



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,
Bildung und Forschung WBF

Agroscope

Histaminbildung im Käse: Konsequenzen, Einflussfaktoren, Sanierungsmassnahmen im Schadenfall und Prävention

Ernst Jakob, Jürg Maurer

Wintertagung FML, Liebegg, 8. Feb. 2016

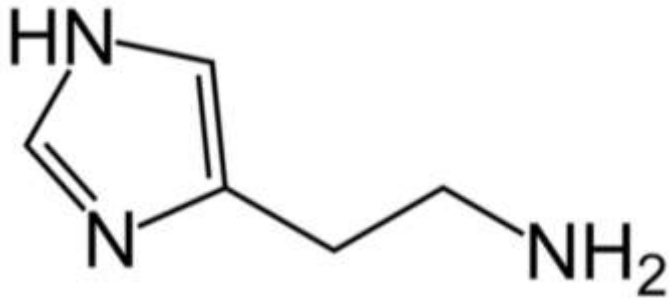


Inhaltsübersicht

- Histamin – Eigenschaften, Wirkung & Vorkommen
- Rechtliche Situation
- Gehalt in div. Schweizer Käsesorten
- Wie wird Histamin im Käse gebildet
- Faktoren, die Histaminbildung in Käse beeinflussen
- Fazit – Gegenmassnahmen
- Methoden zum Nachweis histaminbildender Laktobazillen in Käse
- Sanierung eines Sömmerungsbetriebs mit notorisch hohen Histaminwerten im Käse



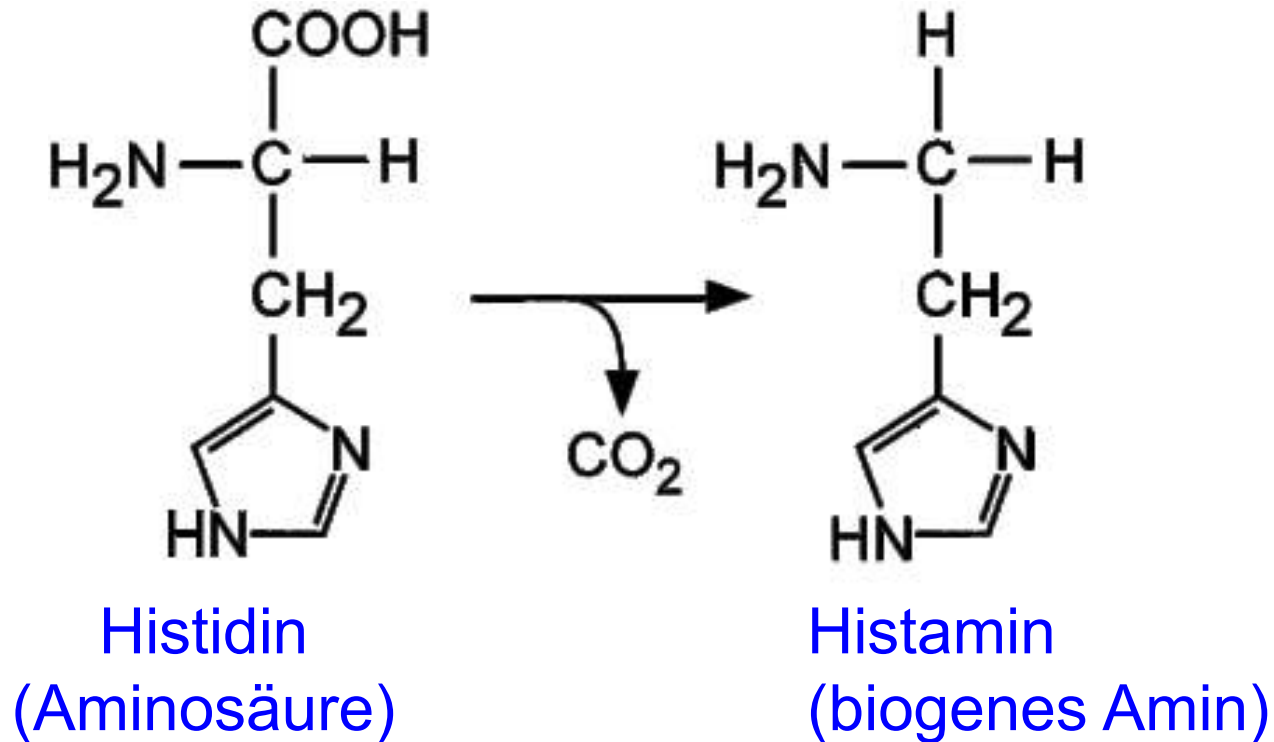
Was ist Histamin?



- biogenes Amin (natürlich gebildete Stickstoffbase)
- Alkalisch (pKa 9.84)
- Gut wasserlöslich
- Weiss, kristallin (Schmelzpunkt: 84°C)
- schwach fischiger Geruch



Bildung Histamin in der Natur



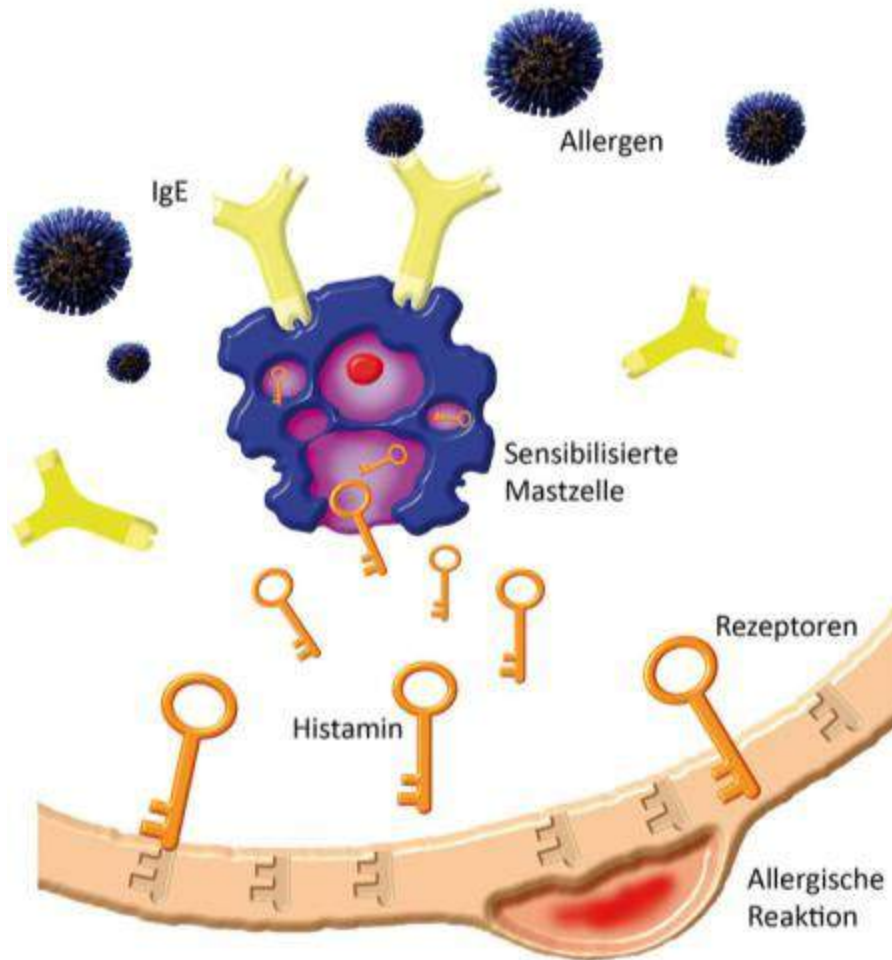
Verantwortliches Enzym: Histidindecarboxylase

Bedeutung von Histamin im Körper?

- Neurotransmitter (chemische Reizübertragung zwischen Nervenzellen)
- Gewebshormon
- Wichtige Funktionen im Körper
 - ZNS: an Auslösung des Erbrechens und Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus beteiligt
 - Herz-Kreislauf: Erweiterung der Blutkapillaren und Verengung der grossen Blutgefässe, Erhöhung der Pulsfrequenz
 - Magen-Darm-Trakt: Verstärkte Ausschüttung von Magensäure, Verstärkung der Darmperistaltik
 - Immunabwehr: Erhöhte Durchlässigkeit der Gefässwände, Anlocken von Leukozyten



Rolle von Histamin bei Allergien



Verstärkte Durchblutung
des Gewebes →
Hautrötung, Schwellung,
Blasenbildung,
Nasenlaufen,
Brennen/Juckreiz



Körpersymptome bei oraler Aufnahme von histaminhaltigen Lebensmitteln

- Brennen auf der Zunge (ab ca. 100 mg/kg)
- Rötung der Mundschleimhäute

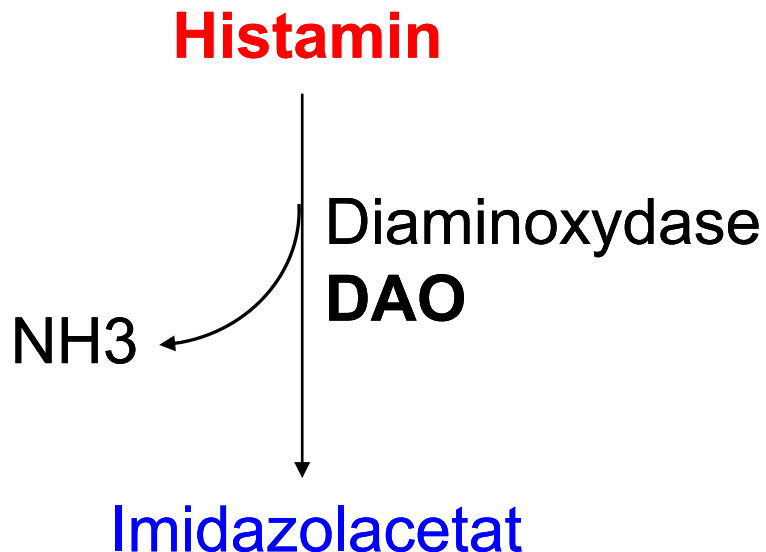
ab einer Dosis von 10 – 25 mg möglich:

- Schweissausbrüche, Hitzegefühl
- Schwindel, Unwohlsein
- Kopfschmerzen
- Herzrasen
- Sodbrennen, Bauchschmerzen
- Bauchrumpeln, Durchfall
- Übelkeit, Erbrechen
- Hautrötung, Juckreiz





