

# **Lebensmittel-assoziierte Viren**

Tagungsband zum 2. BfR-Symposium am 12. Nov. 2012 in Berlin

## **Impressum**

Tagungsband

Lebensmittel-assoziierte Viren  
2. BfR-Symposium am 12. Nov. 2012

Bundesinstitut für Risikobewertung  
Pressestelle  
Max-Dohrn-Str. 8-10  
10589 Berlin

Berlin 2012  
25 Seiten

Druck: Druck, Inhalt und buchbinderische Verarbeitung  
BfR-Hausdruckerei

**€ 5,-**

**Inhalt**

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Arbeitsgruppe Lebensmittelassoziierte Viren (ALV)</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>Programm</b>	<b>9</b>
<b>4</b>	<b>Abstracts</b>	<b>11</b>
4.1	Noroviren – Überblick und aktuelle Situation in Deutschland	11
4.2	An viralen Krankheitsausbrüchen beteiligte Lebensmittel	12
4.3	Nachweis von Noroviren mittels teilautomatisierter Präparation und Real-Time RT-PCR aus Umgebungsproben bei Gruppenerkrankungen	13
4.4	Hohe Hepatitis E-Virus-Antikörperprävalenz in der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland	14
4.5	Wanderratten: Überträger eines humanpathogenen Hepatitis E-Virus?	15
4.6	Identifikation einer aviären Rotavirus-Reassortante mit einem mutmaßlichen Säuger-Rotavirus VP4-Gen	16
4.7	Entwicklung von amtlichen Methoden nach § 64 LFGB zum Nachweis von Viren von Lebensmitteln	17
4.8	Produktion rekombinanter Proteine in <i>Leishmania tarentolae</i> : Eine neue Expressionsstrategie für Hepatitis E-Virus-Antigene	18
4.9	Entwicklung und Anwendung von Real-Time RT-PCR-Assays zum Nachweis von potentiell zoonotischen Viren in den Fäzes von Schweinen	19
4.10	Simultane Identifikation von DNA- und RNA-Viren in Fäzes von Schweinen mittels Deep Sequencing	20
4.11	Desinfektion von Viren im Lebensmittelbereich	21
4.12	Einfluss nichtthermischer Verfahren der Lebensmittelkonservierung auf die Infektiosität potentieller Norovirus-Surrogate	22
4.13	Untersuchungen zur Wirkung ausgewählter Lebensmittelinhaltsstoffe auf die Hitzestabilität von Norovirus-Surrogaten	23
4.14	Tenazität von humanem Norovirus und den Surrogatviren felines Calicivirus und murines Norovirus auf unterschiedlichen Werkstoffen von Bedarfsgegenständen in der Lebensmittelproduktion und -verarbeitung	24
4.15	Experimentelle Kontamination und Persistenz von Noroviren, felinen Caliciviren und Rotaviren in Miesmuscheln ( <i>Mytilus edulis</i> )	25



## 1 Einleitung

Willkommen zum Symposium „Lebensmittel-assoziierte Viren“!

Wir freuen uns sehr, Sie zum zweiten Symposium „Lebensmittel-assoziierte Viren“ hier in Berlin begrüßen zu dürfen. Das Symposium stellt eine direkte Weiterführung des im Jahr 2009 durchgeführten ersten Symposiums dar. Nachdem wir damals für das relativ neue Fachgebiet der über Lebensmittel übertragbaren Viren eine eigene Plattform zum Wissensaustausch geschaffen hatten und eine erste Standortbestimmung für den deutschsprachigen Raum versucht hatten, möchten wir nun die weitere Entwicklung dieses jungen Forschungsfeldes verfolgen. Gleichzeitig soll das Symposium weitere Impulse für die Vernetzung der Forschung auf diesem Gebiet setzen sowie die sich aus den wissenschaftlichen Ergebnissen ergebenden Konsequenzen für die lebensmittelhygienische Praxis beleuchten.

