



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

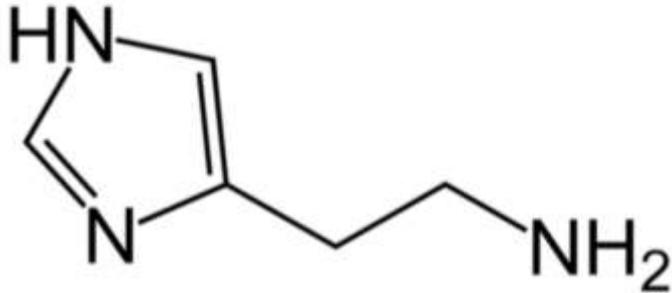


# Inhaltsübersicht

- 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



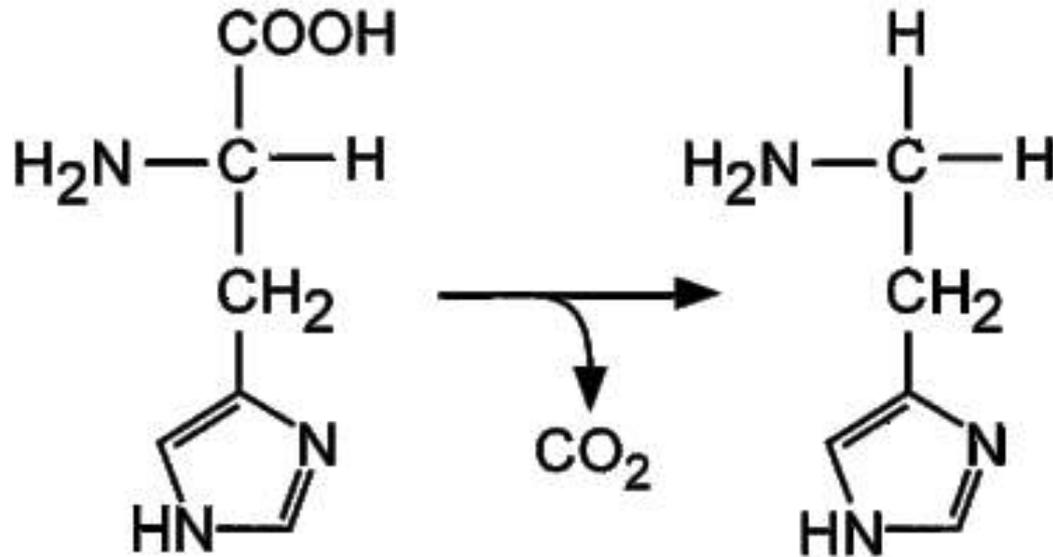
# Was ist Histamin?



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



# Bildung Histamin in der Natur



Histidin  
(Aminosäure)

Histamin  
(biogenes Amin)

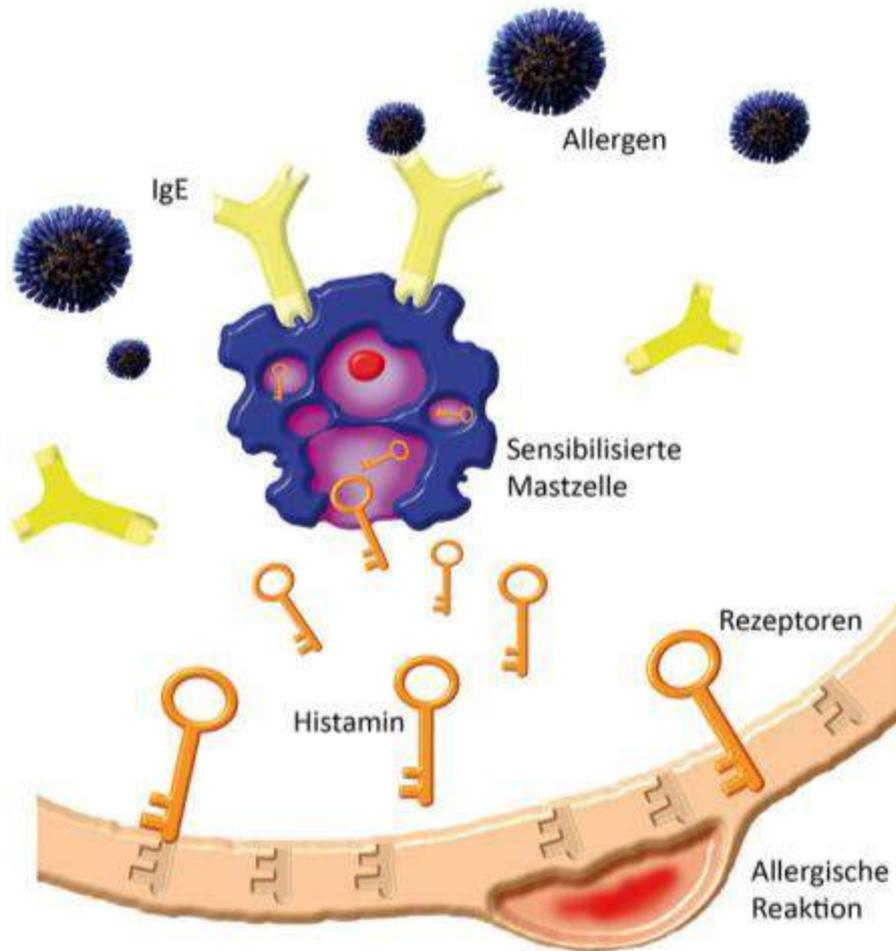
Verantwortliches Enzym: Histidindecarboxylase

# 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



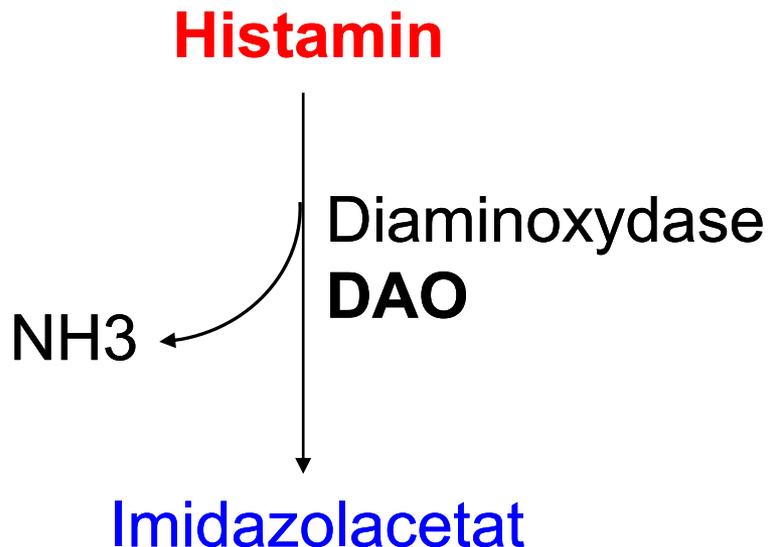
ab einer Dosis von 10 – 25 mg möglich:

