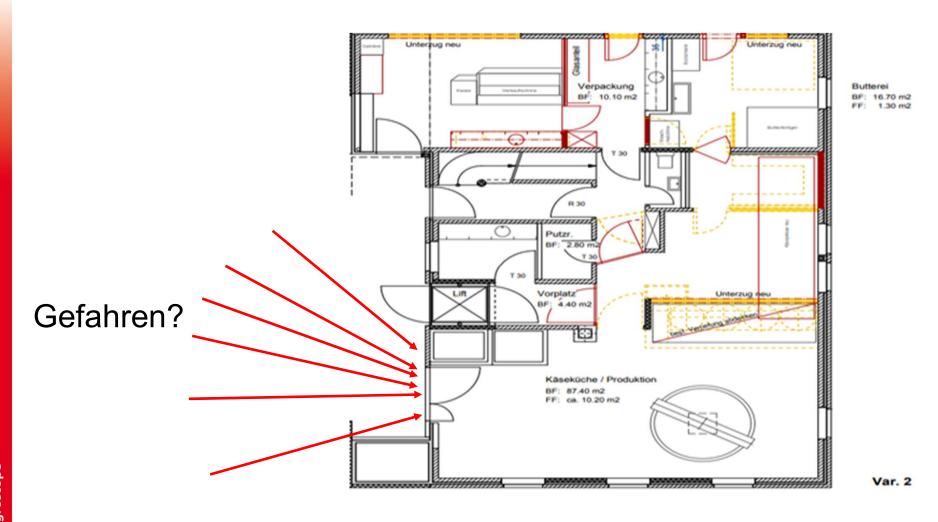
Gute Hygienepraxis

Massnahmen gegen Listerien

Thomas Aeschlimann

Agroscope

♥ Listerienprävention (GHP)



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

Reinigungsutensilien etc.)









Listerienkurs, Gruppe Hart -Thomas Aeschlimann

ber 2023

Hygienenisches Design, intakter Zustand, Farbkonzept







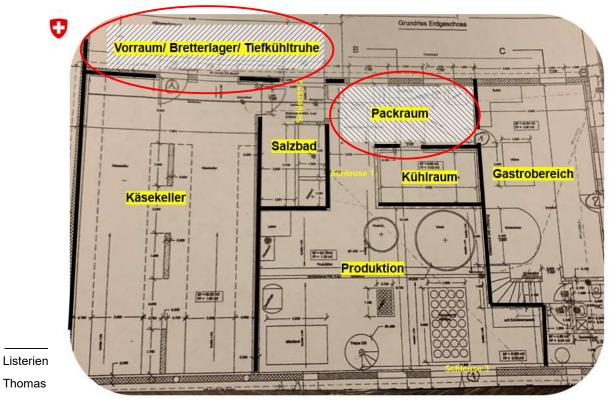
Listerienkurs, Gruppe Ha Thomas Aeschlimann

2023

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



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°C Kerntemp. erreicht werden), der Schmiermaschinen (>65°C über Nacht), Bürsten und andere krit. Gerätschaften brühen bei >80°C)





♥ Schlechte Beispiele

(pos. Listerienbefunde)



♥ Schlechte Beispiele

(pos. Listerienbefunde)

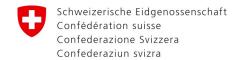




Thomas Aeschlimann

Listerienkurs

6. Oktober 2023



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!

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!

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

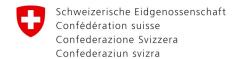
^{*} nach betriebseigenem Beprobungsplan (Oberflächen, Gullywasser etc.)

Affinage/Handel- Umfeldmonitoring (Neu)

Produktegruppe	Art der Beprobung	Frequenz
Aufschnitt, Verpackung von Fremdkäse (zur Verpackung zugekauft)	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	

Affinage/Handel- Umfeldmonitoring (Neu)

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



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.