Viren, die über Lebensmittel übertragen werden können, nehmen nach wie vor einen wichtigen Stellenwert im gesundheitlichen Verbraucherschutz ein. Der jüngste Erkrankungsausbruch mit über 11.000 Erkrankten in Deutschland durch Norovirus-kontaminierte Tiefkühl-Erdbeeren hat in beeindruckender Weise gezeigt, welche gravierenden Auswirkungen Virus-kontaminationen von Lebensmitteln haben können. Insgesamt sind die in Deutschland gemeldeten Erkrankungszahlen durch Noro- und Rotavirusinfektionen nach wie vor sehr hoch und neue Erkenntnisse zu deren Übertragungswegen, Tenazität und Inaktivierung werden dringend benötigt. Auch die Meldungen von Erkrankungen durch das bisher nur wenig untersuchte zoonotische Hepatitis E-Virus nehmen stetig zu. Durch die Ausweitung des globalen Lebensmittelhandels steigt die Gefahr, dass einerseits wegen unterschiedlicher Hygienestandards bei der Produktion häufiger Kontaminationen mit den typischen Lebensmittel-assoziierten Viren auftreten. Andererseits muss hierdurch auch mit Viren gerechnet werden, die in Deutschland bisher nur eine untergeordnete Rolle bei Lebensmittel-Kontaminationen spielen.

Im Programm des Symposiums sind Übersichtsvorträge zu Noroviren und zu häufig an Virus-bedingten Krankheitsausbrüchen beteiligten Lebensmitteln vorangestellt, um zunächst die aktuelle Situation sowohl weltweit als auch in Deutschland aufzuzeigen. Weitere Übersichtsreferate thematisieren den Stand der Entwicklung von amtlichen Nachweismethoden für Viren in Lebensmitteln sowie von Standards zur Testung von Desinfektionsmitteln für Viren im Lebensmittelbereich. Die drei wissenschaftlichen Sessions behandeln in aktuellen Kurzvorträgen Themen zur Epidemiologie, Diagnostik und Inaktivierung Lebensmittel-assoziiierter Viren. Wir hoffen, mit diesem Programm sowohl Interessierte aus wissenschaftlichen Einrichtungen als auch aus Untersuchungsämtern und Überwachungsbehörden ansprechen zu können und damit die wichtigsten Aspekte Lebensmittel-assoziiierter Virusinfektionen zu behandeln.

Wir wünschen Ihnen einen schönen Aufenthalt in Berlin, ein interessantes Symposium und angeregte Gespräche mit den Kollegen,  
herzliche Grüße

Reimar Johne  
(Tagungsleiter)



## 2 Arbeitsgruppe Lebensmittelassoziierte Viren (ALV)

Die „Arbeitsgruppe Lebensmittelassoziierte Viren“ (ALV) wurde vor nunmehr zehn Jahren gegründet. Aufgrund der internationalen Aktivitäten wurde die Notwendigkeit erkannt, sich auch auf nationaler Ebene mit Themen rund um den Nachweis, die Überdauerungsfähigkeit und Inaktivierung von Viren in Lebensmitteln zu beschäftigen. Das Thema „Virusübertragung durch Lebensmittel“ hat in den vergangenen Jahren zunehmend Bedeutung erlangt und somit ist die ALV auch weiterhin aktiv. Im Laufe der vergangenen Jahre traf sich die Gruppe regelmäßig zu eintägigen Fachgesprächen, in denen u.a. Themen wie der Nachweis von Norovirus und Hepatitis A-Virus in verschiedenen Lebensmittelmatizes, die Bedeutung von Astro- und Rotaviren in Lebensmitteln, die Durchführung von Ringversuchen sowie die Ausrichtung von Workshops besprochen wurden. Beginnend mit dem Jahr 2007 wurde eine Norovirus-Probenbank (Standort: BfR) aufgebaut, in der Noroviren aus Ausbruchsgeschehen in Deutschland gesammelt werden. Regelmäßig richtete die ALV an der Hochschule Ostwestfalen-Lippe Workshops zum Nachweis von Norovirus in Lebensmitteln und Umgebungsproben für Interessierte aus Forschungseinrichtungen, Industrie und Dienstleistungslaboratorien aus. Der letzte Workshop fand 2011 statt. Mitglieder der ALV sind in nationalen Gremien wie die § 64 LFGB-Arbeitsgruppe „Viren in Lebensmitteln“ oder dem DIN-Arbeitskreis „Viren“ sowie im europäischen Gremien „Viruses in foods CEN/WG6/TC275/TAG4“ vertreten.