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





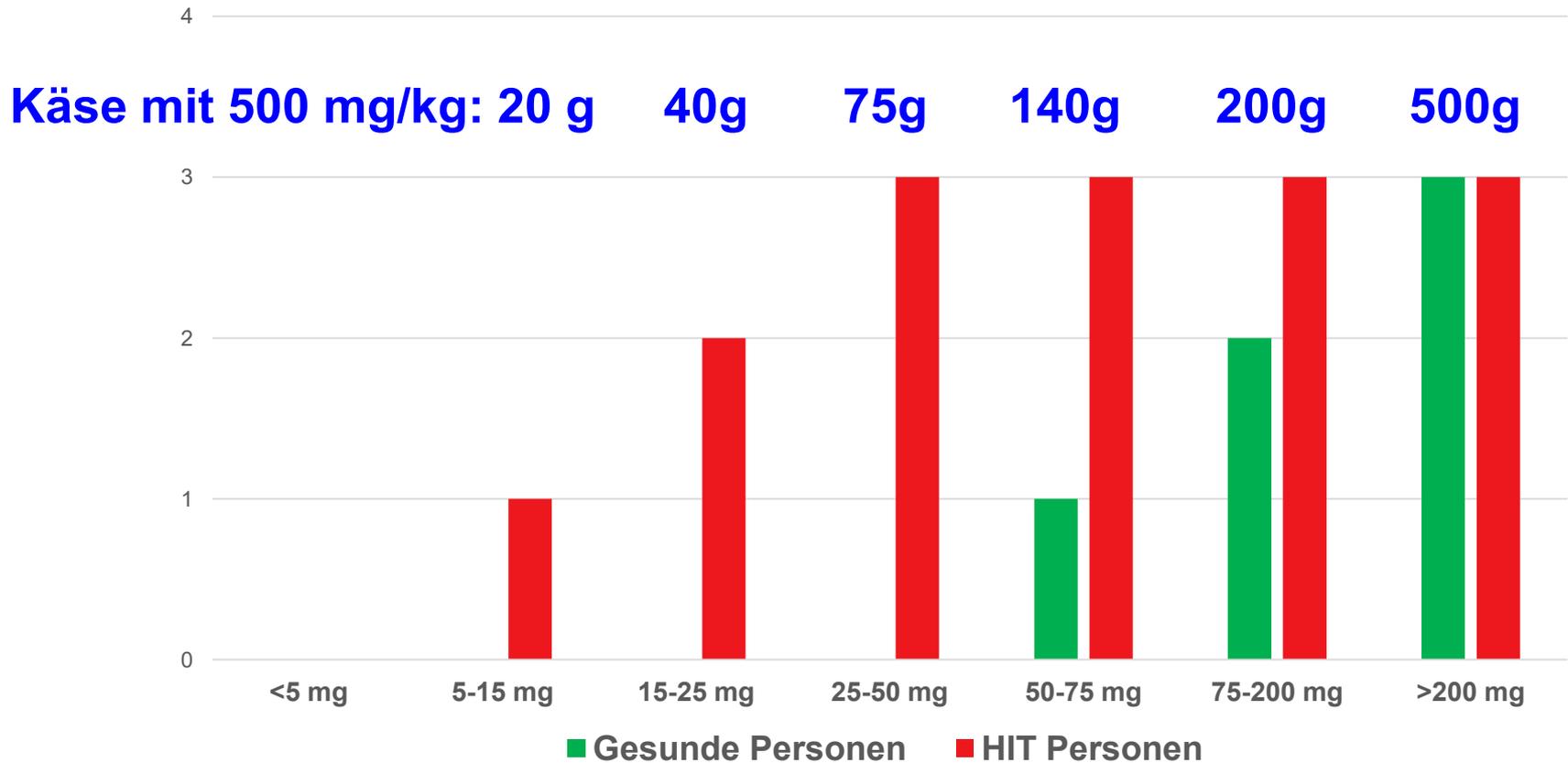
# Abbau von Histamin im Körper



- 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 Histamin-unverträglichkeit 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	<b>274</b>
2	♂	287	<b>271</b>
3	♂	203	<b>192</b>
4	♂	196	<b>185</b>
5	♂	186	<b>176</b>
6	♀	126	<b>119</b>
7	♀	112	<b>106</b>



# 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 :

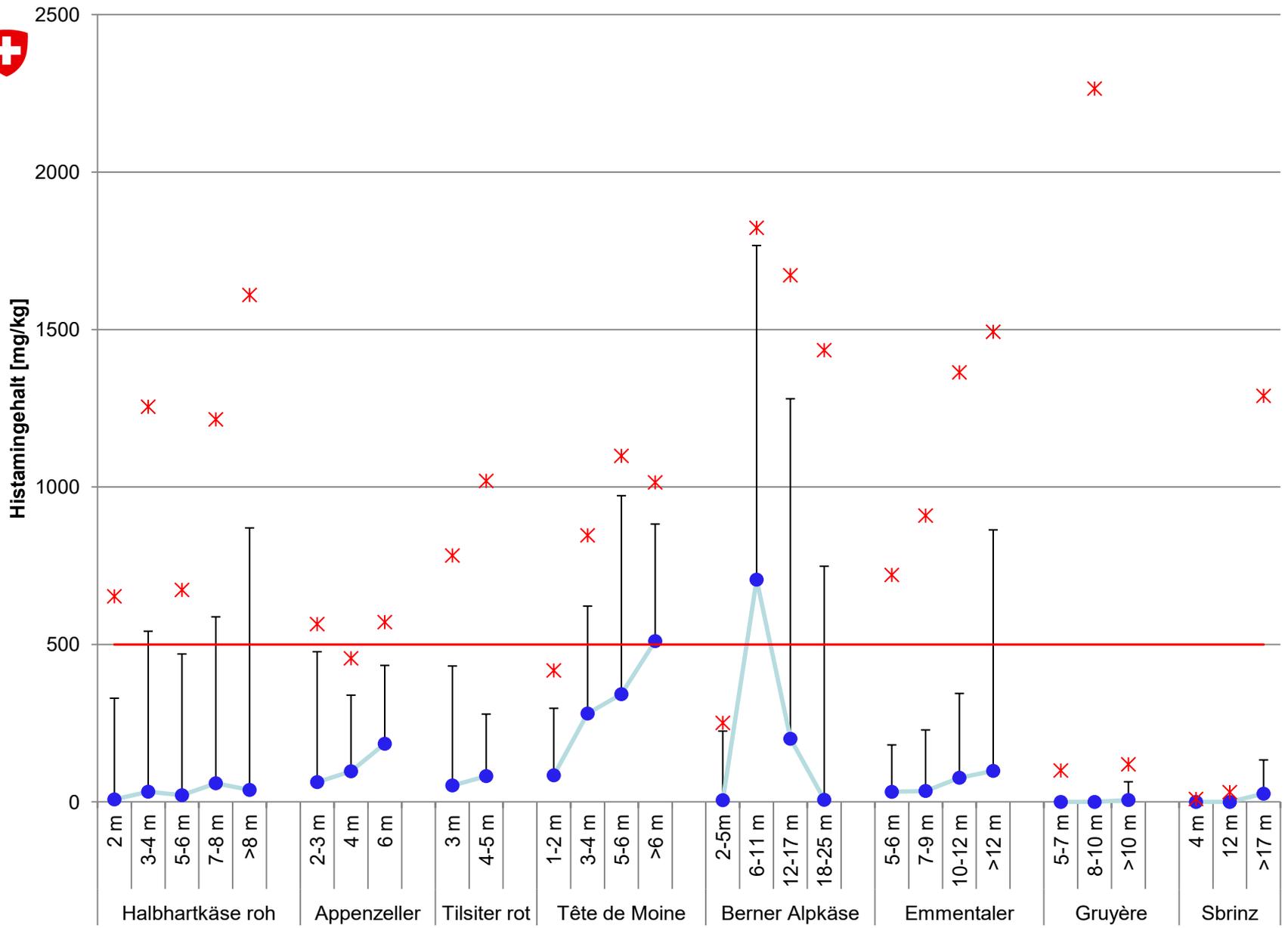
[ NETHERLANDS ]