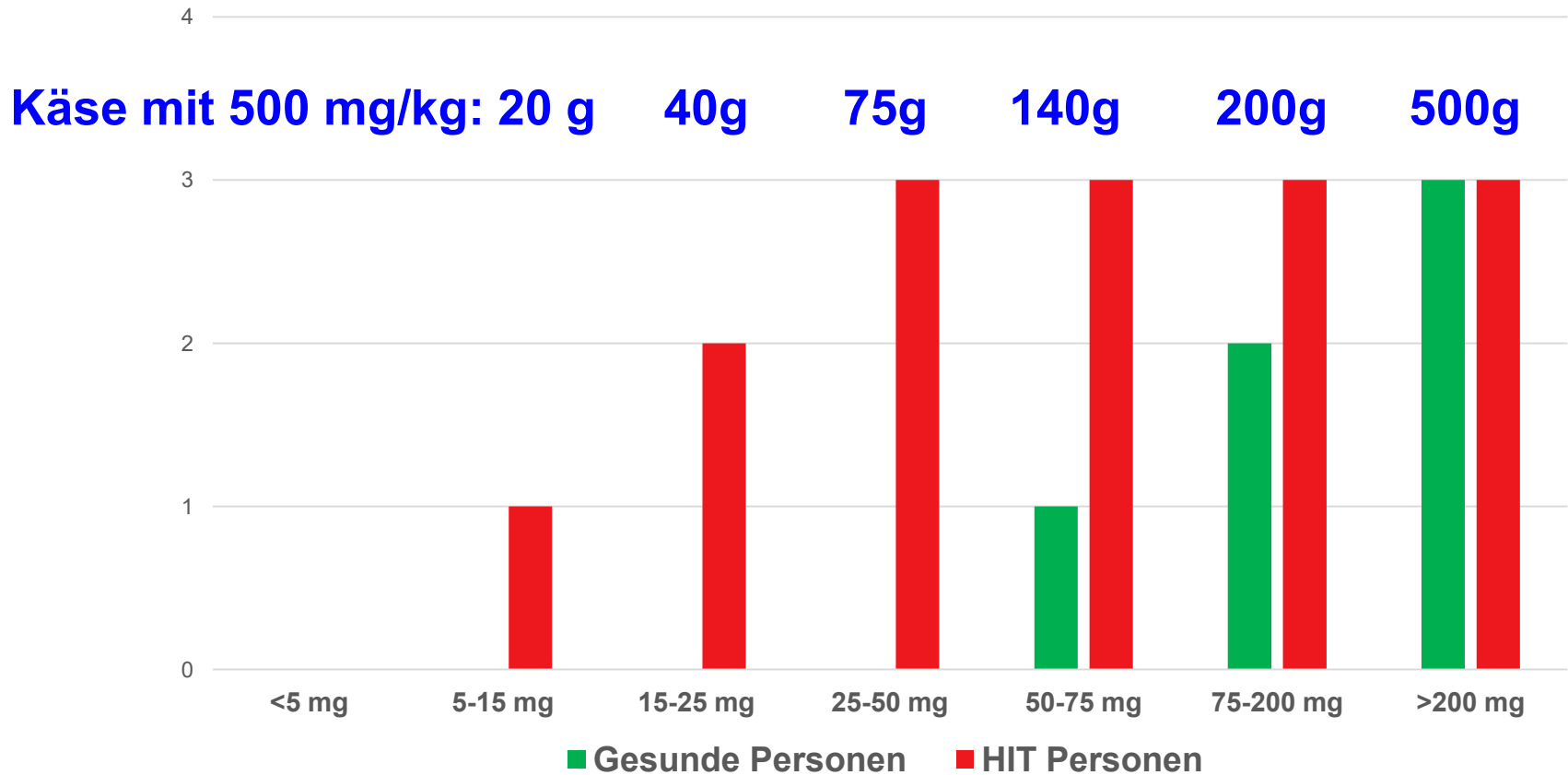
Abbau von Histamin im Körper



- Mit der Nahrung aufgenommenes Histamin wird normalerweise im Darm durch die **DAO** extrazellulär abgebaut
- Die Abbaugeschwindigkeit wird v.a. durch die DAO-Aktivität im Darm bestimmt.
- Bei Leuten mit Histaminunverträglichkeit ist die DAO-Aktivität erheblich reduziert (Hemmung z.B. durch Alkohol oder Medikamente, Darmerkrankung, oder angeborener Enzymmangel).

Dosis-Wirkungs-Kurve von Histamin bei oraler Aufnahme

Dose-Response von Histamin
Erwachsene mit / ohne Histaminintoleranz



Eigenversuch mit beanstandetem Raclette



- Raclette aus Rohmilch
- Alter: 10 Monate
- Aussehen: fehlerhafte Lochung
- Aroma: überreif, brennend
- **Kundenreklamationen wegen Bauchbeschwerden**

- Summe an biogenen Aminen 1'506 mg/kg
(Histamin 945 mg/kg, Tyramin 454 mg/kg)
 - bei Raclette Konsum grösserer Mengen (250 g)
 - Biogene Amine werden bei Kochprozessen nicht zerstört !



Aufnahme biogene Amine von Raclette

- Racletteessen mit 7 freiwilligen, gesunden Probanden
- Raclette, Salat, Kartoffeln, Tee, Wasser (kein Alkohol)



Nr.	♂ ♀	Konsumierte Menge Käse (g)	Aufnahme Histamin (mg)
1	♂	290	274
2	♂	287	271
3	♂	203	192
4	♂	196	185
5	♂	186	176
6	♀	126	119
7	♀	112	106



Symptome



Nr.	♂ ♀	Aufnahme Histamin (mg)	Symptome 1-2 h nach Mahlzeit	Symptome 3-4 h nach Mahlzeit
1	♂	274	Brennen auf Zunge, Hitzegefühl, „Bauchgerumpel“	leichte Übelkeit, „Bauchgerumpel“, Aufstossen, leichter Durchfall
2	♂	271	keine Probleme	Kurzes „Bauchgerumpel“
3	♂	192	keine Probleme	keine Probleme
4	♂	185	„Bauchgerumpel“, starker Durchfall	keine Probleme mehr
5	♂	176	keine Probleme	keine Probleme
6	♀	119	Brennen auf Zunge, „Bauchgerumpel“	Brennen auf der Zunge, Juckreiz, „Bauch- gerumpel“, Durchfall
7	♀	106	Brennen auf Zunge, leichte Kopfschmerzen, Schwin- del, „Bauchgerumpel“	Bauchgerumpel, „Kater“ Gefühl

Vorkommen von Histamin ausserhalb des Körpers

- Brennesseln
- Verdorbener Fisch (v.a. Makrelenartige Fische)
- Fermentierte Lebensmittel
 - Asiatische Fischsaucen
 - Anchovis («Sardellen»)
 - Sojasaucen
 - Sauerkraut
 - Rohwürste, Salami
 - Gereifte Käse
 - Bier
 - Wein



Grenzwerte für Histamin in Lm gemäss Fremd- und Inhaltsstoff-Verordnung

Lebensmittelgruppe	Grenzwert	Beispiel
Fischsauce	500 mg/kg	Nouc mam Sauce
Fischereierzeugnisse, die einem enzymatischen Reifungsprozess in Salzlösung unterzogen wurden	200 mg/kg	Fermentierte Sardellen
Fischereierzeugnisse von Fischarten, bei denen ein hoher Gehalt an Histidin auftritt.	100 mg/kg	Rollmöppse
<i>Rotwein</i>	<i>10 mg/L</i>	<i>GW wurde ca. 2002 aufgehoben</i>

- **Einführung eines Grenzwertes für Käse ist in Diskussion (EU)**
- **Revisionsentwurf QM-Fromarte: Grenzwert von 750 mg/kg für reife Käse**

22.5.2013

Migros ruft Sardellen zurück

Die Sardellen weisen einen zu hohen Histamingehalt auf. Wer sie schon gegessen hat, hat – je nachdem – Glück oder Pech gehabt.



Stichworte

[Detailhandel](#)

[Migros](#)

[Bundesamt für Gesundheit](#)

RASSF Warnmeldung betr. Käse mit Histamin

Notification detail - 2012.0391

histamine (1227 mg/kg - ppm) in cheddar cheese from the Netherlands

Reference : 2012.0391
Notification date : 14/03/2012
Last update : 11/04/2012
Notification type : food - alert - food poisoning
Action taken : withdrawal from the market
Notification from : UNITED KINGDOM (GB)
Distribution status : information on distribution not (yet) available
Product : cheddar cheese
Product category : milk and milk products

Follow-up :

Reference	Follow-up from	Date	Follow-up type	Info

Hazards :

Substance / Hazard	Category	Analytical result	Units	Sampling date
histamine	biocontaminants	1227	mg/kg - ppm	05/03/2012

Distributed to :

[ITALY] [SWEDEN] [UNITED KINGDOM]

Origin :

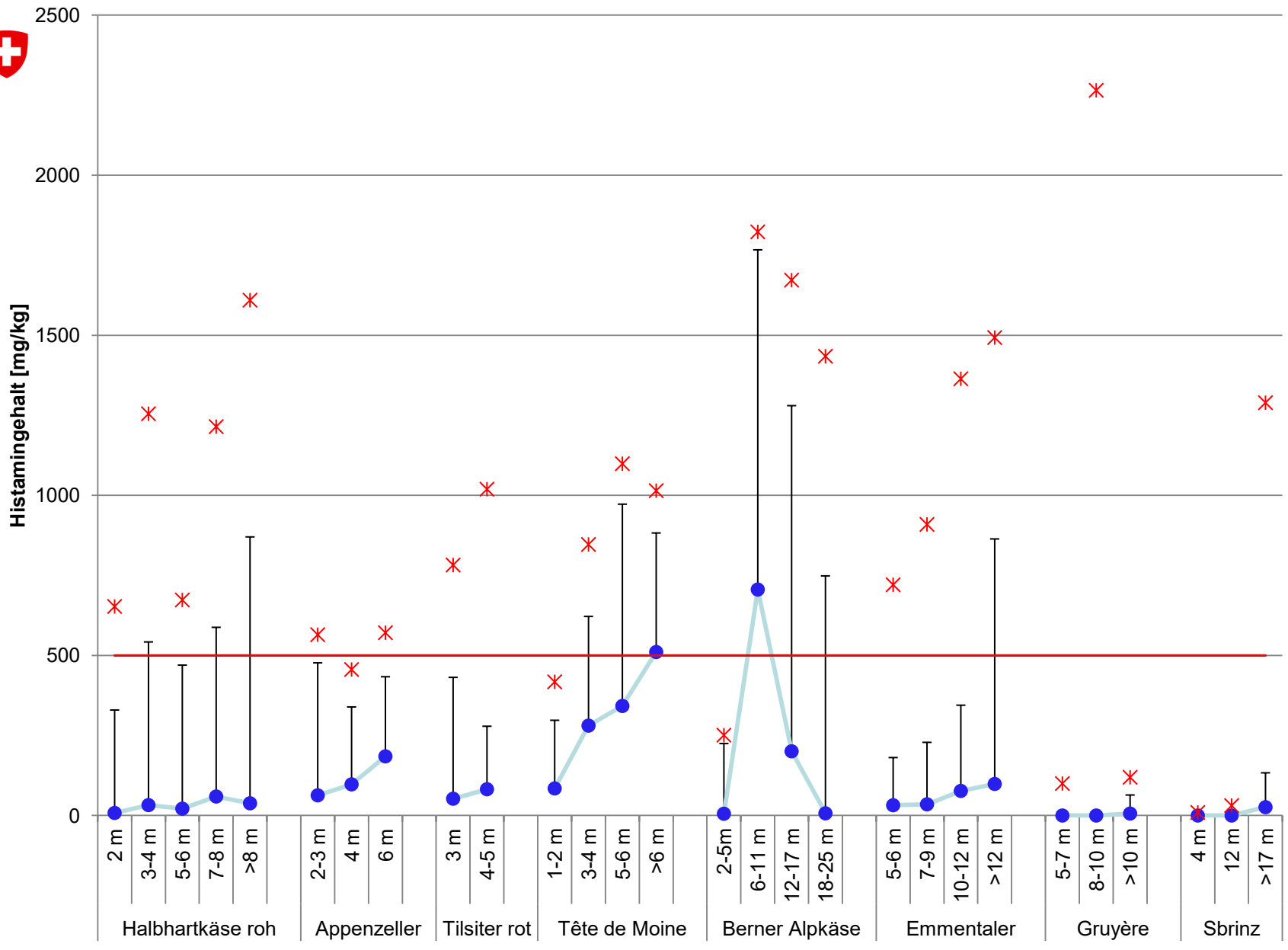
[NETHERLANDS]

Close this window

- März 2012
- Irischer Cheddar
- 1227 mg/kg Histamin
- 40 Kinder mit Beschwerden
- Marktrückruf !

