

# Käse-Fälschungen sofort aufgedeckt

**Einfach, rasch, direkt vor Ort: Für die Agroscope Herkunftsnachweiskulturen ist ein neues Nachweissystem in der Pipeline. Es wurde vom Start-Up SwissDeCode zusammen mit Agroscope entwickelt.**

**PETRA LÜDIN<sup>1</sup>, GIANPAOLO RANDO<sup>2</sup>, BRIJ SAHI<sup>2</sup>.** Seit ein paar Jahren gibt es für Schweizer Käsesorten eine effektive Waffe gegen Fälschungen: die sogenannten Herkunftsnachweiskulturen, kurz HNK. Sie werden in Emmentaler AOP seit 2011, in Tête de Moine AOP seit 2013 und in Appenzeller<sup>®</sup> seit 2015 erfolgreich eingesetzt. Diese Spezialkulturen wurden von Agroscope, dem Kompetenzzentrum des Bundes für die Forschung in der Land- und Ernährungswirtschaft, im Auftrag der Branche entwickelt. Sie bestehen aus ausgewählten Bakterien-Stämmen, welche von den autorisierten Betrieben während der Käsefabrikation in die Kessmilch gegeben werden.

Diese speziellen Bakterien überstehen die gesamte Reifungsdauer, besitzen jedoch keine technologischen Eigenschaften und haben deshalb auch keine Auswirkungen auf die Käsequalität. Agroscope kennt deren Erbgut-Sequenzen und hat ein Nachweissystem dafür entwickelt.

Mittels einer sogenannten Polymerasenkettenreaktion (englisch: polymerase chain reaction, PCR) können diese Spezialkulturen im Käse nachgewiesen und dadurch zum Beispiel ein echter Emmentaler AOP von einem Imitat unterschieden werden. Der Nachweis ist für Käsestücke genauso wie für Reibkäse, Rosetten oder Fondue machbar.

## **Eine Stunde anstatt eine Woche**

Agroscope untersuchte in ihren Laboren seit der Einführung der ersten HNK gegen tausend Käseproben auf ihre Echtheit. Dazu wurden die Verdachtsproben von den Sortenorganisationen nach Bern-Liebefeld geschickt und innerhalb einer bis zwei Arbeitswochen analysiert. Um solche Resultate noch schneller zu erhalten, die ausserdem unabhängig von verfügbaren Ressourcen im Labor sind, wurde in den letzten Monaten an einer alternativen Analyseverfahren gearbeitet. Zusammen mit dem jungen und international preisgekrönten Start-Up SwissDeCode entwickelte Agroscope ein portables System, welches in weniger als einer Stunde und direkt

## Nouveau test rapide pour la détection des contrefaçons de fromages

**Simple et rapide: un nouveau système de détection des cultures de certification de l'origine est en préparation. Il a été développé par Agroscope en collaboration avec SwissDeCode, une start-up innovatrice.**

**PETRA LÜDIN<sup>1</sup>, GIANPAOLO RANDO<sup>2</sup>, BRIJ SAHI<sup>2</sup>.** Depuis quelques années, il existe une arme efficace pour lutter contre les contrefaçons en matière de fromage: les cultures pour la certification de l'origine, abrégées CCO. Elles sont utilisées avec succès dans l'Emmentaler AOP depuis 2011, la Tête de Moine AOP depuis 2013 et l'Appenzeller<sup>®</sup> depuis 2015. Ces cultures spéciales ont été développées par Agroscope, le centre de compétences de la Confédération pour la recherche agronomique et alimentaire, sur mandat de la filière. Elles sont composées de souches de bactéries choisies, qui sont ajoutées au lait de chaudière par les fromageries autorisées à produire ces spécialités.

Ces bactéries spéciales survivent à l'ensemble de la durée d'affinage mais ne possèdent

pas de propriétés technologiques et, pour cette raison, n'ont pas d'impact sur la qualité du fromage. Agroscope connaît leurs séquences génomiques et a développé un système capable de détecter des cultures spéciales dans le fromage à l'aide d'une réaction en chaîne de polymérase (en anglais polymerase chain reaction, PCR). Il est ainsi possible de différencier par exemple un authentique Emmentaler AOP d'une contrefaçon. Ce système de détection peut être utilisé pour les fromages sous toutes leurs formes (en morceaux, râpé ou en rosettes).

