

## Reduktion von *Listeria monocytogenes* in Fleischerzeugnissen durch Kombination von Hochdruck und Bakteriophagen



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungseinrichtung(en):	Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e. V. (DIL), Quakenbrück Dr. Volker Heinz/PD Dr. Christian Hertel/Dr. Ramona Nitzsche Max-Rubner-Institut (MRI) Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie, Kiel Prof. Dr. Charles Franz/Dr. Frank Hille/Dr. Natalia Biere
Industriegruppe(n):	Bundesverband Deutscher Wurst- & Schinkenproduzenten e.V. (BVWS), Bonn
Projektkoordinatorin:	Kathrin Scheer Westfälische Fleischwarenfabrik Stockmeyer GmbH, Sassenberg
Laufzeit:	2022 – 2025
Zuwendungssumme:	€ 524.871,--

### Ausgangssituation

Durch Lebensmittel übertragene Infektionen mit dem ubiquitären Bakterium *Listeria (L.) monocytogenes* treten zwar vergleichsweise selten auf, sind aufgrund der Schwere des Krankheitsverlaufs und der hohen Letalität aber von großer Bedeutung. Im Jahr 2020 wurden in Deutschland 575 Infektionen mit 31 Todesfällen gemeldet (RKI, 2021). Bei einem Ausbruch im Jahr 2018 mit 109 Fällen von Listeriose konnte ein Fleischprodukt als sehr wahrscheinliche Ursache identifiziert werden (RKI, 2019). Hinsichtlich einer Kontamination mit *L. monocytogenes* können sowohl erhitzte Fleischerzeugnisse, wie Brühwürste oder Kochschinken, durch Sekundärkontamination, z.B. beim Aufschneiden, als auch Fleischerzeugnisse zum Rohverzehr, wie Rohwürste, durch Primär- und/oder Sekundärkontamination betroffen sein. Neben den vielfältigen, etablierten Maßnahmen zur Reduktion von *L. monocytogenes* während der Herstellung von Fleischerzeugnissen bieten neue Verfahren zur Keimreduktion, wie die nicht-thermische Hochdruckbehandlung und die Biokonservierung mit Bakteriophagen, eine Möglichkeit, das Risiko des Vorkommens von *L. monocytogenes* in Fleischerzeugnissen weiter zu senken.

Die Hochdruckbehandlung ist ein nicht-thermisches Verfahren zur Haltbarmachung von Lebensmitteln, das auf der Inaktivierung von vegetativen mikrobiellen Zellen beruht. Dabei werden Drücke von bis zu 600 MPa angewandt, die u. U. aber zur Beeinträchtigung der sensorischen Qualität der Lebensmittel führen können. Außerdem ist die notwendige Haltezeit zu lang, um derzeit ein wirtschaftlich interessantes Verfahren gestalten zu können. Eine Reduktion des Druckes bzw. der Haltezeit würde jedoch mit einer Verringerung der Inaktivierung einhergehen, so dass mehr *L.-monocytogenes*-Zellen die Behandlung überleben würden.

Zur Reduzierung von *L. monocytogenes* können auch hochwirksame, lytische Phagen eingesetzt werden. Ein limitierender Faktor bei der Anwendung von Phagen in prozessierten Lebensmitteln ist jedoch die Komplexität und Größe der Oberfläche, so dass nicht alle Zellen der pathogenen Bakterien bei der Behandlung erfasst werden. Im Gegensatz dazu wirkt hydrostatischer Hochdruck unabhängig von derartigen Matrixgegebenheiten. Durch Kombination beider Maßnahmen, dem Einsatz *L.-monocytogenes*-spezifischer Phagen zusammen mit einer milden Hochdruckbehandlung, könnte hingegen ein effektiver Schutz gegen Listerien bei gleichzeitiger produktschonender Herstellung erzielt werden. Hiermit könnten den bestehenden Limitierungen der jeweiligen Verfahren zur Reduktion von *L. monocytogenes* in Fleischerzeugnissen begegnet werden.