(ähnlicher Vorfall mit CH-Emmentaler bereits 2006 mit 700 mg/kg Histamin!)

Erster und bisher einziger RASFF-Eintrag wegen Käse mit Histamin!



Histamin betrifft nicht nur Schweizer Käse

Käsesorte	Typ	Alter	N	Median	90% Quantil	Maximum
Caciocavallo	Pasta-filata-Käse	k.A.	5	335	914	981
Grana	100% Rohmilch	mind. 12m	2	48		
Österreichischer Bergkäse	100% Rohmilch	mind. 4m	14	273	973	1'240
Tomme de Savoie	100% Rohmilch	k.A.	1	934		



Bedeutung von Histamin in Käse

- Mögliche negative Auswirkungen auf die Gesundheit
- Problematisch bes. bei Käsegerichten mit grosser Verzehrsmenge (Fondue, Raclette...)
- Beeinträchtigt Käsequalität (Nachgärung, Lochung Sensorik)
- Trotz fehlenden Grenzwertes für Histamin im Käse zunehmend ein Problem im Handel mit Grossverteilern und im Export
- **Es besteht Handlungsbedarf!**



Aspekt Käsequalität



Emmentaler AOP

- Histamin 721 mg/kg



Raclette aus Rohmilch

- Histamin 945 mg/kg

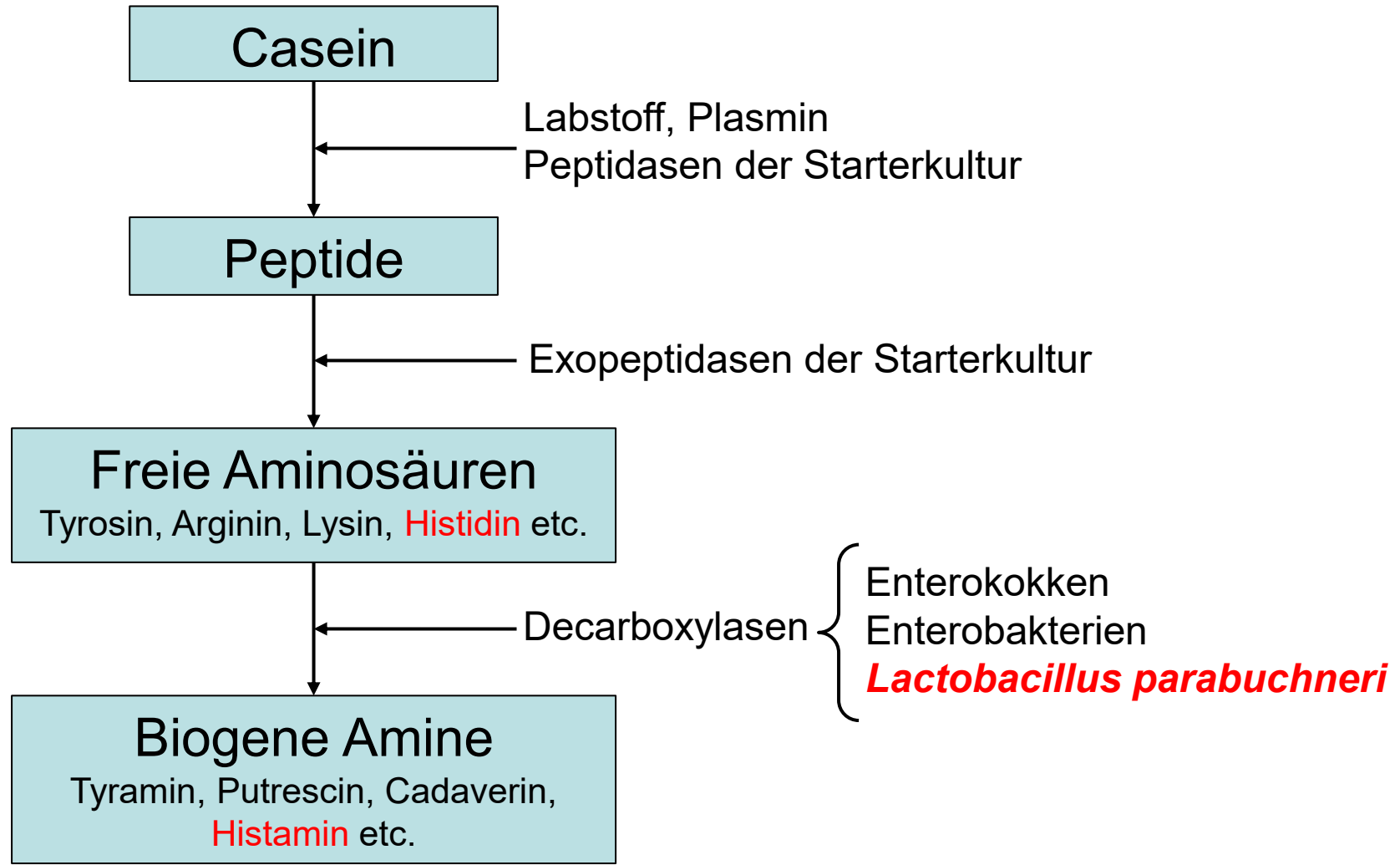
Berner Alpkäse

- Histamin 1262 mg/kg





Wie entsteht Histamin in Käse ?





Biogene Amine bildende Keime in Käse

Biogenes Amin	Hauptsächlich verantwortlicher Keim	Wachstumsfähigkeit im Käseteig
Histamin	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	ja
Tyramin	Enterkokken	ja
Phenylethylamin	<i>Enterococcus faecalis</i>	ja
Putrescin	<i>Pseudomonaden</i> <i>Enterobakterien</i>	nein ja (nur Coliforme)
Cadaverin	<i>Enterobakterien</i>	ja (nur Coliforme)

Die genannten biogene Amine können noch von vielen anderen Mikroorganismen gebildet werden, die aber in Käse keinerlei Bedeutung haben.

Eigenschaften von *Lb. parabuchneri*

Natürliches Vorkommen ¹

- gärendes Pflanzenmaterial, Silage
- tierische Schleimhäute, Mundhöhle

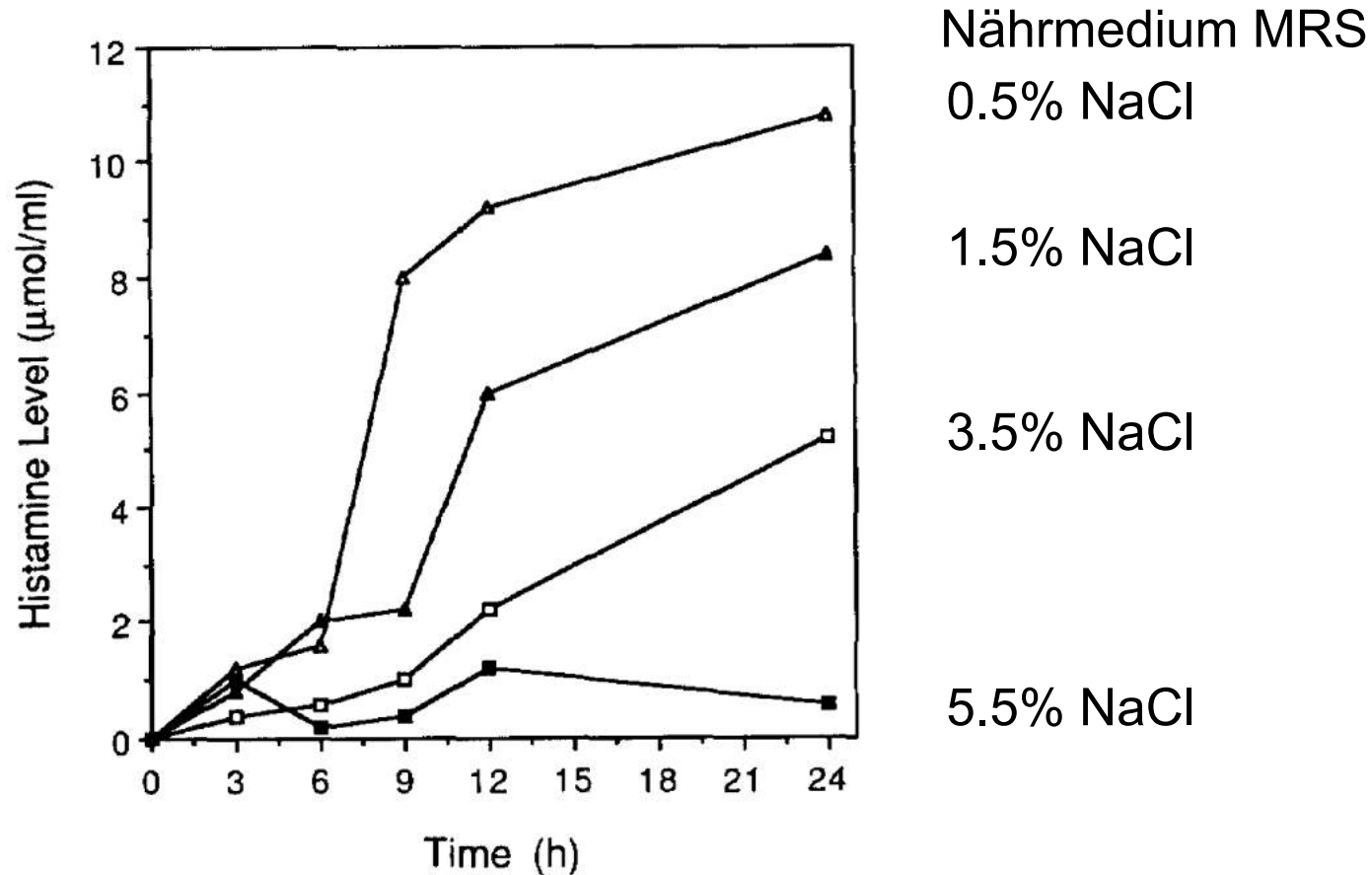
Technologisch wichtige Eigenschaften ²

- obligat heterofermentativ
- Kann Milchsäure zu Essigsäure + CO₂ vergären
- relativ hohe Hitzetoleranz
- mässige Salztoleranz

- 1) Hames & Hertel: The Prokaryotes: Vol. 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria
- 2) Sumner (1990) J Dairy Sci 73:3050-3058



Lactobacillus parabuchneri: Salztoleranz



- Emmentaler AOP 1.2% NaCl (wässrige Phase)
- Le Gruyère AOP 4.1% NaCl (wässrige Phase)