Listerienproblematik in verschiedenen Lebensmittelsmittelbranchen

	Salat	Geräucherter Fisch	Käse (past.)
Lagerung 5°C bis Verbrauch	7	7	7
Herstellung (inkl. Reifung)	4 *	¥ bis ₹	REE
Prävalenz Rohstoff	++	+++	-
Prävalenz Umfeld	++	++	+

^{*} Falls Spülung mit chloriertem Wasser (Aktivchlor, Chlordioxid)







Thomas Aeschlimann

Zweck der Umfeldbeprobung

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

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

Probenahmezeitpunkt

- Normalfall: Während der Produktion bzw. vor Produktionsende bzw. vor Reinigung und Desinfektion

Immer gleiche Stellen, gleiche Beprobungsart, gleiche Fläche cm², gleicher Zeitpunkt im Betriebsablauf

→ Vergleichbare Ergebnisse



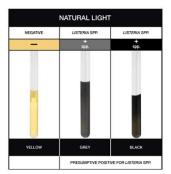
Defeuchtungsmedien zur Neutralisation von Desinfektionsmitteln

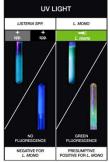
Compendial Neutralizing Media

Neutralizing Solution	3M™ Wide Spectrum Neutralizer ^{1,z}	Letheen Broth ^{1,24,58,7,8}	Neutralizing Buffer ^{1,27,89}	Dey-Engley (D/E) Neutralizing Broth ^{1,27,8,11,12}	Buffered Pepton Water (BPW)1-2-7		
Effective neutralization of quaternary ammonium (quats) compounds	~	~	~	✓.	×		
Effective neutralization of high acid cleaners	~	✓	×	✓	×		
Effective neutralization of chlorine-based sanitizers	~	~	✓	~	×		
Effective neutralization of hydrogen peroxide and peroxyacetic acid-based sanitizers	~	×	×	~	×		
Free from known allergenic components*	~	?	✓	?	?		
Free from known PCR-inhibitors	~	✓	×	✓	~		
Free from animal derived materials (ADM)	V	×	~	×	×		
Free from Genetically Modified Organism (GMO)-based components*	~	~	?	?	?		
Maximum sample hold time before processing (at 2-8°C)	up to 96 hours	up to 48 hours	up to 48 hours	up to 48 hours	up to 48 hours		
Room temperature storage (15-25°C)	up to 6 months	12 months	12 months	×	12 months		



► Einfach, rel. Kostengünstig, bleibt geschlossen (Entsorgung)





InSite L. mono Glo (hygiena)

RapidChek® Listeria (Romer Labs)

sehr spezifisch – muss geöffnet werden



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

Probenahme

Tupfer	Tuch/Schwamm
schwer erreichbare Flächen	leicht erreichbare, große Flächen
20 bis 100 cm ²	100 bis 1000 cm ²
Tupfer aus Röhrchen entnehmen Step 1 Step 2	Tuch/Schwamm mit Hand- schuh aus Beutel entnehmen oder Tuch/Schwamm durch umgestülpten Beutel fassen

dazwischen drehen (alle Seiten des Tupfers/Schwamms nutzen)

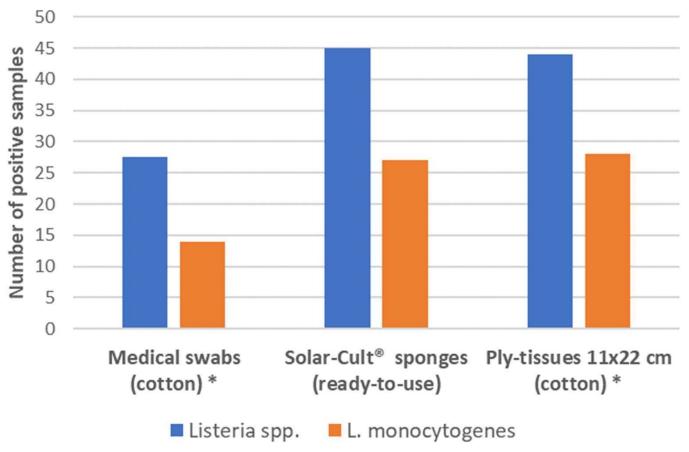
Umfeldbeprobung - Einflussfaktoren

- → Beprobte Fläche (cm²)
- → Oberflächenbeschaffenheit (poröss, glatt...)