## **Une heure au lieu d'une semaine**

Depuis l'introduction des premières CCO, Agroscope a analysé près de mille échantillons de fromage envoyés par les interprofessions. Une

méthode d'analyse alternative a été développée ces derniers mois afin d'obtenir ces résultats encore plus rapidement et indépendamment des ressources disponibles au laboratoire. En collaboration avec SwissDeCode, Agroscope a développé un système mobile, qui fournit un résultat directement sur place en moins d'une heure. Baptisé DNAFoil, ce système est composé d'une petite boîte rouge avec un récipient pour la préparation des échantillons, d'un petit tube pour la réaction ainsi que d'une bandelette de test (photo 1). Pour l'analyse de l'échantillon, il suffit d'une surface de travail, d'eau très chaude et de quelques grammes de fromages. Le test n'a pas besoin d'être effectué par du personnel qualifié.

## **Premiers kits testés de manière approfondie**

SwissDeCode a déjà commencé à développer le système DNAFoil avant sa collaboration avec Agroscope. La jeune start-up de Renens (VD) a reconnu le potentiel d'un système mobile dans la lutte contre la fraude alimentaire et a commencé en 2016 à expérimenter de tels tests génétiques. Fin 2016, SwissDeCode s'est vu décerner le «MassChallenge Switzerland Gold Price». En 2017, le premier test génétique pour

vor Ort ein Resultat liefert. Das sogenannte DNAFoil besteht aus einer kleinen roten Box mit einem Behälter für die Probenaufbereitung, einem kleinen Röhrchen für die Reaktion sowie einem Teststreifen – analog einem Schwangerschaftstest (Bild 1). Zur Probenanalyse wird lediglich eine Arbeitsfläche und heisses Wasser benötigt und der Test muss nicht mehr von gelernten Laborfachkräften durchgeführt werden. Ein paar wenige Gramm Käse reichen aus, um die HNK nachzuweisen.

### Erste Kits eingehend geprüft

Das Start-Up SwissDeCode, das bereits vor der Zusammenarbeit mit Agroscope an dem DNA-Foil System gearbeitet hatte, konnte auch dank der finanziellen Unterstützung von Swiss Food Research für zwei Markerbakterien Test-Kits entwickeln, die anschliessend bei Agroscope eingehend getestet wurden. Nach knapp 60 Tests mit unterschiedlichen HNK-Konzentrationen, Käse mit ähnlichen Bakterien sowie Negativkontrollen konnte die Machbarkeit gezeigt werden (Bild 2). Der Nachweis der HNK mittels DNAFoil ist mit nur wenigen Handgriffen



Bild 1: Die Probenvorbereitung, Reaktion und Auswertung des Resultates auf dem Teststreifen sind ohne Laboreinrichtungen durchführbar.

Photo 1: La préparation des échantillons, la réaction et l'évaluation du résultat sur la bandelette de test sont réalisables sans infrastructure de laboratoire.

durchführbar und mindestens so empfindlich wie der quantitative Nachweis mit der Standard-PCR-Methode. Der Schnelltest bleibt jedoch qualitativ und eine Validierung wird

nicht angestrebt. Die Analyse sollte etwa um den Faktor 3 günstiger werden als die bisherige. Auch wenn nicht alles auf Anhieb perfekt funktionierte und der HNK-Nachweis mittels DNAFoil bis zur Marktreife noch weiter optimiert werden muss, konnte die Machbarkeitsstudie erfolgreich durchgeführt werden. Die neue analytische Möglichkeit steht somit der Branche zur Anwendung zur Verfügung. Dies eröffnet neue Perspektiven für die Bekämpfung von Käsefälschungen. Ob nun der Zöllner, Lebensmittelchemiker oder Angestellte der Sortenorganisationen Kontrollen durchführen, das Resultat ist direkt vor Ort, ohne Zeitverzögerung verfügbar und diskutierbar. Damit kann wertvolle Zeit gewonnen und sofort gehandelt werden. Die Härtefälle müssen aber weiterhin von Agroscope mittels qPCR im akkreditierten Labor bestätigt werden, damit das Resultat auch in einem Gerichtsfall akzeptiert würde.