Zonale Unterschiede im Histamin- und Tyramingehalt von Halbhartkäsen

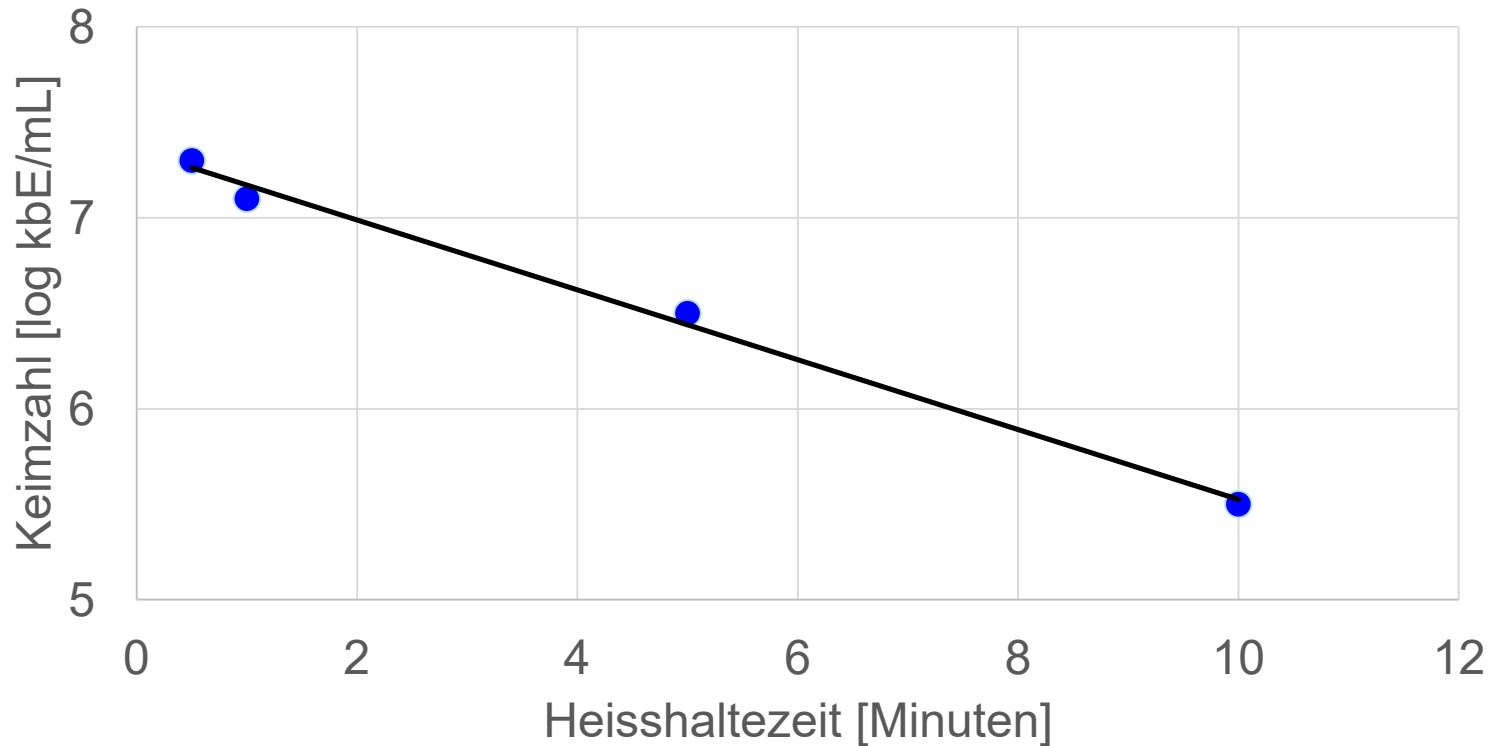
	N Laibe	Histamin [mg/kg]			Tyramin [mg/kg]		
		Rand- zone	Laib- mitte	P	Rand- zone	Laib- mitte	P
Appenzeller	10	47	83	<0.01	284	98	<0.05
Tisiter rot	5	100	187	<0.001	244	60	<0.001

- Deutliche Hemmung der Histaminbildung in der Randzone
- Die salztoleranten Enterokokken profitieren dagegen vom höheren Salzgehalt der Randzone -> viel Tyramin



Lactobacillus parabuchneri: Hitzeresistenz

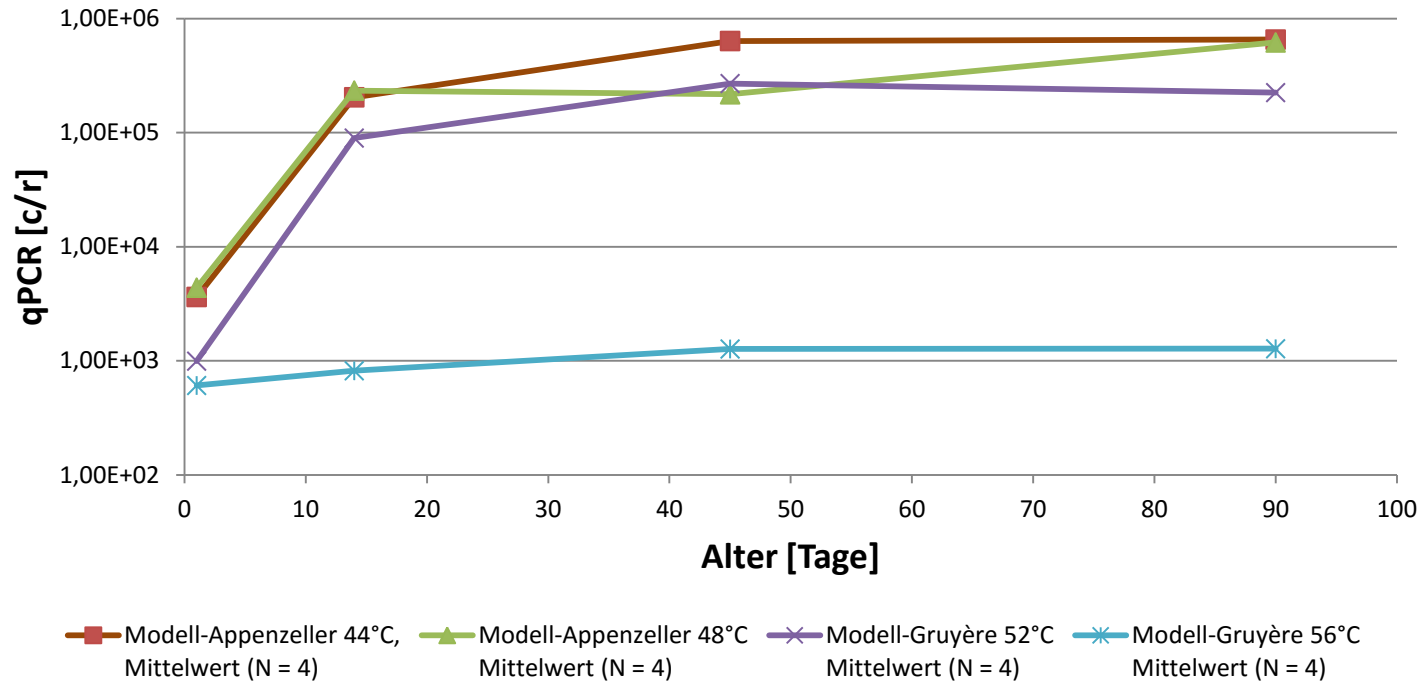
Inaktivierung von *Lb. parabuchneri* bei 60°C
D-Wert 5.5 min



Emmentaler AOP 52-53°C, Le Gruyère AOP 56-57°C



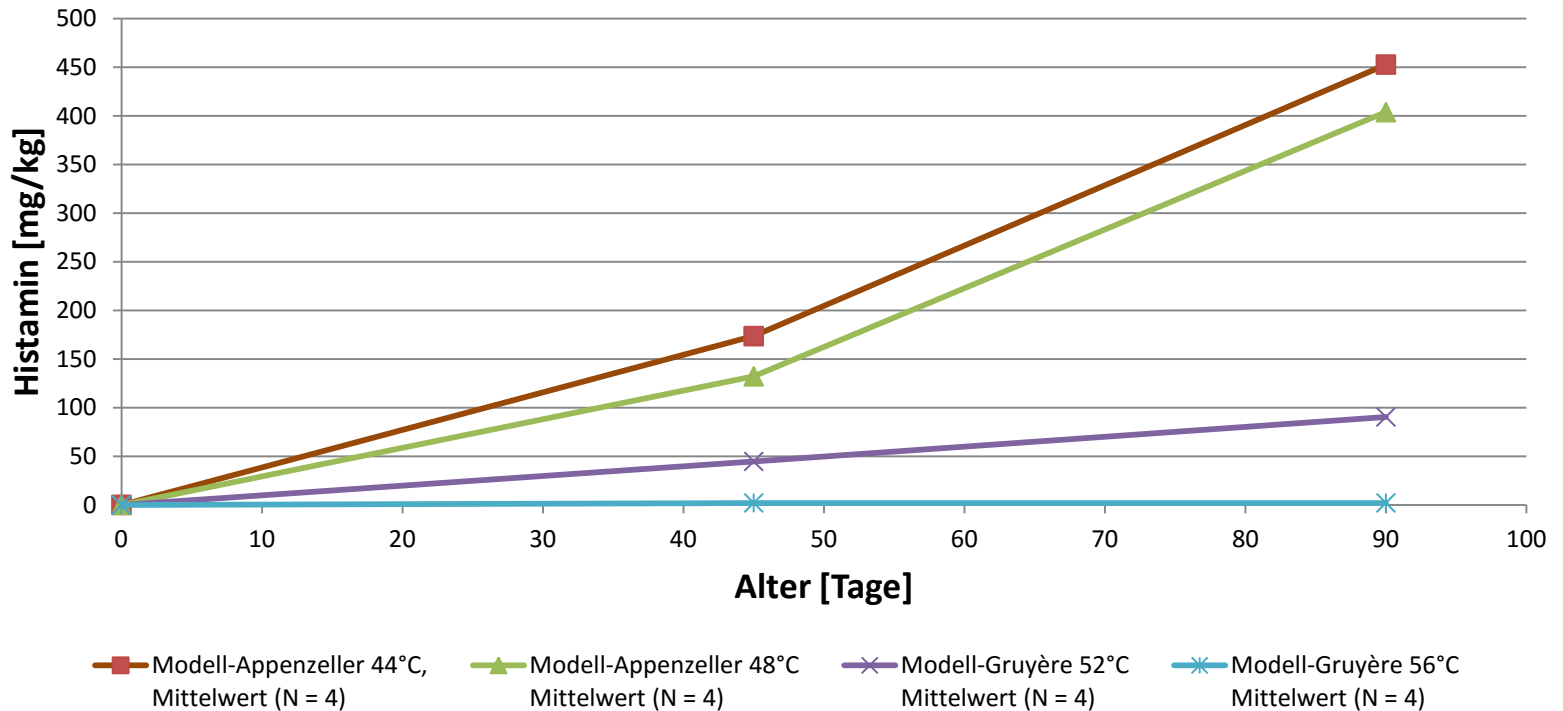
Einfluss der Brenntemperatur auf *L. parabuchneri* (Versuch 13-22-82)



- Brenntemperaturen im Bereich von 44 - 52°C haben nur wenig Einfluss auf das Wachstum von *L. parabuchneri* während der Reifung



Einfluss der Brenntemperatur auf Histamingehalt (Versuch 13-22-82)