Ziel des Forschungsvorhabens war vor diesem Hintergrund die Entwicklung eines Konzepts zum Einsatz von kommerziell erhältlichen Phagen in Kombination mit Hochdruck zu einer synergistischen Reduzierung von *L. monocytogenes* bei Rohwürsten und Brühwürsten bzw. Kochschinken bei gleichzeitigem Erhalt einer hohen Produktqualität. Im Rahmen des Vorhabens soll die Stabilität bzw. Funktionalität der kommerziellen Phagen in Abhängigkeit der Lebensmittelmatrix und der Rezepturparameter sowie der Druckhöhe und Druckhaltezeit unter Berücksichtigung der Lagerungszeit untersucht werden. Weiterhin sollen die Parameter für eine Hochdruckbehandlung, wie Druckhöhe und Druckhaltezeit, ermittelt werden, die zu keiner wesentlichen Beeinträchtigung der sensorischen Qualität der Fleischerzeugnisse, aber gleichzeitig zu einer maximalen Reduktion bzw. Schädigung von *L. monocytogenes* bzw. der Phagen führen. Dabei sollen auch die molekularbiologischen Hintergründe der Entstehung drucktoleranter *L.-monocytogenes*-Stämme beleuchtet werden. Abschließend werden die erarbeiteten Strategien in mikrobiologischen Challenge-Tests an einer Brühwurst oder einem Kochschinken und an einer Rohwurst validiert.

### **Forschungsergebnis**

Zu Projektbeginn wurden mehrere *L. monocytogenes*-Stämme hinsichtlich ihrer Sensitivität gegenüber Hochdruck und Phagen charakterisiert. Dabei zeigte sich eine deutliche Stammabhängigkeit. Für die Hauptversuche wurde ein vergleichsweise hochdruck- und phagenresistenter Stamm ausgewählt, um die Wirksamkeit der kombinierten Verfahren realistisch bewerten zu können. Zudem wurden geeignete Methoden zur Applikation der Phagen auf Fleischerzeugnissen sowie zur quantitativen Bestimmung von Bakterien und Phagen aus den Lebensmittelmatrices etabliert.

Die Hochdrucksensitivität der eingesetzten Phagen wurde in Abhängigkeit von verschiedenen Lebensmittelkomponenten sowie auf den Modellprodukten (Lyoner & Salami) untersucht. Phage P100 erwies sich insgesamt als stabiler gegenüber Hochdruck als Phage SIL2. Gewürze und Kochsalz zeigten einen gewissen schützenden Effekt, während Natriumnitrit keinen relevanten Einfluss hatte. Ab etwa 300 MPa kam es bei beiden Phagen zu deutlichen Titerreduktionen, wobei die Lebensmittelmatrix einen zusätzlichen Einfluss auf die Inaktivierung hatte.

Die Inaktivierung von *L. monocytogenes* durch Hochdruck war ebenfalls abhängig von der Produktmatrix – eine etwas höhere Inaktivierung konnte auf Lyoner beobachtet werden. Einzelne Lebensmittelbestandteile beeinflussten zudem die Hochdruckwirkung, wobei Natriumnitrit einen schützenden Effekt aufwies. Wiederholte Hochdruckbehandlungen führten zu einer erhöhten Hochdruckresistenz der Bakterien, was das Adaptationspotenzial von *L. monocytogenes* unterstreicht.

Die alleinige Phagenbehandlung führte auf den untersuchten Fleischerzeugnissen nicht zur Ausbildung von Phagenresistenzen. Phagenresistente Isolate konnten lediglich auf künstlichen Nährmedien nachgewiesen werden. Genetische Analysen zeigten, dass diese Resistenzen überwiegend auf Veränderungen der Zellwandstruktur zurückzuführen sind.

Ein zentraler Fokus des Projektes lag auf der Kombination von Hochdruck- und Phagenbehandlung. Dabei zeigte sich, dass die Wirksamkeit der kombinierten Verfahren von mehreren Faktoren abhängt, insbesondere von der Behandlungsreihenfolge, der Druckhöhe, der Haltezeit und der physiologischen Anpassung der Bakterien. Insbesondere für Phage P100 konnten bei milden Hochdruckeinstellungen wiederholt synergistische

Effekte beobachtet werden. Auch für Phage SIL2 wurden synergistische Effekte festgestellt, allerdings in geringerem Ausmaß. Hochdruckadaptierte oder phagenresistente Listerien blieben grundsätzlich für das jeweils andere Verfahren empfindlich.