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

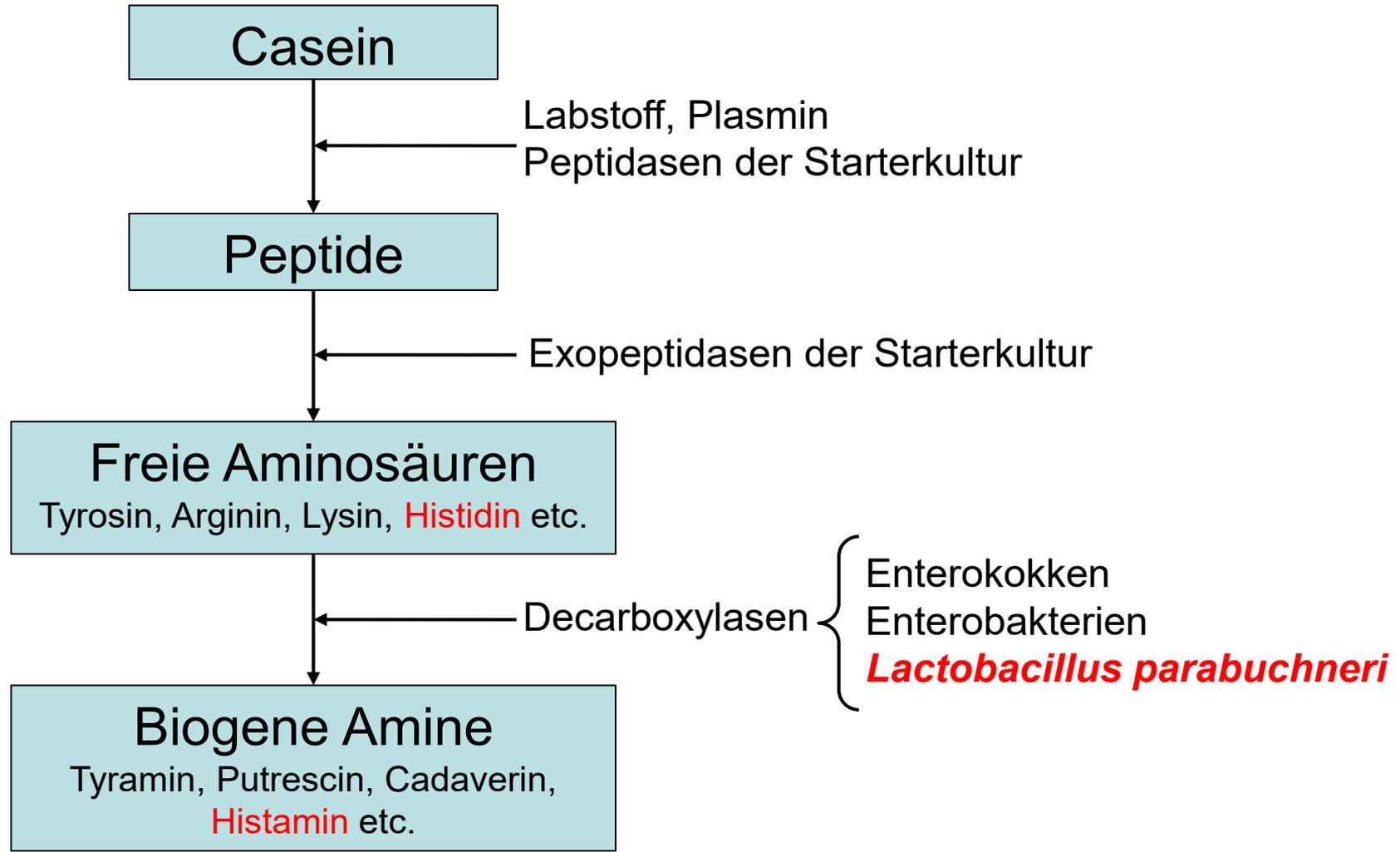
## Berner Alpkäse

- 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 <sup>1</sup>

- gärendes Pflanzenmaterial, Silage
- tierische Schleimhäute, Mundhöhle

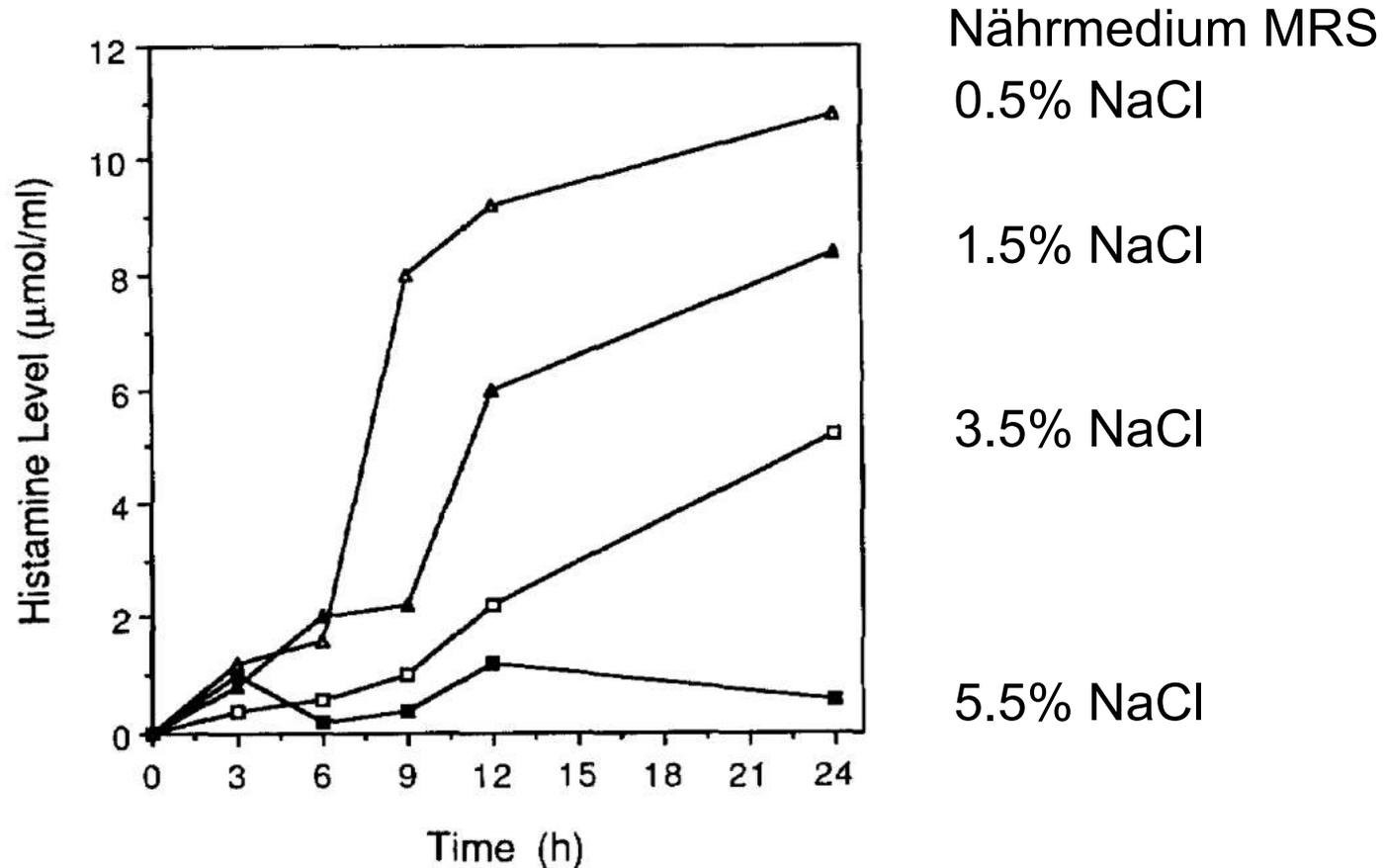
## Technologisch wichtige Eigenschaften <sup>2</sup>

- obligat heterofermentativ
- Kann Milchsäure zu Essigsäure + CO<sub>2</sub> 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

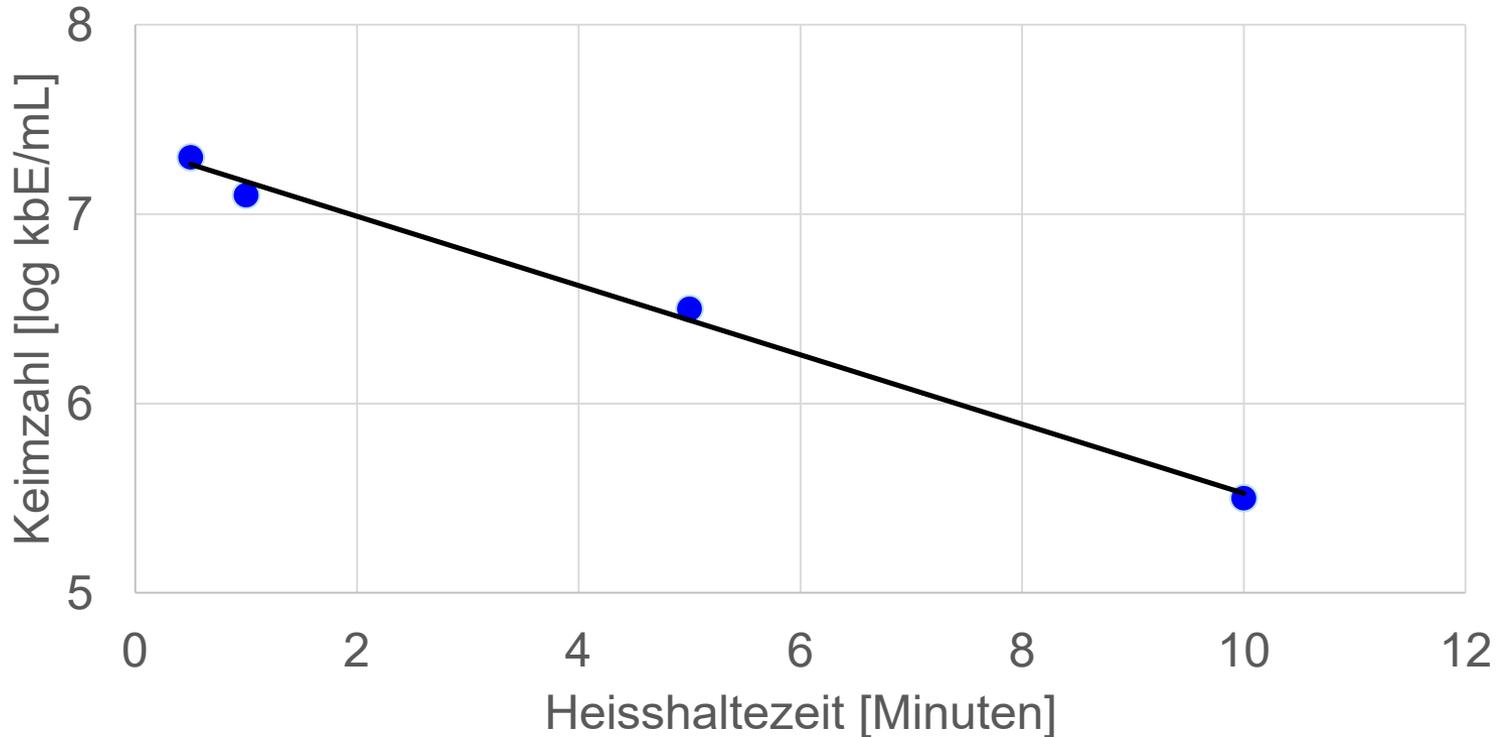
	N Laibe	Histamin [mg/kg]			Tyramin [mg/kg]		
		Rand- zone	Laib- mitte	P	Rand- zone	Laib- mitte	P
<b>Appenzeller</b>	10	47	83	<0.01	284	98	<0.05
<b>Tisiter rot</b>	5	100	187	<0.001	244	60	<0.001