Die Virusübertragung durch Lebensmittel wurde in zahlreichen Publikationen in den vergangenen Jahrzehnten beschrieben. Dennoch ist die Frage unbeantwortet, wie bedeutend dieser Übertragungsweg ist. Unumstritten ist jedoch, dass wir zuverlässige Verfahren zum Nachweis von Viren in Lebensmitteln entwickeln und umfassende Erkenntnisse zur Überdauerung und Inaktivierung von Viren in der Lebensmittelproduktion und -verarbeitung gewinnen müssen. Auch die Frage der Überdauerungsfähigkeit von z.B. Norovirus auf Maschinen und Einrichtungen in der Lebensmittelproduktion oder in Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen ist trotz zahlreicher Publikationen noch nicht befriedigend zu beantworten. Des Weiteren sind viele Fragen zur wirkungsvollen Desinfektion von Händen und Einrichtungen in Hinblick auf eine zuverlässige Inaktivierung von Norovirus, begleitet von der Frage: „Wie zuverlässig sind Surrogat-Studien mit FCV und MNV?“, nicht umfassend beantwortet. Ihren Beitrag bei diesen und vielen anderen Fragen rund um „foodborne viruses“ zu leisten, ist auch weiterhin das Ziel der ALV.

Barbara Becker

**Veranstalter:**

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

**Wissenschaftliche Organisation:**

Arbeitsgruppe Lebensmittelassoziierte Viren



Tagungsleitung: Reimar Johne

**Termin und Ort der Veranstaltung:**

12. November 2012  
10:00–17:30 Uhr

Bundesinstitut für Risikobewertung  
Standort Marienfelde  
Haus 3, Hörsaal  
Diedersdorfer Weg 1  
12277 Berlin

### 3 Programm

10:00 Uhr Begrüßung  
Andreas Hensel, Präsident des Bundesinstituts für Risikobewertung,  
Reimar Johné, Bundesinstitut für Risikobewertung

10:15 Uhr Noroviren – Überblick und aktuelle Situation in Deutschland  
Marina Höhne, Robert Koch-Institut

10:45–11:15 Uhr Kaffeepause

#### Session I – Epidemiologie und Ausbruchsuntersuchungen

**Chairman: Klaus Stark, Robert Koch-Institut**

11:15 Uhr An viralen Krankheitsausbrüchen beteiligte Lebensmittel  
Heidi Wichmann-Schauer et al., Bundesinstitut für Risikobewertung

11:45 Uhr Nachweis von Noroviren mittels teilautomatisierter Präparation und Real-Time RT-PCR aus Umgebungsproben bei Gruppenerkrankungen  
Ulrich Schotte et al., Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr

12:00 Uhr Hohe Hepatitis E-Virus-Antikörperprävalenz in der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland  
Mirko S. Faber et al., Robert Koch-Institut

12:15 Uhr Wanderratten: Überträger eines humanpathogenen Hepatitis E-Virus?  
Rainer G. Ulrich et al., Friedrich-Loeffler-Institut

12:30 Uhr Identifikation einer aviären Rotavirus-Reassortante mit einem mutmaßlichen Säuger-Rotavirus VP4-Gen  
Eva Trojnar et al., Bundesinstitut für Risikobewertung