Sensorische Untersuchungen zeigten, dass die für die kombinierte Behandlung relevanten Hochdruckeinstellungen beim Modellprodukt Lyoner keine nennenswerten Beeinträchtigungen der Produktqualität verursachten. Beim Modellprodukt Salami führten hingegen bereits sehr milde Hochdruckbehandlungen zu deutlichen Qualitätseinbußen.

In abschließenden Versuchen unter praxisnahen Bedingungen konnte gezeigt werden, dass insbesondere die Kombination aus Hochdruck und nachgeschalteter Phagenbehandlung bei niedriger Kontaminationshöhe eine nachhaltige Unterdrückung des Wachstums von *L. monocytogenes* während der Kühllagerung ermöglicht. Damit konnte das grundsätzliche Potenzial der kombinierten Technologie zur Verbesserung der mikrobiologischen Sicherheit von Fleischerzeugnissen aufgezeigt werden.

### **Wirtschaftliche Bedeutung**

Die deutsche Fleischwarenindustrie wird von einer Vielzahl von kleinen und mittelständischen Unternehmen (KMU) geprägt. Die kombinierte, sequenzielle Anwendung von Phagen und Hochdruck eröffnet diesen Unternehmen die Möglichkeit, die Sicherheit ihrer Erzeugnisse weiter zu erhöhen. Hochdruckbehandlungen, die eine effiziente Reduktion von Listerien in Fleischerzeugnissen erlauben (400-600 MPa), führen in der Regel auch zu sensorischen Beeinträchtigungen dieser Produkte. Durch mildere Einstellungen wäre die Inaktivierung der Pathogenen allerdings weniger effizient. Die mögliche synergistische Wirkung von Hochdruck und Listerien-spezifischen Bakteriophagen erlaubt die Ermittlung von Prozessparametern zur Senkung des Drucks bzw. zur Verkürzung der Haltezeit und somit zum Erhalt der sensorischen Qualität von Fleischerzeugnissen. Daraus ergibt sich eine höhere Attraktivität der hochdruckbasierten „kalten Pasteurisation“ für diese Lebensmittelprodukte.

Die Erkenntnisse zur Hochdrucksensitivität der Phagen ermöglichen es, eine Strategie für die kombinierte Anwendung von Hochdruck und Phagen zu erarbeiten und die Reihenfolge der Verfahren zu identifizieren, bei der die größtmögliche Reduktion von Listerien erreicht wird. Dadurch wird das Risiko des Vorkommens von *L. monocytogenes* sowie von Produktrückrufen deutlich reduziert. Der kombinierte Einsatz von Hochdruck mit Bakteriophagen eröffnet zudem die Möglichkeit, die Produkte auch in Länder zu exportieren, in denen eine Null-Toleranz-Strategie hinsichtlich *L. monocytogenes* verfolgt wird (wie z. B. den USA). Anwender des kombinierten Verfahrens können mit diesem Wettbewerbsvorteil ihre Marktoptionen auch im Exportgeschäft erweitern.

### **Publikationen (Auswahl)**

1. FEI-Schlussbericht 2025

### **Weiteres Informationsmaterial**

Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e. V. (DIL)  
Prof.-von-Klitzing-Straße 7, 49610 Quakenbrück  
Tel.: +49 5431 183-232  
Fax: +49 5431 183-200  
E-Mail: v.heinz@dil-ev.de

Max-Rubner-Institut (MRI)  
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel  
Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie  
Hermann-Weigmann-Straße 1, 24103 Kiel  
Tel.: +49 431 609-2340  
Fax: +49 431 609-2306  
E-Mail: charles.franz@mri.bund.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

### Förderhinweis

## ... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWE) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Bildnachweis - Seite 1: © Uhde High Pressure Technologies GmbH, Hagen

Stand: 19. März 2026