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



# *Lactobacillus parabuchneri*: Hitzeresistenz

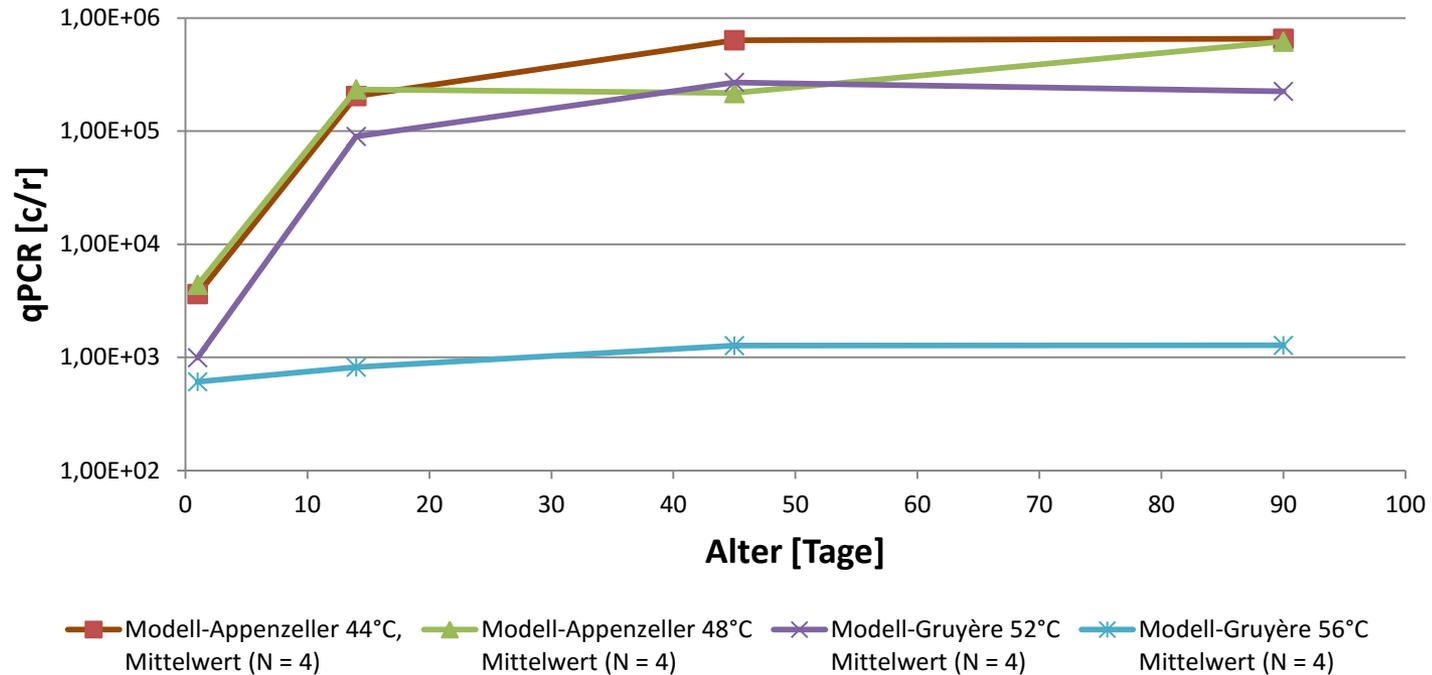
Inaktivierung von *Lb. parabuchneri* bei 60°C  
D-Wert 5.5 min



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



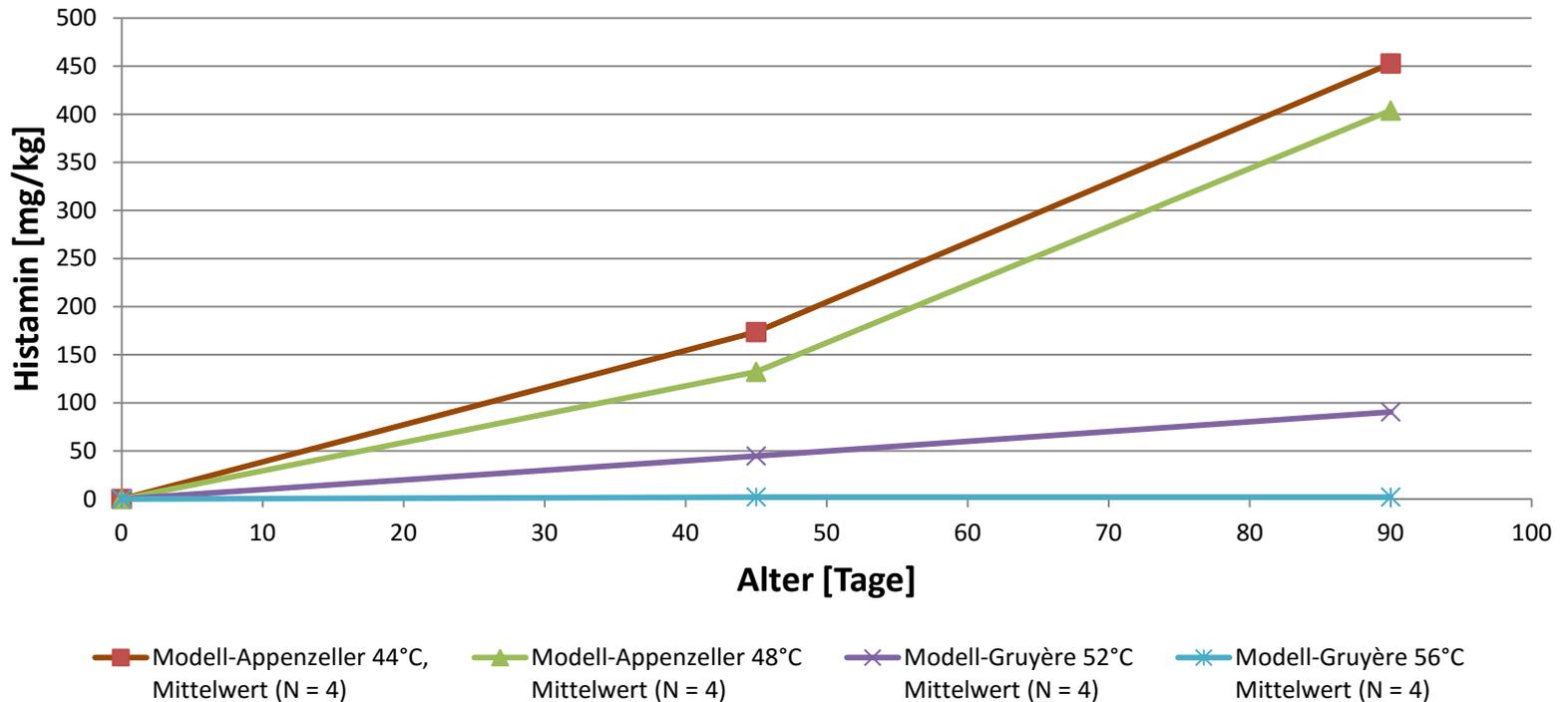
# Einfluss der Brenntemperatur auf *L. parabuchneri* (Versuch 13-22-82)



- 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)



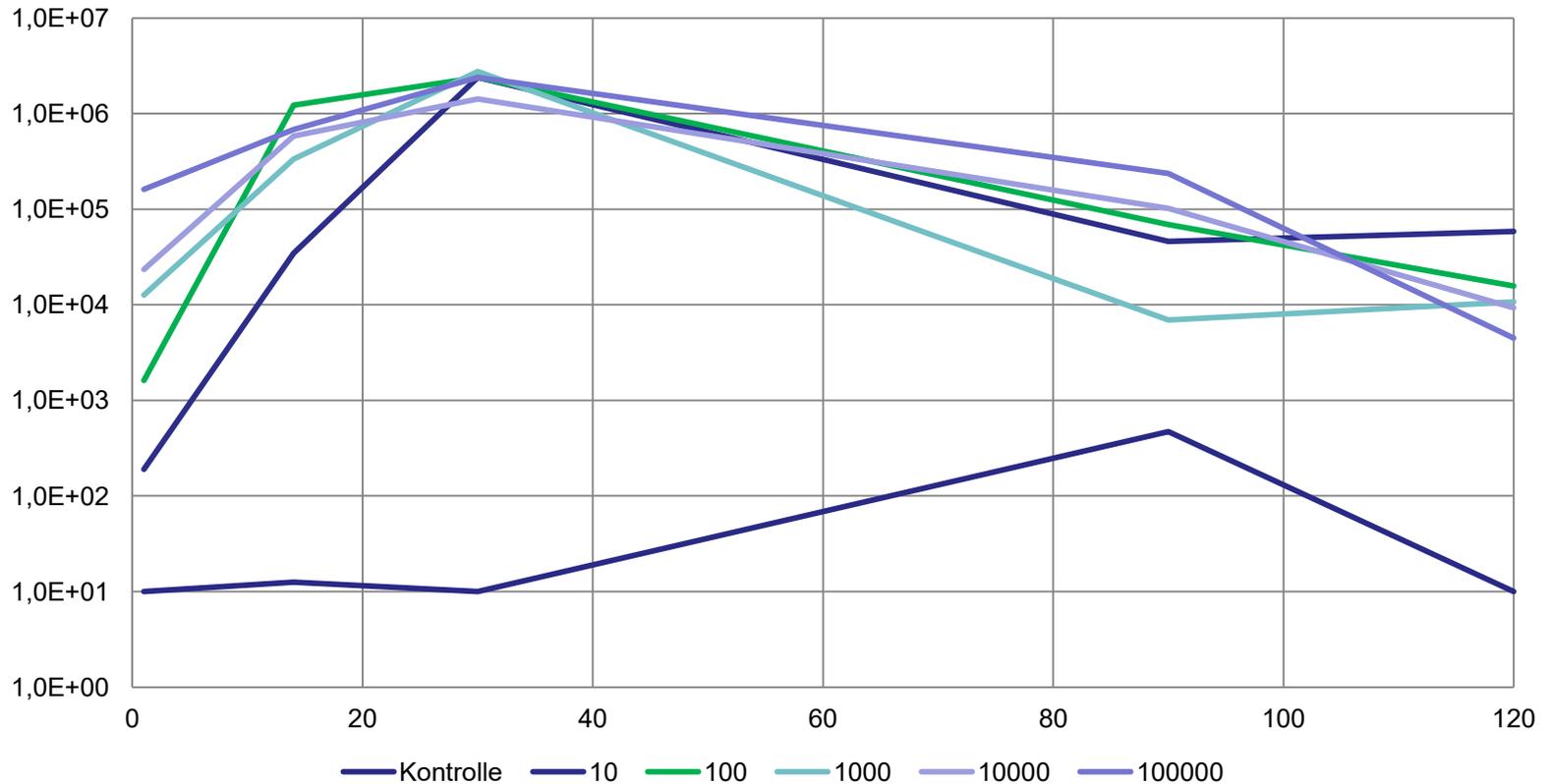
- Keine Bildung von Histamin bei Brenntemperaturen  $\geq 56^{\circ}\text{C}$
- deutlich höhere Histamingehalte als in Modell-Raclette (13-22-81)  
(Hinweis auf Interaktionen mit Säuerungskultur ? → OPA-Analysen)