12:45–13:45 Uhr Mittagspause

#### Session II – Nachweismethoden und Typisierung

**Chairman: Rainer G. Ulrich, Friedrich-Loeffler-Institut**

13:45 Uhr Entwicklung von amtlichen Methoden nach § 64 LFGB zum Nachweis von Viren in Lebensmitteln  
Dietrich Mäde, Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt

14:15 Uhr Produktion rekombinanter Proteine in *Leishmania tarentolae*: Eine neue Expressionsstrategie für Hepatitis E-Virus-Antigene  
Christine Bächlein et al., Tierärztliche Hochschule Hannover

14:35 Uhr Entwicklung und Anwendung von Real-Time RT-PCR Assays zum Nachweis von potentiell zoonotischen Viren in den Fäzes von Schweinen  
Patrycja Machnowska et al., Bundesinstitut für Risikobewertung

14:55 Uhr Simultane Identifikation von DNA- und RNA-Viren in Fäzes von Schweinen mittels Deep Sequencing  
Jana Sachsenröder et al., Bundesinstitut für Risikobewertung

15:15–15:45 Uhr Kaffeepause

**Session III – Tenazität, Inaktivierung und Desinfektion****Chairwoman: Barbara Becker, Hochschule Ostwestfalen-Lippe**

- 15:45 Uhr Desinfektion von Viren im Lebensmittelbereich  
Uwe Truyen et al., Universität Leipzig
- 16:15 Uhr Einfluss nichtthermischer Verfahren der Lebensmittelkonservierung auf die Infektiosität potentieller Norovirus-Surrogate  
Thiemo Albert et al., Universität Leipzig
- 16:30 Uhr Untersuchungen zur Wirkung ausgewählter Lebensmittelinhaltsstoffe auf die Hitzestabilität von Norovirus-Surrogaten  
Christina Jarke et al., Universität Leipzig
- 16:45 Uhr Tenazität von humanem Norovirus und den Surrogatviren felines Calicivirus und murines Norovirus auf unterschiedlichen Werkstoffen von Bedarfsgegenständen in der Lebensmittelproduktion und -verarbeitung  
Sascha Mormann, Hochschule Ostwestfalen-Lippe
- 17:00 Uhr Experimentelle Kontamination und Persistenz von Noroviren, felinen Caliciviren und Rotaviren in Miesmuscheln (*Mytilus edulis*)  
Reimar Johne, Bundesinstitut für Risikobewertung
- 17:15 Uhr Schlussworte  
Reimar Johne, Bundesinstitut für Risikobewertung

## 4 Abstracts

### 4.1 Noroviren – Überblick und aktuelle Situation in Deutschland

Marina Höhne  
Robert Koch-Institut, Konsiliarlabor für Noroviren, Berlin  
E-Mail: hoehnem@rki.de

Noroviren sind weltweit die häufigste Ursache für akute Gastroenteritiden in allen Altersgruppen. Infektionen treten das ganze Jahr hindurch auf, sind aber in den Monaten November bis März besonders häufig. Obwohl in den entwickelten Ländern die Erkrankungen überwiegend moderat verlaufen, stellen sie eine große ökonomische und gesundheitspolitische Herausforderung dar. Surveillance und Ausbruchsuntersuchungen sind wichtige Voraussetzungen, um bessere Kenntnisse über Prävalenz, Transmissionswege und Risikofaktoren von Norovirusinfektionen zu erhalten sowie wirksamere Maßnahmen zur Verringerung ihrer Ausbreitung zu entwickeln. Molekulare Techniken haben wesentlich zur Verbesserung der Diagnostik, sowie zu einem besseren Verständnis der Diversität zirkulierender Noroviren und dem Auftauchen neuer Genotypen und Varianten beigetragen.