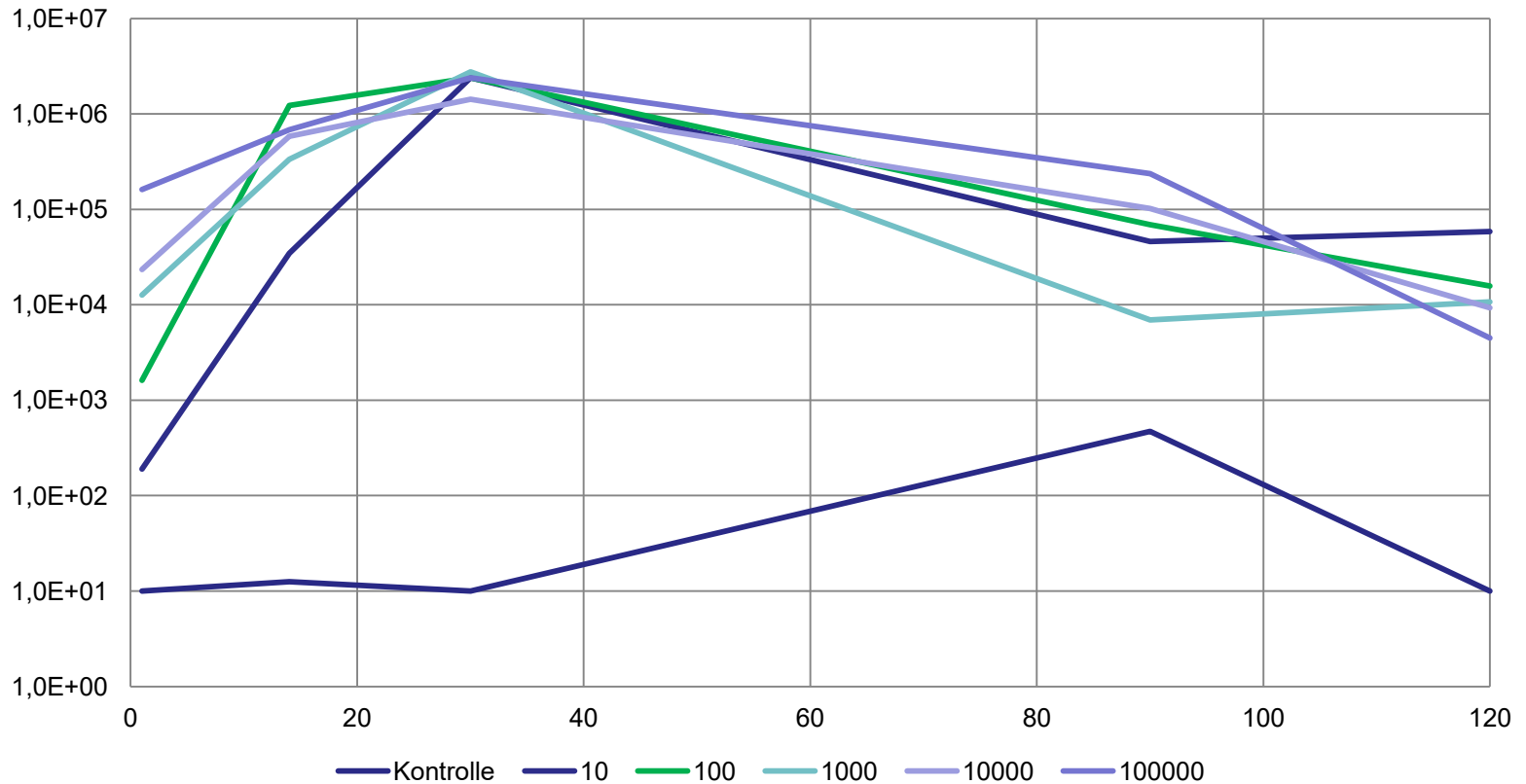
- Keine Bildung von Histamin bei Brenntemperaturen $\geq 56^{\circ}\text{C}$
- deutlich höhere Histamingehalte als in Modell-Raclette (13-22-81)
(Hinweis auf Interaktionen mit Säuerungskultur ? → OPA-Analysen)



Zonale Unterschiede im Histamingehalt von Käsen

		Histamin [mg/kg]		
	Anzahl Laibe	Randzone	Laibmitte	P
Raclette past.	8	12	10	n.s.
Appenzeller	10	47	83	<0.01
Tisiter rot	5	100	187	<0.001
Switzerland Swiss	3	605	173	<0.01
Emmentaler	15	172	42	<0.01
Gruyère	7	4	5	n.s.
Sbrinz	5	0	0	n.s.

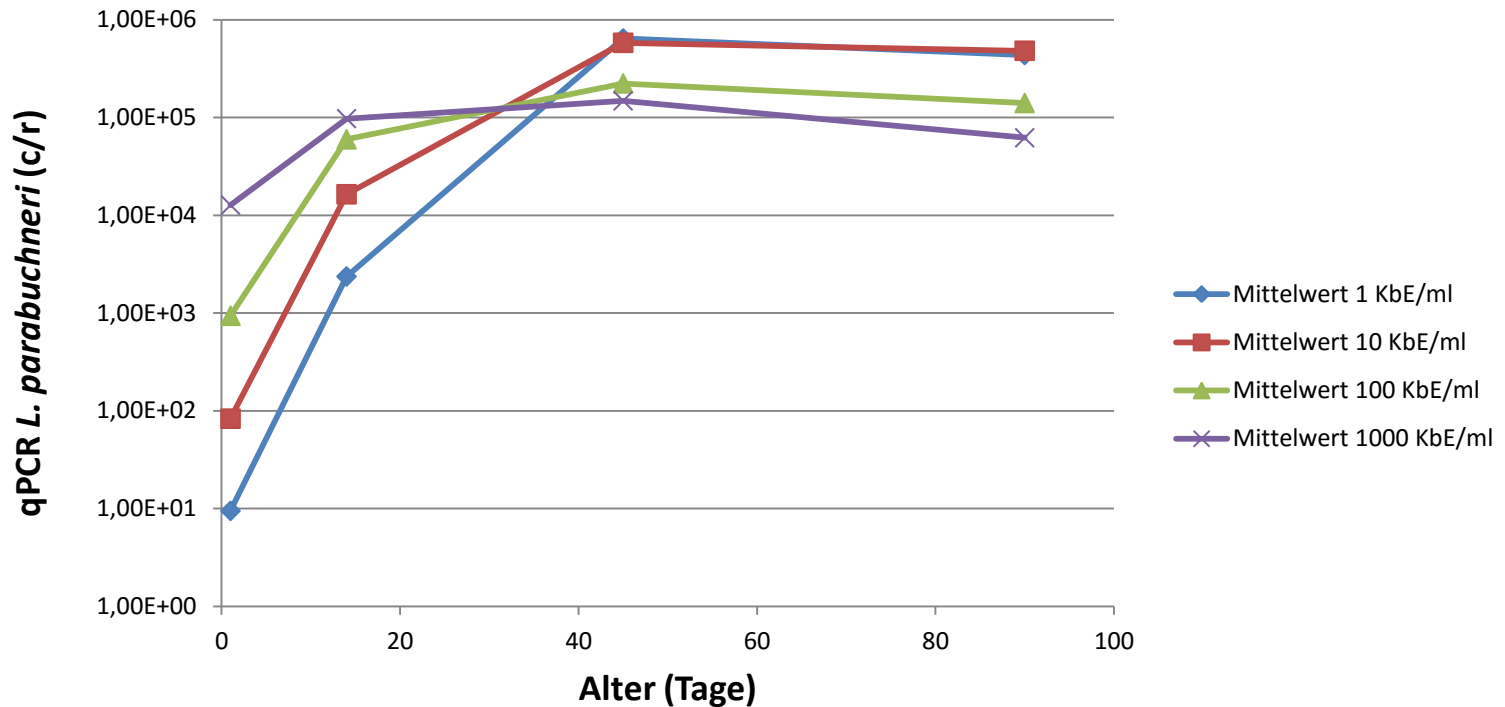
Wachstum von histaminbildenden *Lb. parabuchneri* in Käse (IB 626, 2011)



0 = Käse nach dem Pressen

Stamm Nr. IS1591 (Isolat aus Rohmilchtilsiter)

Studie zum Einfluss der Impfdosis von *L. parabuchneri* (Versuch 13-22-81)



→ Trotz unterschiedlicher Impfdosis in der Kessmilch (10^0 - 10^3 KbE/ml) war das Wachstum von *L. parabuchneri* (Mittelwerte der 4 Stämme) in Modell-Raclette ab 45 Tagen sehr ähnlich.



Fazit

- Rohmilchkäse mit Brenntemperaturen bis ca. 54°C sind anfällig auf Histaminbildung
- Schon geringe Mengen von *Lb. parabuchneri* in der Kessmilch stellen die Ausreifbarkeit der Käse infrage.
- Mögliche Lösungsansätze
 - Thermische Behandlung der Milch (mind. 65°C/15s)
 - Entwicklung von Kulturen, welche die Histaminbildung im Käse inhibieren
 - Kontaminationen der Milch mit *Lb. parabuchneri* eliminieren
 - Histaminbildung durch kontrollierter Ausreifung begrenzen



Methoden zum Nachweis von *Lb. parabuchneri* in Rohmilch und Käse

- Kulturelles, qualitatives Verfahren mit elektiven Nährmedien
- Kulturelles, qualitatives Verfahren mit anschliessendem enzymatischem Histaminnachweis
- Quantitative PCR-Methode
- PCR-Methode zur Identifizierung von einzelnen Stämmen von *Lb. parabuchneri*

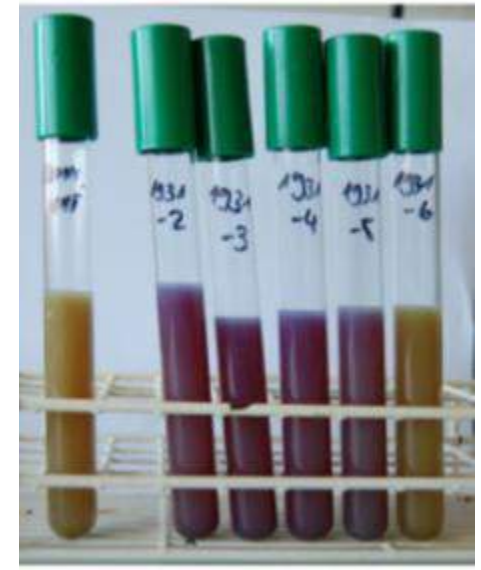
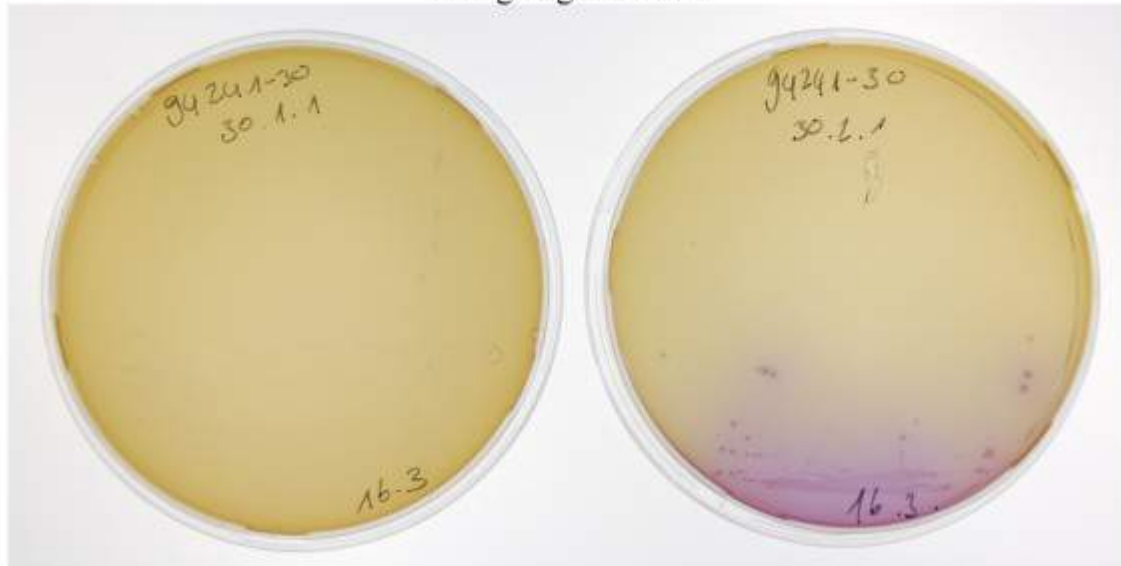