# Zonale Unterschiede im Histamingehalt von Käsen

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

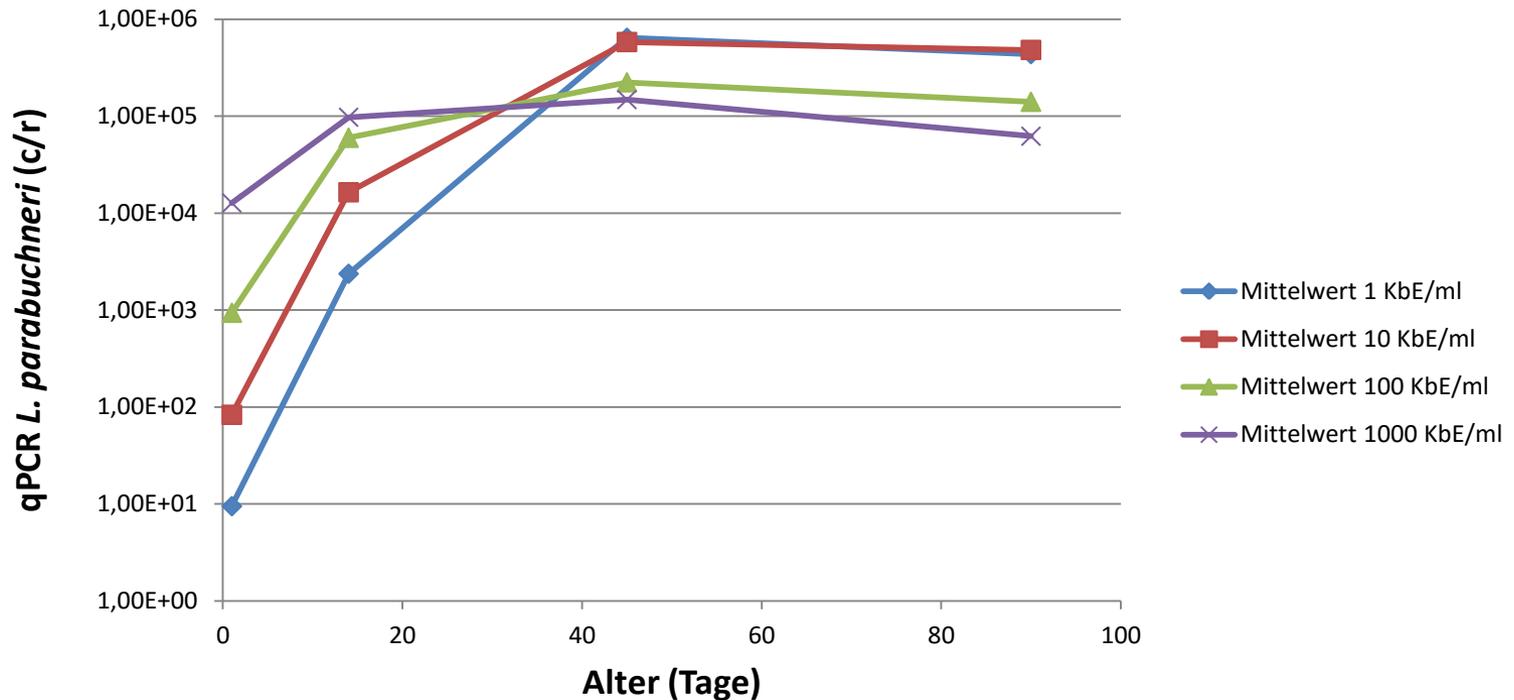
# Wachstum von histaminbildenden *Lb. parabuchneri* in Käse (IB 626, 2011)



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*

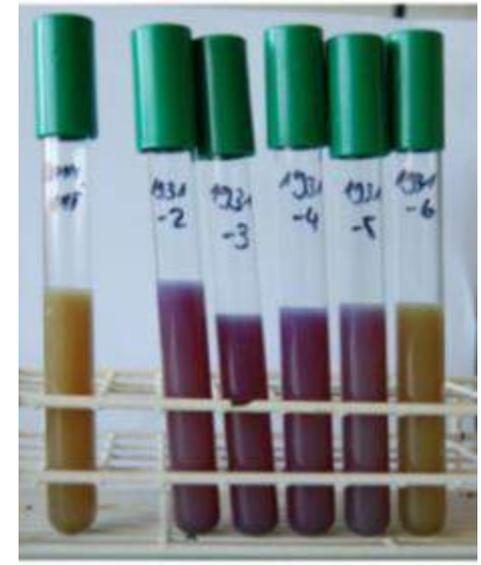
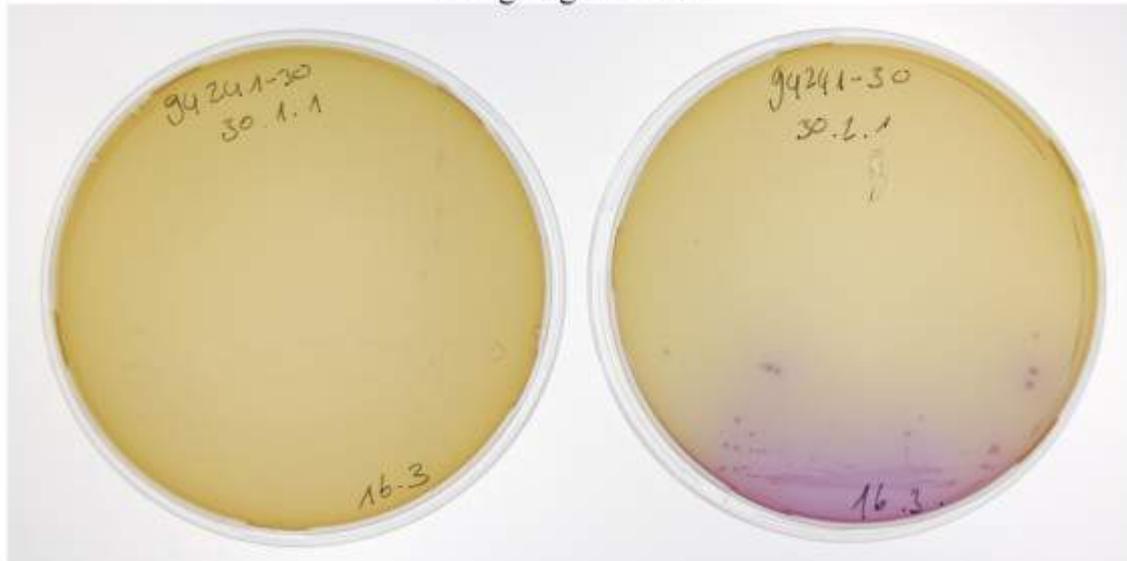


# Isolierung von Amin-bildenden Keimen

Entwicklung von Selektivmedien für tyramin- und histaminbildende Keime

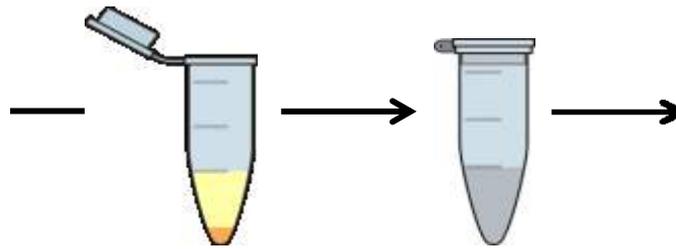
His-DC Agar: Emmentaler, 3 Monate

94241-30  
31 mg / kg Histamin



# Vorbereitung und Durchführung des Histamintests

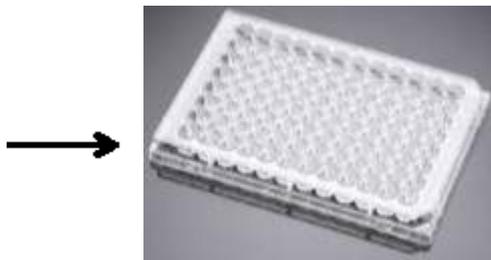
## Durchführung der Messung



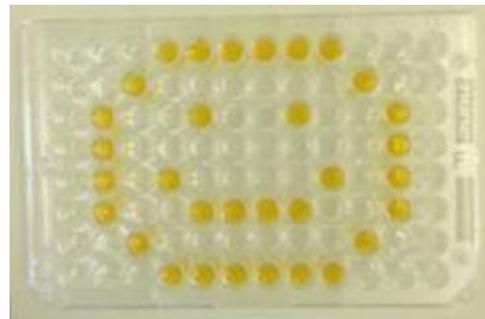
1. 200  $\mu$ l  
zentrifugieren

2. 10  $\mu$ l Überstand in  
1 ml 0.1 M EDTA  
(pH 8)