<sup>1</sup>Agroscope, Schwarzenburgstr. 161, 3003 Bern; [www.agroscope.ch](http://www.agroscope.ch)

<sup>2</sup>SwissDeCode, Chemin du Crêt, 1279 Chavannes de Bogis; [www.swissdecode.com](http://www.swissdecode.com)



Photo 2: bandelettes de test avec résultat positif: les deux bactéries marqueuses ont pu être détectées (bandelette du haut). Bandelettes de test avec un résultat négatif: seule la bandelette de contrôle est visible. Aucune bactérie marqueuse n'a été détectée (bandelette du bas).

Bild 2: Teststreifen mit einem positiven Resultat: beide Markerbakterien konnten nachgewiesen werden (oben). Teststreifen mit einem negativen Resultat: nur die Kontroll-Bande ist sichtbar, kein Markerbakterium wurde nachgewiesen (unten).

la viande de porc a été commercialisé et, la même année, l'entreprise a été finaliste lors du concours organisé pendant la conférence «Connecting Bright Innovations» à Delft (NL).

Au début, Agroscope s'est montré prudent quant à la fiabilité d'un test aussi simple, considérant la structure fromagère complexe, salée et riche en graisses. Cependant, étant donné que l'importance pour la pratique était considérée comme élevée, Agroscope a décidé de procéder à une première phase d'évaluation. Grâce aussi au soutien financier de Swiss Food Research, SwissDeCode a réussi à développer deux kits de test de bactéries marqueuses.

### Les résultats confirment la faisabilité

Les premiers prototypes devaient encore être stockés sur de la glace mais l'extraction du patrimoine génétique (ADN) ainsi que la détection des deux bactéries a fonctionné. Lors d'une seconde étape, les kits ont été perfectionnés afin qu'ils se révèlent stables à température ambiante et puissent détecter les deux souches sur une seule bandelette de test. Après environ 60 tests réalisés à des concentrations de CCO différentes, des fromages avec les mêmes bactéries ainsi que des contrôles négatifs, sa faisabilité a pu être démontrée (photo 2). La détection de la CCO à l'aide du DNAFoil nécessite peu de manipulations et le test est aussi sensible qu'une détection quantitative avec la méthode PCR

classique. Le test rapide est uniquement qualitatif et une validation n'est pas visée. Le coût de l'analyse devrait être au moins 3 fois inférieur à celui de l'analyse actuelle.

Même si tout n'a pas fonctionné parfaitement du premier coup et que la détection de la CCO à l'aide du DNAFoil doit encore être améliorée jusqu'à sa commercialisation, l'étude de faisabilité a été couronnée de succès. La branche dispose ainsi d'une nouvelle possibilité d'analyse et cela ouvre de nouvelles perspectives pour la lutte contre les contrefaçons de fromages. Peu importe que les contrôles soient effectués par le douanier, le chimiste en denrées alimentaires ou des employés des interprofessions, le résultat est fourni directement sur place, sans perte de temps et il peut être débattu immédiatement. Cela permet de gagner un temps précieux et d'agir immédiatement. Toutefois, les cas de rigueur doivent continuer à être confirmés par Agroscope à l'aide d'une qPCR dans le laboratoire accrédité afin que le résultat soit aussi accepté lors d'une procédure judiciaire.

<sup>1</sup>Agroscope, Schwarzenburgstr. 161, 3003 Bern; [www.agroscope.ch](http://www.agroscope.ch)

<sup>2</sup>SwissDeCode, Chemin du Crêt, 1279 Chavannes de Bogis; [www.swissdecode.com](http://www.swissdecode.com)