Laborbestätigte Norovirusinfektionen und Ausbrüche sind in Deutschland meldepflichtig. Zwischen 2001 und 2011 wurden stark ansteigende Zahlen an Norovirus-bedingten Infektionen an das Robert Koch-Institut gemeldet (2001: 4.178; 2010: 145.221). Damit sind Noroviren die derzeit am häufigsten gemeldeten Infektionserreger in Deutschland. Auf der Grundlage der Meldedaten nach IfSG wurde eine mittlere saisonale Inzidenz von 130 je 100.000 Einwohner sowie die mittleren saisonalen Hospitalisierungs- und Mortalitätsraten ermittelt. Die meisten Ausbrüche wurden in Krankenhäusern (19 %), Alten- und Pflegeheimen (17 %), privaten Haushalten (13 %) und Kindereinrichtungen (6 %) gemeldet.

Im Konsiliarlabor für Noroviren wurden zwischen 2001 und 2012 Proben aus 933 Norovirus Ausbrüchen mittels molekularer Methoden untersucht und die wechselnde Zirkulation von Genotypen der Genogruppen I und II sowie das Auftauchen neuer Driftvarianten und rekombinanter Viren erfasst. Zwischen 80 und 95 % aller untersuchten Ausbrüche wurden durch Viren der Genogruppe II verursacht, wobei verschiedene Driftvarianten des Genotyps II.4 besonders in hochepidemischen Wintersaisons dominierten. Dieser Genotyp wurde besonders häufig bei Ausbrüchen in Alten- und Pflegeheimen sowie in Krankenhäusern (82–85 %), jedoch nur bei ca. einem Drittel der untersuchten Ausbrüche aus Kindereinrichtungen nachgewiesen.

Der Vortrag wird einen Überblick über epidemiologische Daten zur Norovirusinfektion in Deutschland zwischen 2001 und 2010 sowie auch zur molekularen Charakteristik der Viren über die vergangenen zwölf Norovirus-saisons geben.

## 4.2 An viralen Krankheitsausbrüchen beteiligte Lebensmittel

Heidi Wichmann-Schauer und Almut Niederberger  
Bundesinstitut für Risikobewertung, Abteilung Biologische Sicherheit, Berlin  
E-Mail: 44@bfr.bund.de

Viren gelangen über fäkale Kontamination in Lebensmittel, können sich dort aber nicht vermehren. Insbesondere bei kühlen Lagerbedingungen können sie lange Zeit infektiös bleiben. Meist sind bereits wenige Viruspartikel ausreichend, um eine Erkrankung auszulösen.

Im Zeitraum 2005 bis 2010 wurden insgesamt 4.106 (12,5 %) der an die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) berichteten lebensmittelbedingten Ausbrüche durch Viren verursacht. Diese Ausbrüche wurden überwiegend durch Noroviren ausgelöst. Doch nur etwa 10 % dieser Ausbrüche ließen sich durch mikrobiologische und/oder epidemiologische Untersuchungen bestätigen und wurden mit detaillierten Informationen zum ursächlichen Lebensmittel an die EFSA übermittelt.

Gemäß Berichten der EFSA über lebensmittelbedingte Ausbrüche der Jahre 2007 bis 2010 wurden Norovirus-Ausbrüche in Europa häufig durch den Verzehr von zusammengesetzten Lebensmitteln und Buffetspeisen verursacht (22,4 % der bestätigten Ausbrüche). Noroviren wurden ebenfalls häufig durch Obst und Gemüse übertragen (28,3 % der bestätigten Ausbrüche). Der Verzehr von Krusten- und Schalentieren stand in Zusammenhang mit 17,7 % der bestätigten Ausbruchsgeschehen durch Noroviren. 4,6 % der 2007 bis 2010 als bestätigt an die EFSA berichteten Norovirus-Ausbrüche wurden auf kontaminierte Fleisch-, Milch- und Eiprodukte zurückgeführt. Vereinzelt wurden auch durch andere Viren verursachte Ausbrüche aufgeklärt. Im Herbst 2011 kam es in Ungarn zu einem Ausbruch von Frühsommermeningoenzephalitis (FSME), der auf den Verzehr von Rohmilch zurückgeführt wurde.