3. 50  $\mu$ l Lösung +  
Testkomponenten



4. Inkubation 37 °C, 15  
min in Mikrotiterplatte



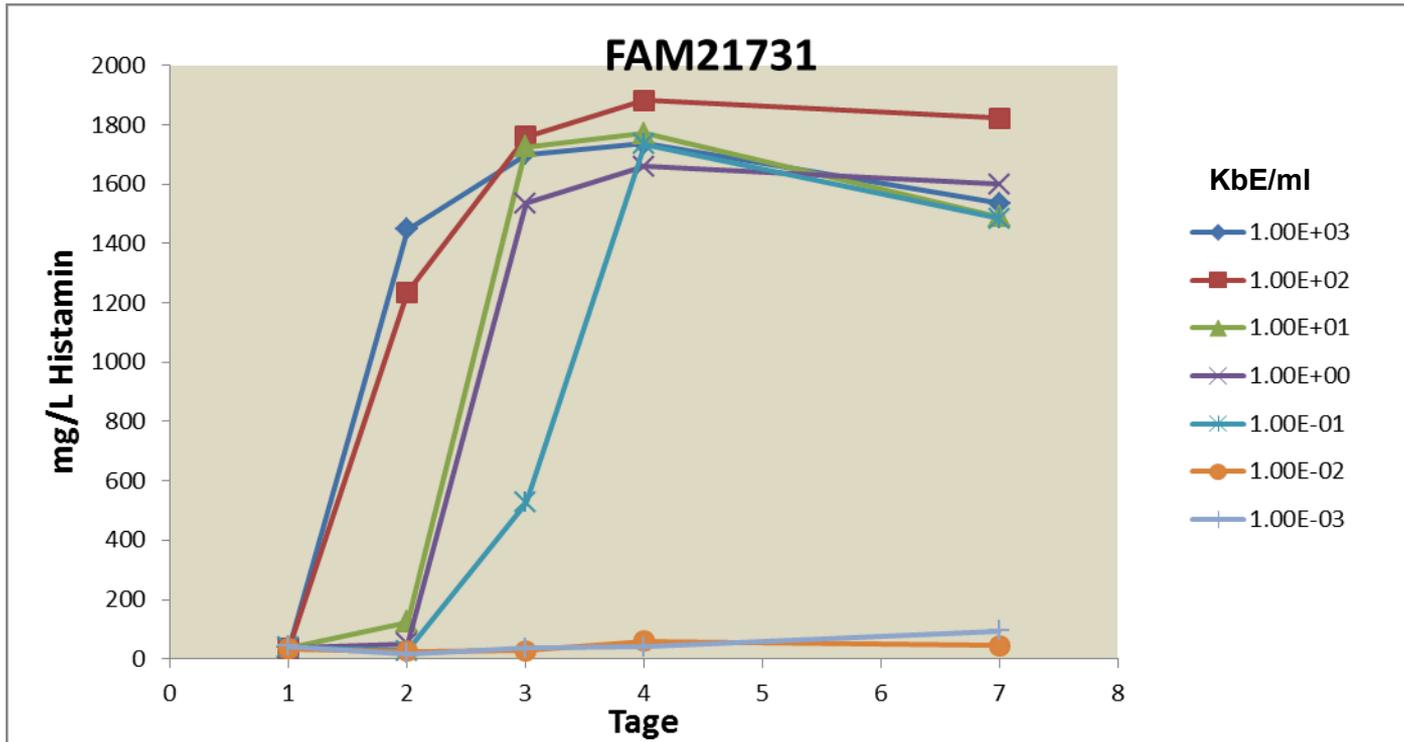
5. Positive Milchproben



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



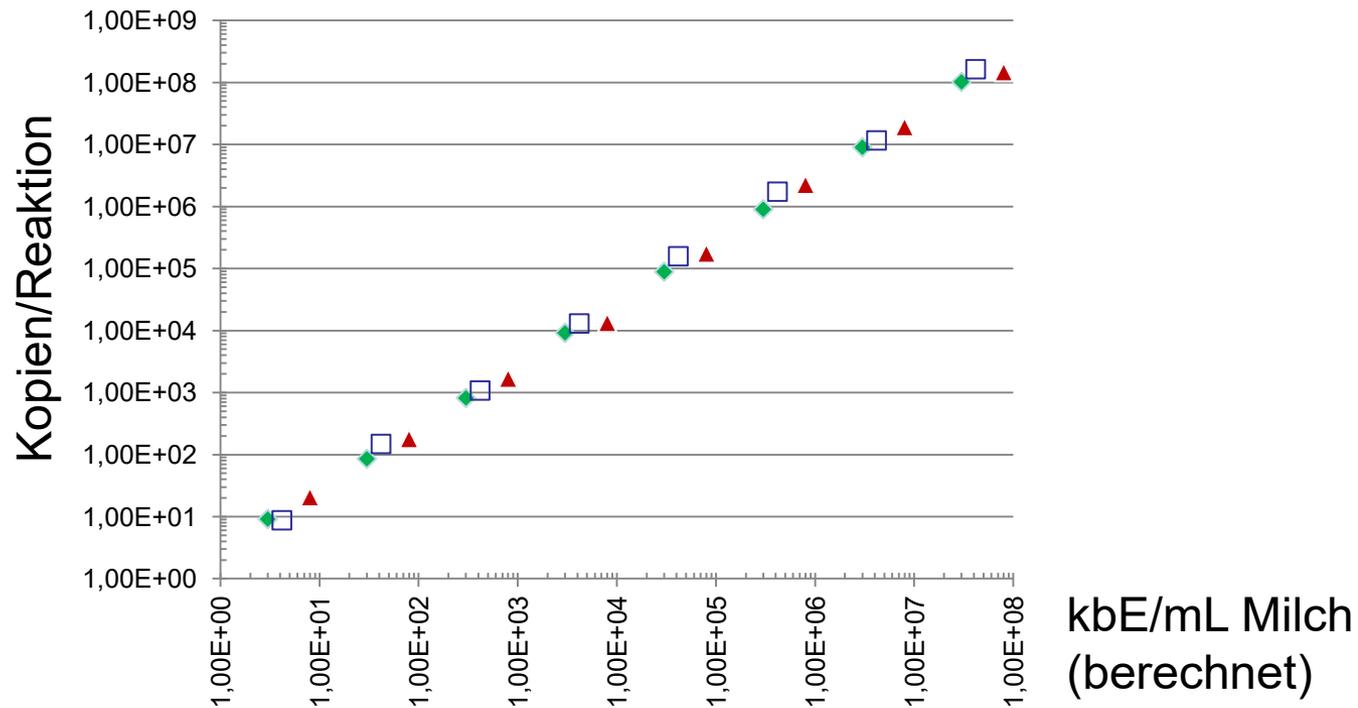
# Optimierte Methode zum Nachweis histaminbildender Keime in Rohmilch



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

# Quantifizierung von *L. parabuchneri* mittels qPCR

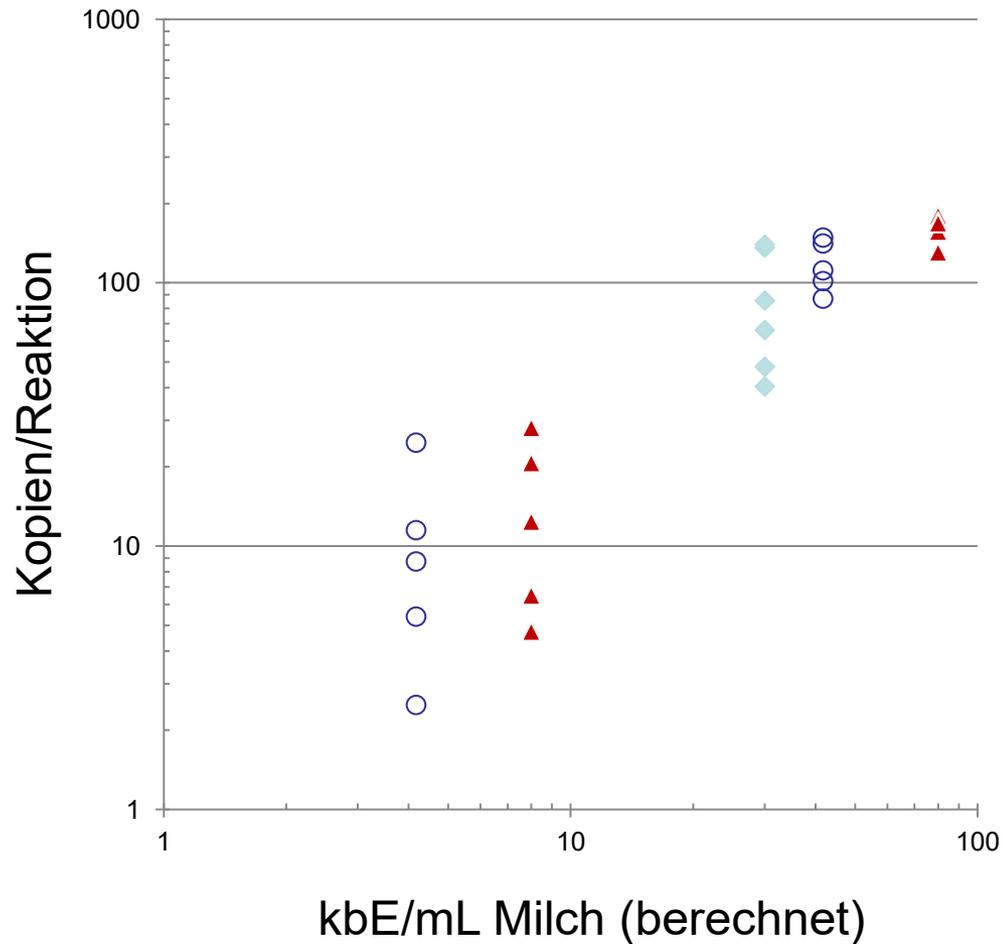
Analyse von dezimalen Verdünnung von künstlich kontaminierter Milch