Isolierung von Amin-bildenden Keimen

Entwicklung von Selektivmedien für tyramin- und histaminbildende Keime

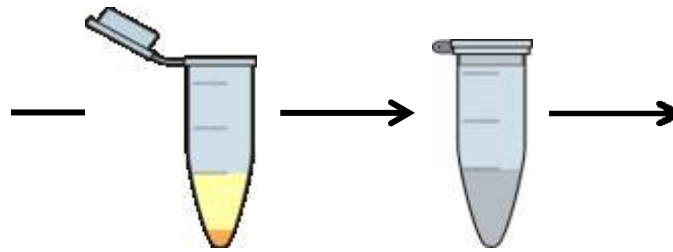
His-DC Agar: Emmentaler, 3 Monate

94241-30
31 mg / kg Histamin



Vorbereitung und Durchführung des Histamintests

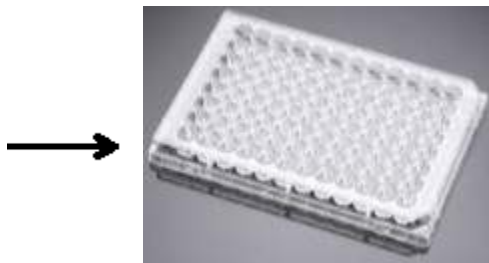
Durchführung der Messung



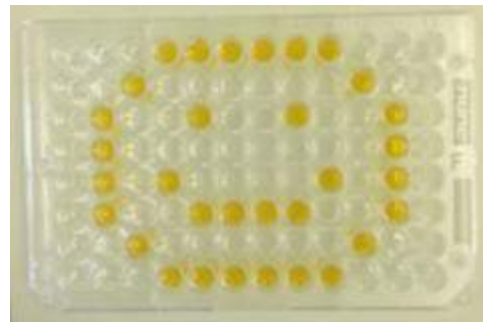
1. 200 μ l
zentrifugieren

2. 10 μ l Überstand in
1 ml 0.1 M EDTA
(pH 8)

3. 50 μ l Lösung +
Testkomponenten



4. Inkubation 37 °C, 15
min in Mikrotiterplatte



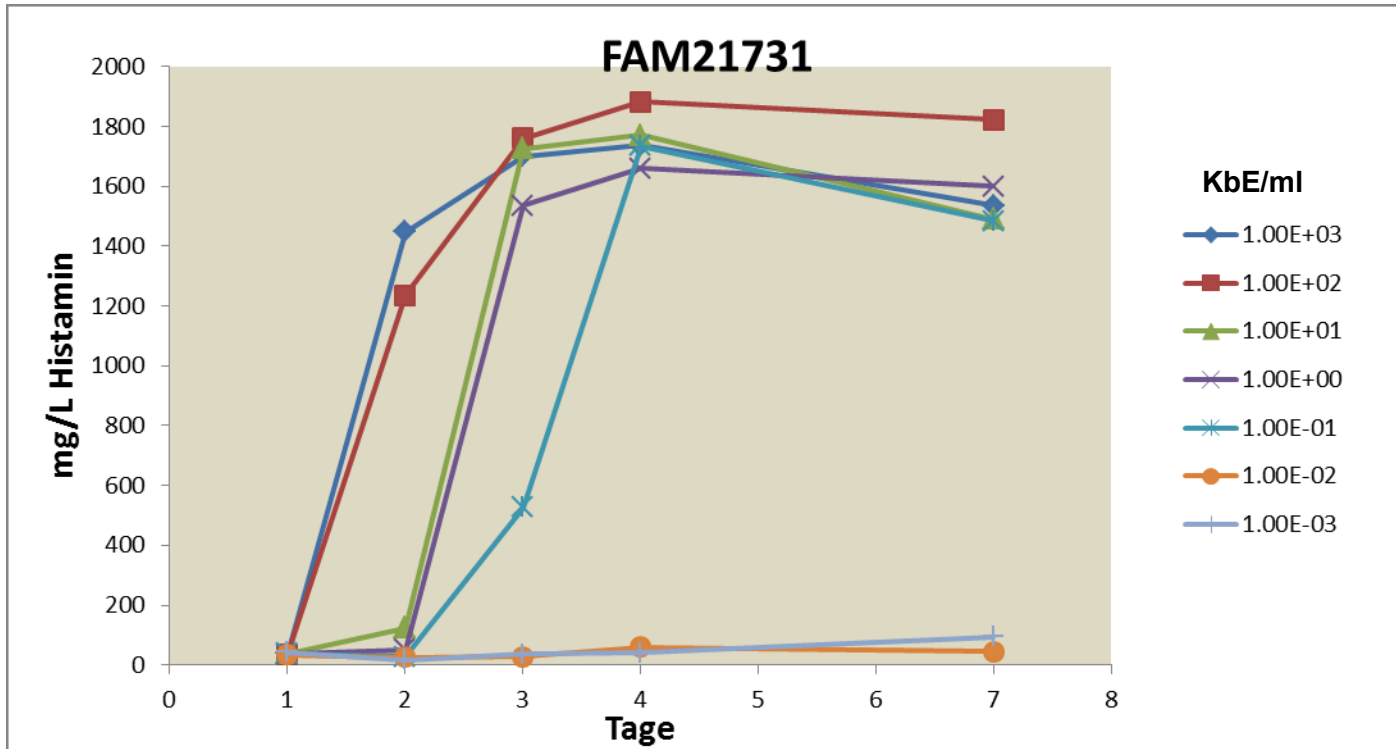
5. Positive Milchproben



6. Messung bei 470 nm
Absorptionswert über
0.1 = Histamin positiv



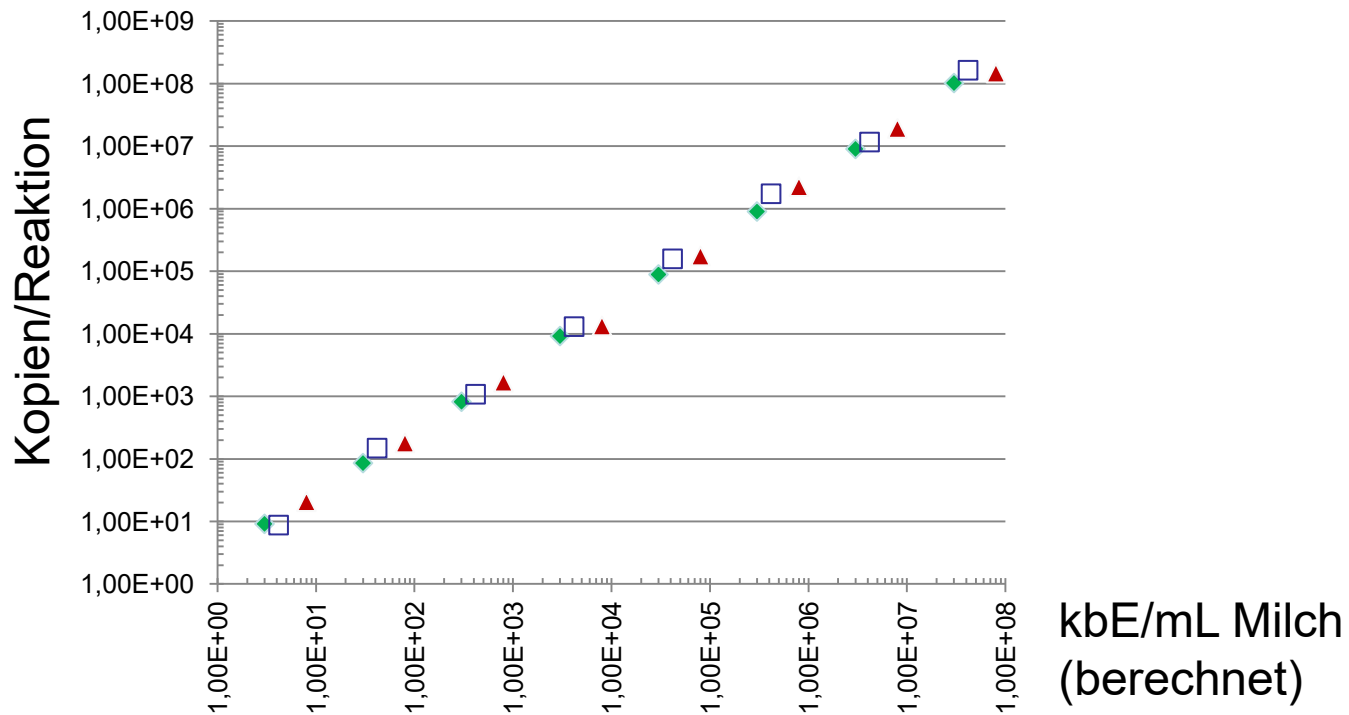
Optimierte Methode zum Nachweis histaminbildender Keime in Rohmilch



- Verdünnungsreihe von *L. parabuchneri* (10^3 - 10^{-3} KbE/ml)
- FAM 21823, FAM 21836 und FAM 23097

Quantifizierung von *L. parabuchneri* mittels qPCR

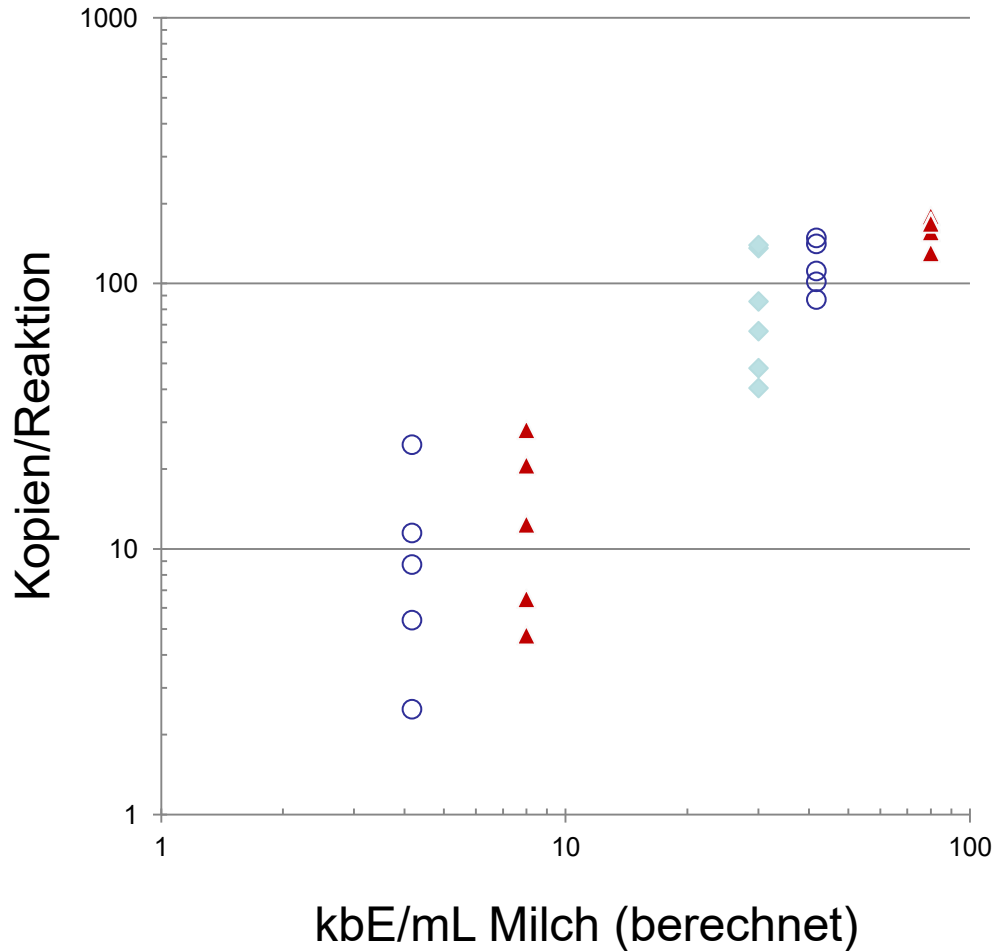
Analyse von dezimalen Verdünnung von künstlich kontaminierter Milch