- ▶ Präsenz von Desinfektionsmitteln, Salz etc.
- Anlaysenmethode

Agroscop

Umfeldbeprobung – Einfluss der Probennahme

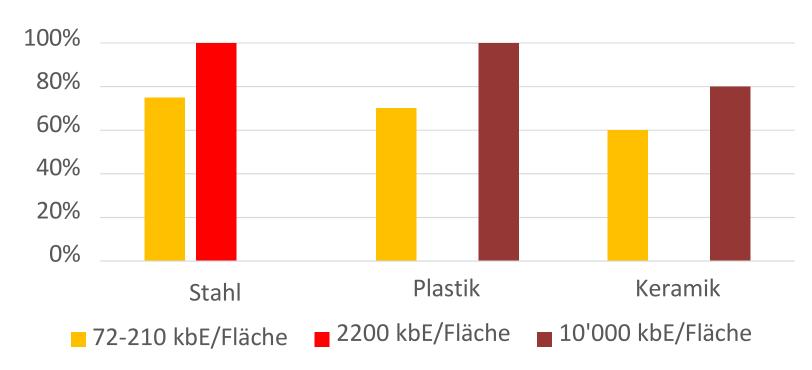


Auswertung von je 240 Umfeldproben erhoben während 5 Monaten in einem kanadischen Fleischverarbeitungsbetrieb (* selbst befeuchtet mit neutr. Puffer)

Agroscope

Umfeldbeprobung Einfluss der Keimdichte (Tupfer)

Sensitivität Abstrichtupfer (ISO 11290-1)



Quelle: AOAC Research Institute. 2020. Performance Test Report, NEMIS Technologies AG N-light TM L. monocytogenes. Certificate No. 122002.



Praktischer Teil

Aufgaben

Identifikation von Schwachstellen

- Zonenabgrenzung, Schleusenfunktion
- Hygienedesign, Zugänglichkeit für Reinigung von Kaumen und Anlagen

qualität

Zustand von Räumen und Anlagen

Identifikation von Orten mit besonderem Risiko

- «Verkehr», Kreuzungspunkte
- Dauernässe

Beprobungsplan

- Art der Beprobung

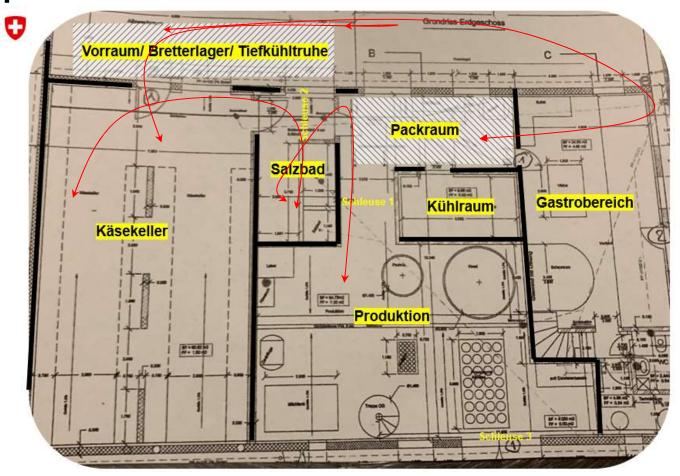


Betriebsabläufe

/ Wege

Umfeldmonitoring

1. Analyse von Personen- und Warenverkehr & potentiellen Problemstellen



Umfeldmonitoring

2. Erstellen eines Probenplans

Probenahmestelle A		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
- Probenahmen bei potentielle gefährdeten Produkten
- Ursachenabklärung und ggf. Intervention
- Dokumentation des Vorfalls

Umfeldmonitoring 4. Trendanalyse

			2019												2020															
Prober	nahmestelle	Woche	2	6	10	14	18	22	26	28	30	31	34	38	42	46	50	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42	46	50
P2_01	Werk 2, Bod	en vor Rampe																												
P2_02	Werk 2, Zuga	ang Seitentür																												
P2_03	Werk 2, Bod	en n. Schleuse																												
P2_04	Werk 2, Gull	y Waschplatz																												
P2_05	Werk 2, RR1	Boden Einfahrseite																												
P2_06	Werk 2, RR1	Boden bei Gully																												
P2_07	Werk 2, RR2	Boden Einfahrseite																												
P2_08	Werk 2, RR2	Boden bei Gully																												
P3_01	Werk 3, Ver	oackung Boden Ein-/Ausfahrt																												
P3_02	Werk 3, Gull	y Waschplatz																												
P3_03	Werk 3, Krür	nel Entrindung/Portionierer																												
				an	der	e Li	ster	ien																						
			L. monocytogenes																											

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°, Widerstandsfähigkeit, Wachstum mit und ohne Sauerstoff, Biofilmbildung
- ➤ Vermehrungsfähigkeit auf feuchten Käseoberflächen bis >1 Mio kbE/cm²
- 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.

OEK N. C.E für die Aufmerksamkeit Th. Aeschlimann thomas.aeschlimann@agroscope.admin.ch gutes Essen, gesunde Umwelt www.agroscope.admin.ch