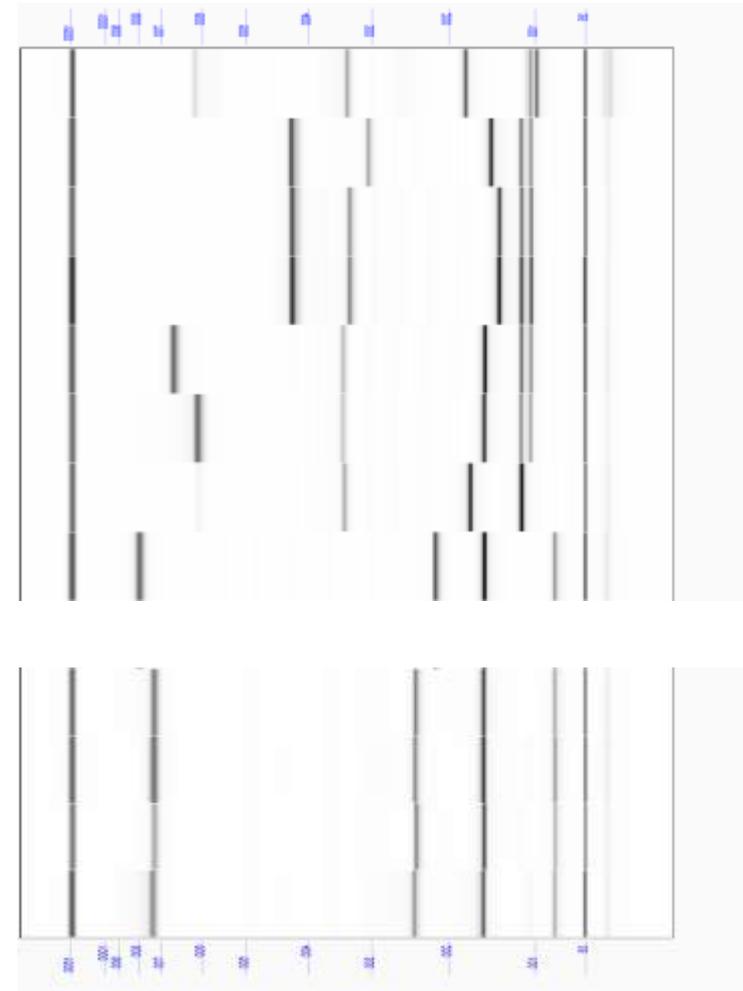
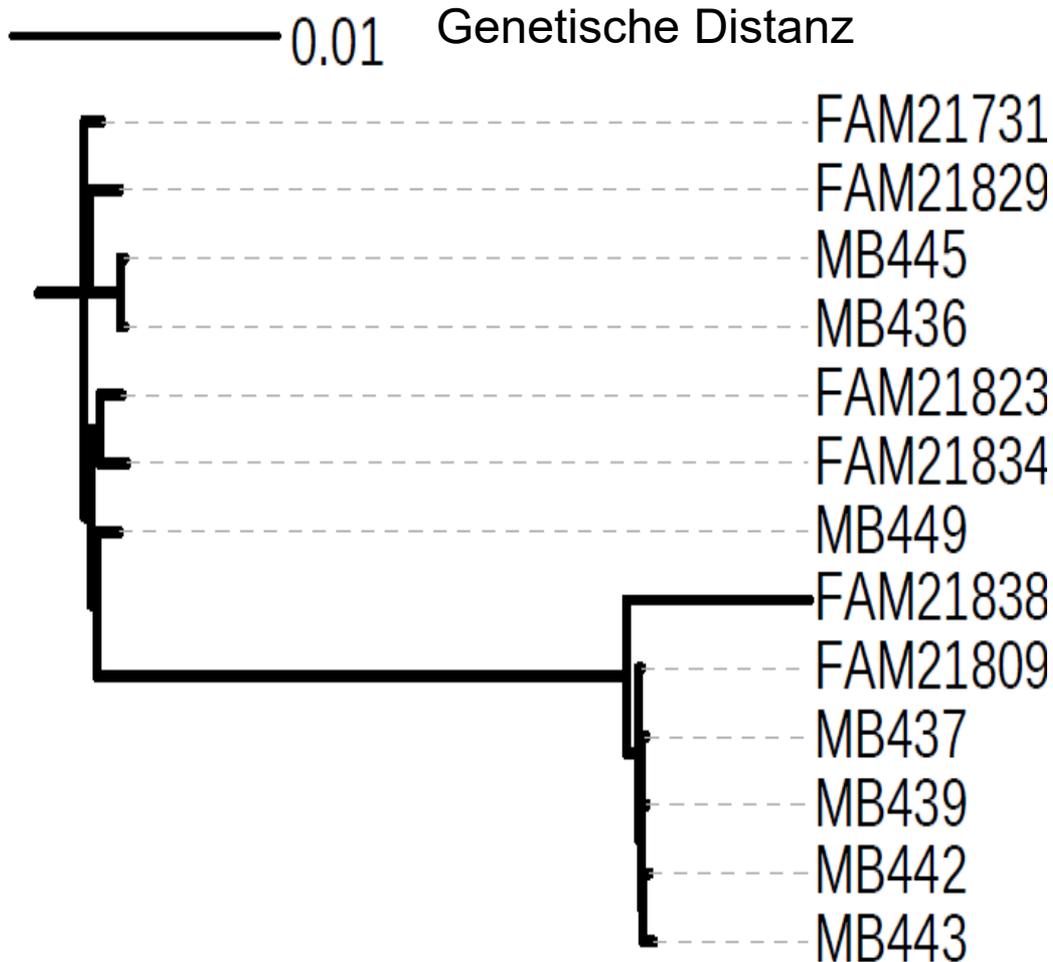


# Quantifizierung von *L. parabuchneri* mittels qPCR

## Sensitivität der Methode



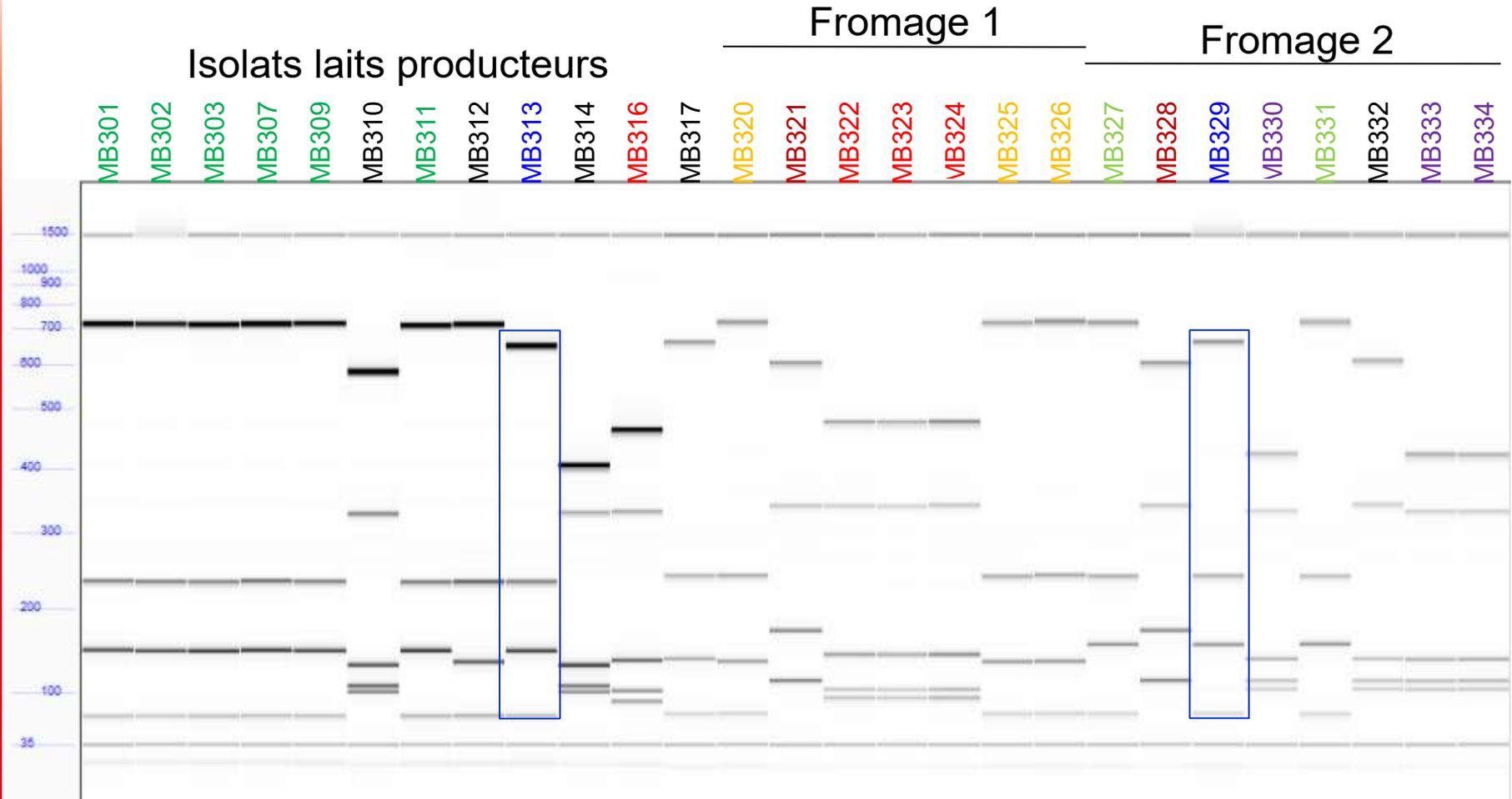
# Genotypisierung von Isolaten mittels Multiplex-PCR e