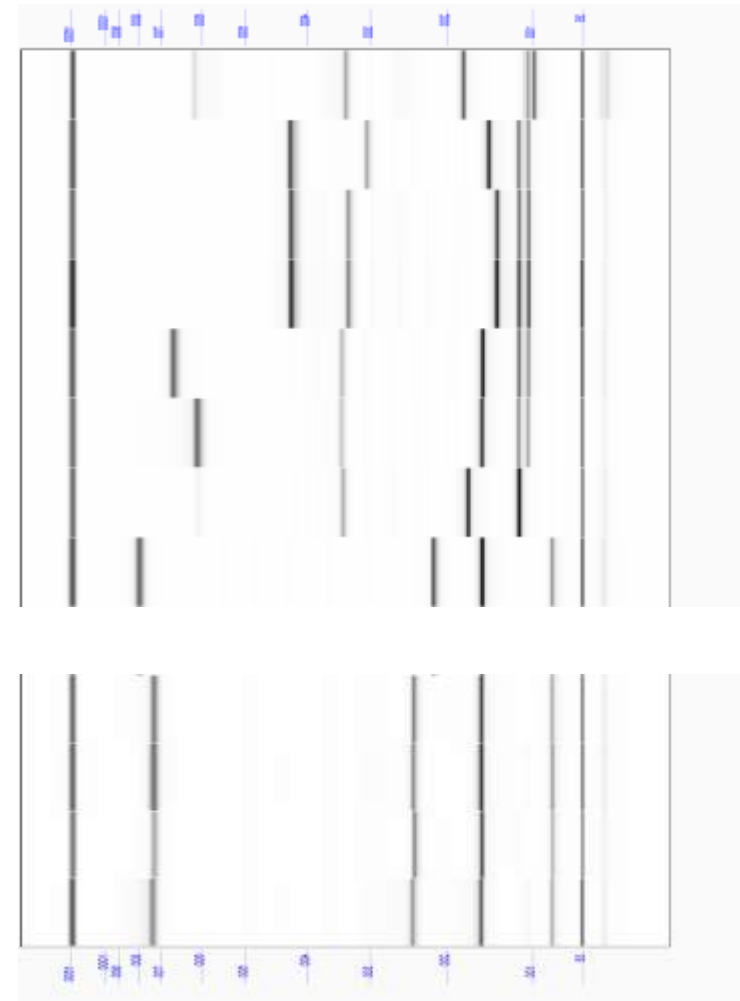
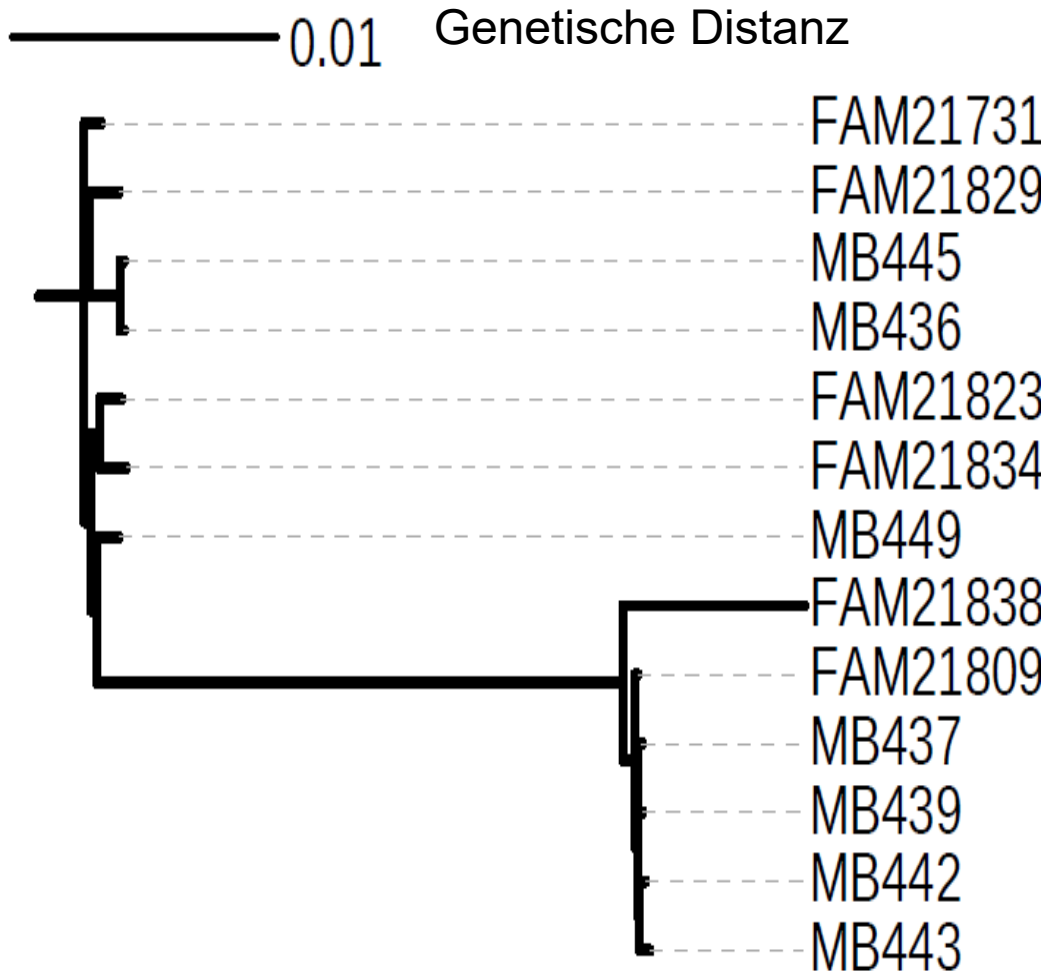


Quantifizierung von *L. parabuchneri* mittels qPCR

Sensitivität der Methode



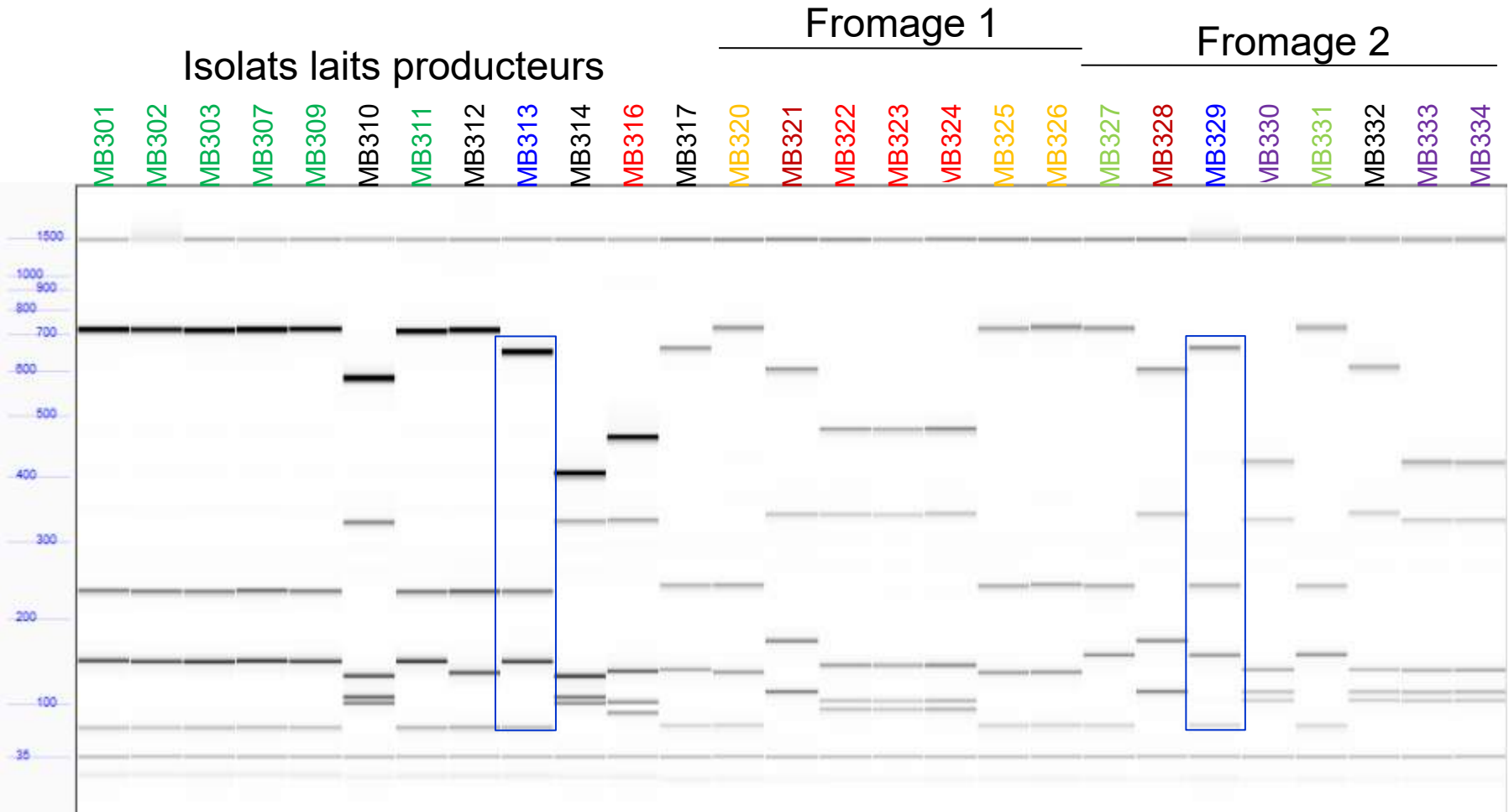
Genotypisierung von Isolaten mittels Multiplex-PCR e