→ D. Wüthrich, Rémy Bruggmann, UNIBE

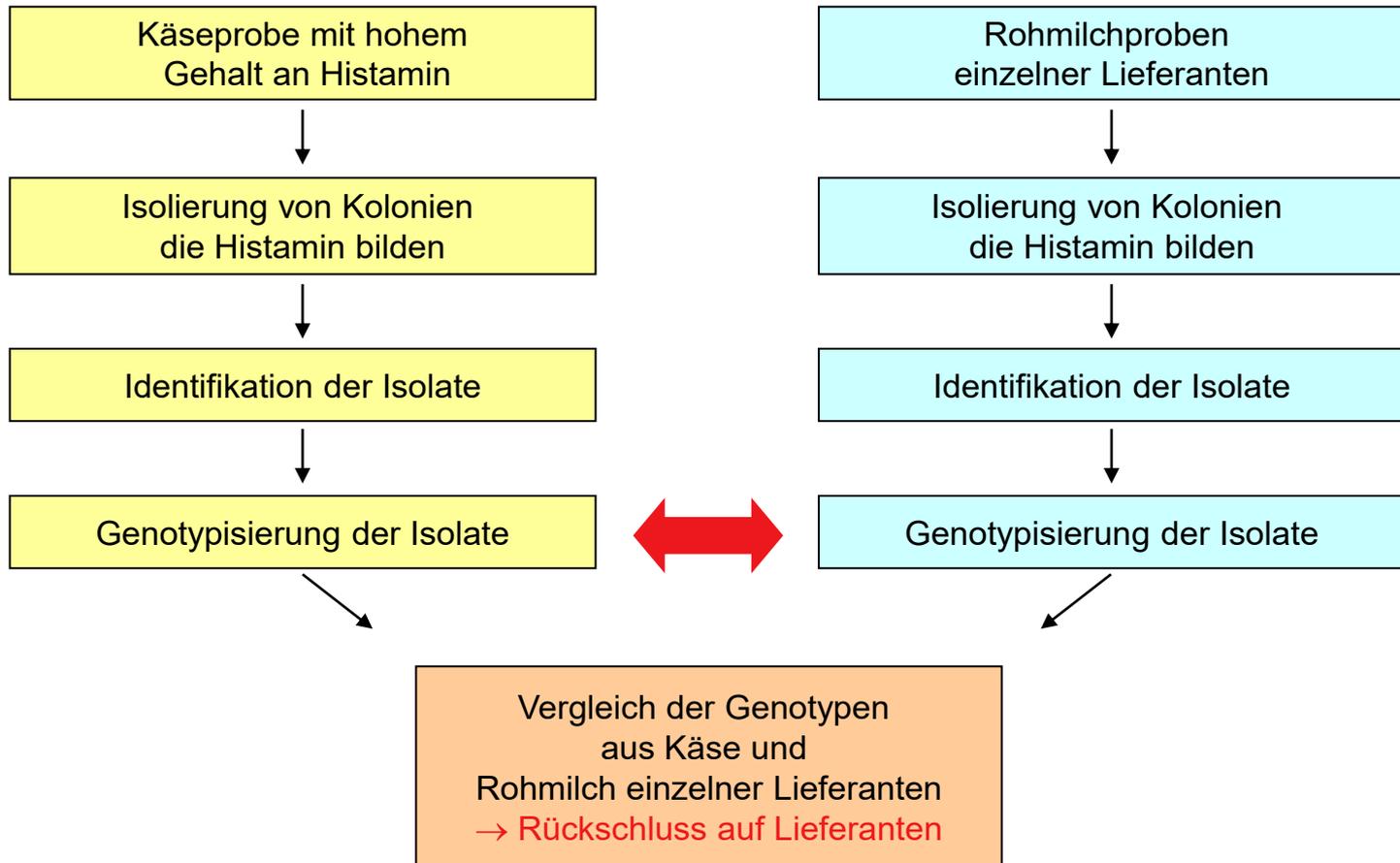


# Praktische Anwendung der Genotypisierung





# 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	<b>14.2 ↑</b>
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	<b>21.6 ↑</b>
Histamin	mg/kg	<b>917 ↑↑</b>
Tyramin	mg/kg	13
Summe biogene Amine	mg/kg	<b>930 ↑↑</b>



## 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	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.

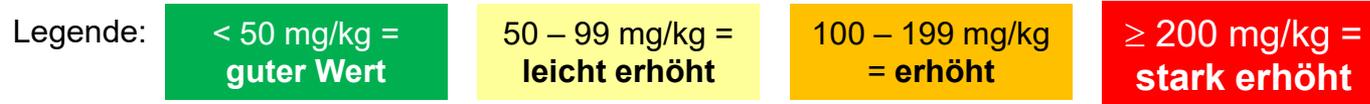
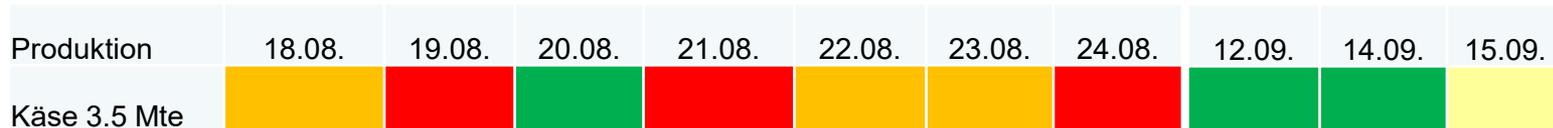
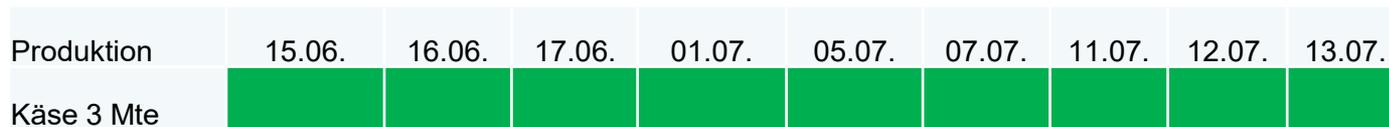


# Histamin in Berner Alpkäse

## 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

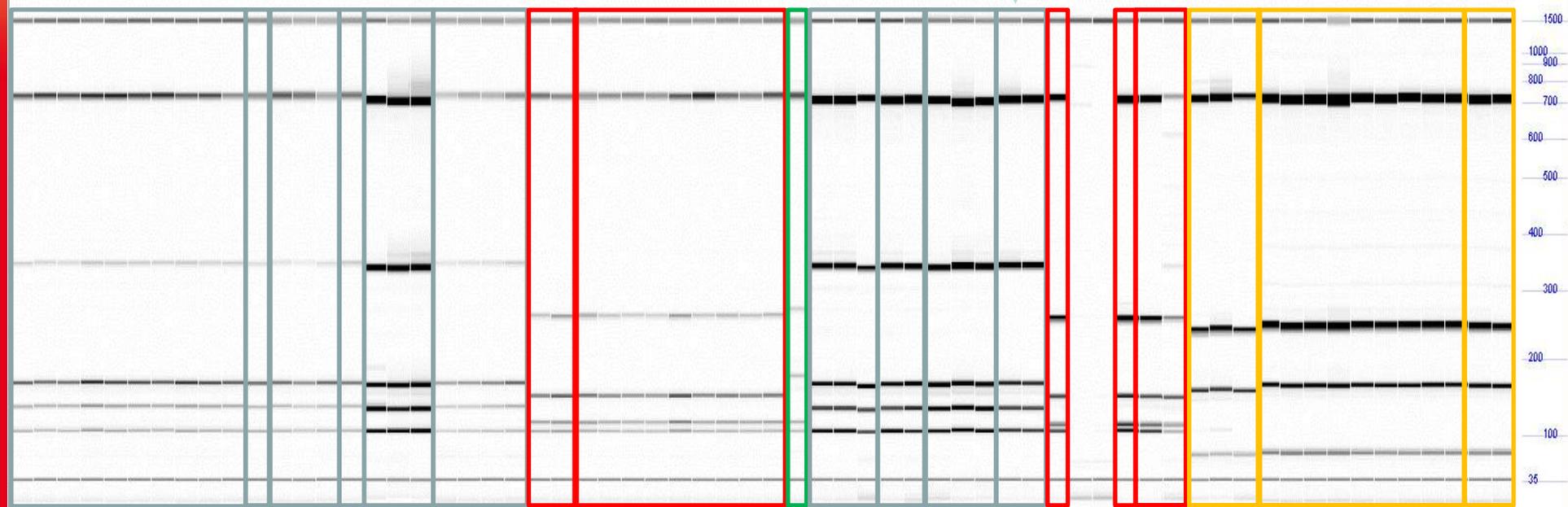
Lief.7 Milch  
Isolat 2,3,8  
14.6.14

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