→ D. Wüthrich, Rémy Bruggmann, UNIBE

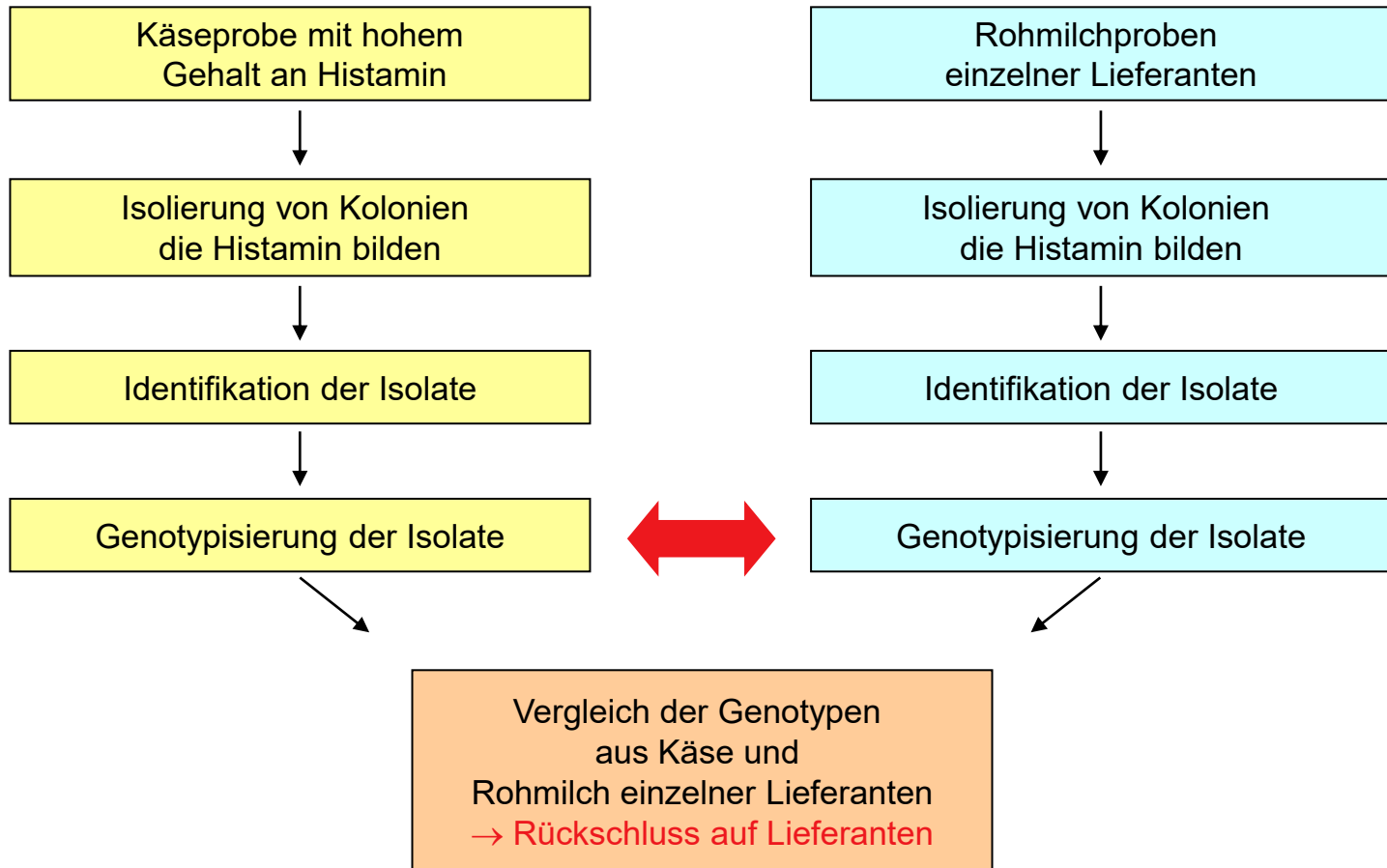


Praktische Anwendung der Genotypisierung





Vorgehen in der Praxisberatung





Histamin in Berner Alpkäse - Ausgangslage

Probe: Alpkäse
7 Mte, Produktion 24.8.13, kleine Löchli, sandig, **brennend**, salzig, Aroma i.O.

Flüchtige Carbonsäuren total	mmol/kg	17.9
Ameisensäure	mmol/kg	0.5
Essigsäure	mmol/kg	14.2 ↑
Propionsäure	mmol/kg	0.0
i-Buttersäure	mmol/kg	0.2
n-Buttersäure	mmol/kg	2.3
Buttersäure berechnet aus Gärung	mmol/kg	1.4
i-Valeriansäure	mmol/kg	0.4
i-Caprinsäure	mmol/kg	0.0
n-Caprinsäure	mmol/kg	0.3
Kochsalz	g/kg	21.6 ↑
Histamin	mg/kg	917 ↑↑
Tyramin	mg/kg	13
Summe biogene Amine	mg/kg	930 ↑↑



Käsereiberatung 10.6.14

- Milchprobenerhebung für **Histaminnachweis**:
- Probenerhebung an 6 Tagen (11.6.14 -16.6.14) von allen Lieferanten
- + Kessimilch



Untersuchung Milchproben 2014

Lieferant	11.6.14	12.6.14	13.6.14	14.6.14	15.6.14	16.6.14
1	-	-	-	-	-	-
1 Abend	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	+	-	+
7	-	+	-	+	+	+
9	-	-	-	-	-	-
Kessimilch	+	+	+	+	+	+
mg/kg Histamin in 3 Mte Käse	69	62	108	199	nicht bestimmt	nicht bestimmt

Befund: Lieferanten 6, 7 = **wiederholt positiv**

Massnahmen: Stufenkontrollen (auch in der Käserei)



Histamin in Berner Alpkäse

Sommer 2014

Produktion	11.06.	12.06.	13.06.	14.06.	18.07.	19.07.	20.07.	20.08.	21.08.	22.08.	16.09.	17.09.	18.09.
Käse 3 Mte	Yellow	Yellow	Orange	Orange	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Yellow

Legende:

< 50 mg/kg =
guter Wert

50 – 99 mg/kg =
leicht erhöht

100 – 199 mg/kg
= erhöht

≥ 200 mg/kg =
stark erhöht

Massnahmen:

- Weitere Stufenkontrollen bei Lieferant 6 & 7
- Massnahmen wurden definiert und umgesetzt



Untersuchung Milchproben vor Produktionsbeginn 2015

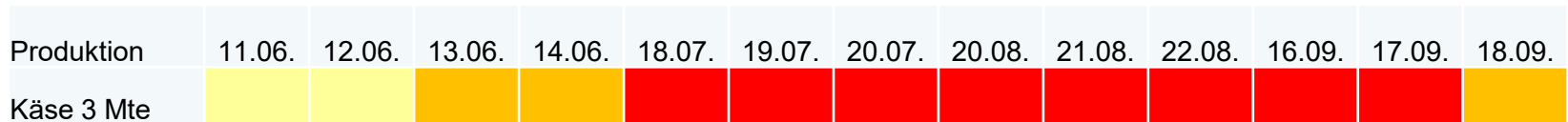
Probe	15.6.15	16.6.15	17.6.15
Lieferant 1	-	-	-
Lieferant 2	-	-	-
Lieferant 3	-	-	-
Lieferant 5	-	-	-
Lieferant 6	+	-	+
Lieferant 7	-	-	-
Lieferant 9	-	-	-
Kessimilch	-	+	+

Weitere Stufenkontrollen bei Lieferant 6 durchgeführt, Massnahmen definiert und umgesetzt.

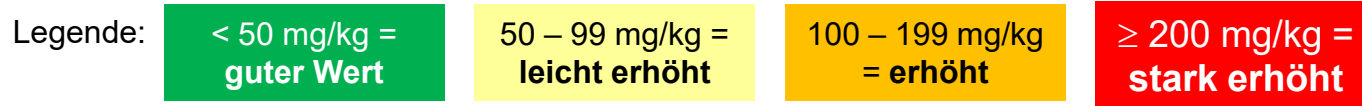
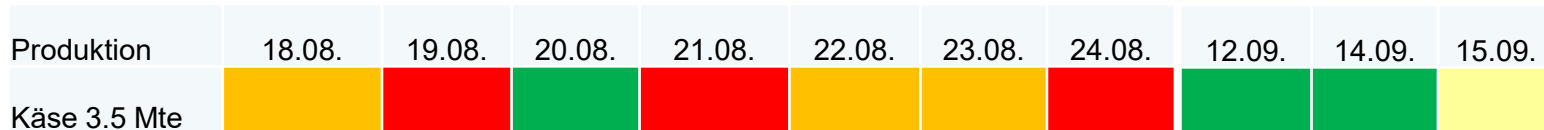
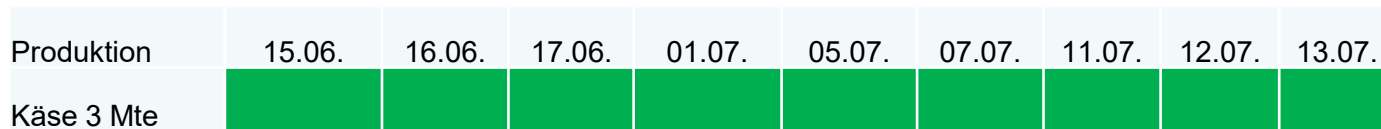


Histamin in Berner Alpkäse

Sommer 2014



Sommer 2015



2015: Gute Qualität Juni/Juli, erneut Probleme im August!



DNA-Analysen

Lief.7 Melkeimer 20l,
Kanne 26 schräg 26.3.15

1.7.15 + 11.9.15
Ausbrühen

Lief.7 Milch 18.-20.7.14

Lief.6 Milch Isolat 1-9 14.6.14

Kessimilch Isolat 4
13.6.14

Kessimilch
Isolat 3, 9
13.6.14

Lief.7 Milch
23.2.-25.2.15

Lief.7 Kuh
Christine nach
Putzen,
Melkeimer 20l,
Kanne 26 schräg
19.5.15

Kessimilch 19.8.15
Lief.7 Milch
23.8.15, 24.8.15

Lief.7 Milch 11.9.15
Kessimilch 15.9.15

Alpkäse Isolate 31.8.13

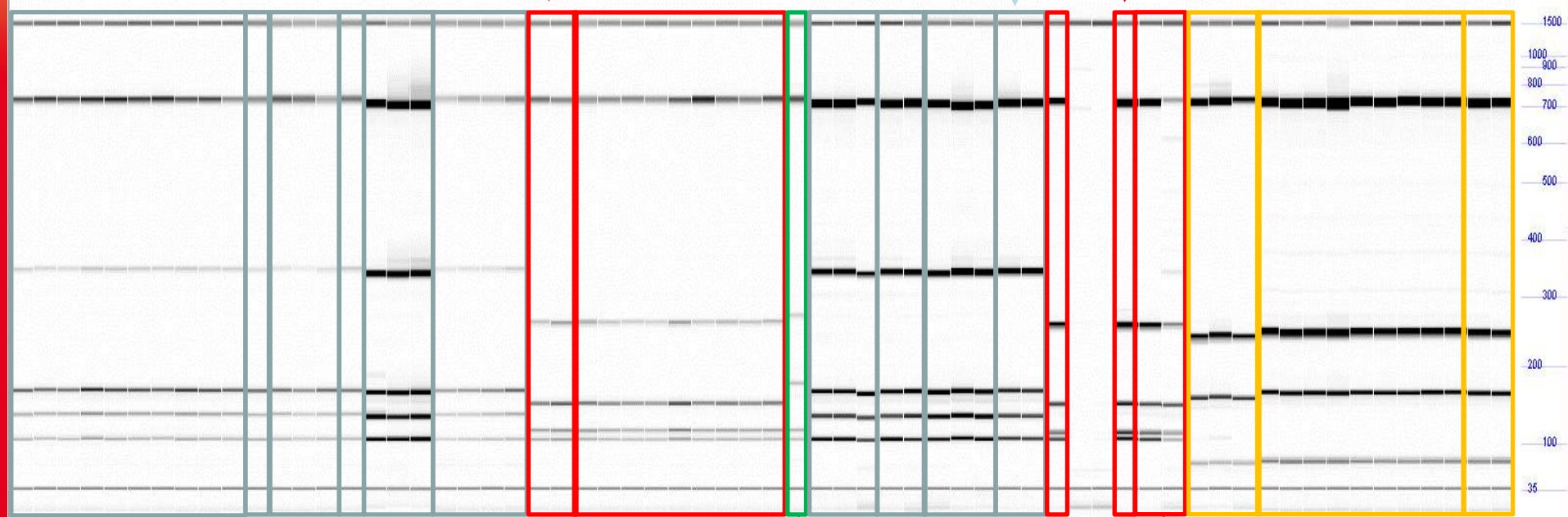
Lief.7 Milch
Isolat 2,3,8
14.6.14

Lief. 7 Milch
23.5.-24.5.15

Lief.6 17.6.15

Alpkäse 19.8.15
Isolate

Kessimilch
16.6.15



1) Luftschauch 14.7.14

Tupferprobe Lief. 7

- 1) Spülgerät Restwasser aus Schwimmer 10.9.14
- 2) Vakuumleitung innen 10.9.14
- 3) Vakuumleitung Hahnen 10.9.14
- 4) Vakuumtank 10.9.14

Tupferprobe Lief. 6

- 1) Tankauslauf Dichtung 14.7.14

Lief. 6 1.7.15

- 1) Unter Tankdeckel Dichtung
- 2) Auslauf Tank (hier nicht gezeigt)
- 3) Milch Plattenkühler