Über mit Viren kontaminierte Lebensmittel und virale Ausbruchsgeschehen wird auch im europäischen Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel (RASFF) berichtet. Noroviren wurden demnach zwischen Juni 2010 und Mai 2012 öfter in rohen Austern und gefrorenen Himbeeren gefunden. Zwei Meldungen betrafen Nachweise von Hepatitis A-Viren in Datteln.

Auf der Grundlage der AVV Zoonosen Lebensmittelkette übermitteln Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsbehörden der Länder Daten zu an Ausbrüchen beteiligten Lebensmitteln an das BfR. Beispielhaft werden einzelne dieser an das BfR berichteten Ausbrüche durch Viren im Vortrag kurz vorgestellt.

#### **4.3 Nachweis von Noroviren mittels teilautomatisierter Präparation und Real-Time RT-PCR aus Umgebungsproben bei Gruppenerkrankungen**

Ulrich Schotte, Henrik Tandler, Wolfgang Pöllein, Silke Ruhl, Sabine Taise, Alex Schreitel, Norbert Langfeldt, Alfred Binder  
Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel, Abteilung II –Veterinärmedizin –,  
Kopperpahler Allee 120, 24119 Kronshagen  
E-Mail:UlrichSchotte@bundeswehr.org

Noroviren sind in der jüngsten Vergangenheit die wesentlichste Ursache für humane Gruppenerkrankungen mit gastrointestinaler Symptomatik. Ursächlich sind neben Schmierinfektionen kontaminierte Lebensmittel, wobei je nach verursachendem Genotyp die Übertragungswege unterschiedlich häufig auftreten. Am Zentralen Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel wurden in den Jahren 2010 und 2011 von zwölf Gruppenerkrankungen in elf Fällen neben Stuhlproben auch Umgebungsproben und teilweise Lebensmittel (n = 952 Proben) auf Kontamination mit Noroviren mittels Tupferproben untersucht. Bei sieben Gruppenerkrankungen (63,6 %) wurden Noroviren der Genogruppe II als ursächlich nachgewiesen, in einem Fall (9,1 %) Norovirus Genogruppe I. In sieben von acht Norovirus-bedingten Fällen (87,5 %) wurden nicht nur aus den Stuhlproben der Erkrankten Noroviren nachgewiesen, sondern auch aus der Umgebung der Patientenbereiche. Die Untersuchungen aus Umgebungstupfern der Produktionsbereiche oder von Lebensmitteln der Truppenküchen verliefen negativ. Die Durchführung von Umgebungsuntersuchungen eröffnet somit insbesondere bei Fehlen von Patientenproben wertvolle Hinweise zur Ursachenfindung und zur Ermittlung kontaminierter Bereiche.

Zudem konnten durch den Einsatz der teilautomatisierten Verfahren zeitnah im Zuge der Ausbruchsbekämpfung Befunde erhoben werden, die die Effektivität der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen prüfen. Im Zuge eines Noroviren-Ausbruchs in einem Krankenhaus konnten damit Maßnahmen zur Verhinderung der weiteren Übertragung effektiv begleitet werden.

Erste Untersuchungen aus dem Auslandseinsatz und aus anderen einsendenden Bundeswehr-Instituten zeigen eine ausreichende Stabilität der Proben für den gekühlten Versand, sodass diese Diagnostik auch unter schwierigen Umgebungsbedingungen einsetzbar ist.

#### 4.4 Hohe Hepatitis E-Virus-Antikörperprävalenz in der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland

Mirko S. Faber<sup>1</sup>, Jürgen Wenzel<sup>2</sup>, Wolfgang Jilg<sup>2</sup>, Michael Thamm<sup>3</sup>, Michael Höhle<sup>1</sup>, Klaus Stark<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Robert Koch-Institut, Abt. für Infektionsepidemiologie, Berlin

<sup>2</sup>Universität Regensburg, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Regensburg

<sup>3</sup>Robert Koch-Institut, Abt. für Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung, Berlin

E-Mail: starkk@rki.de

Seit einigen Jahren spielen in industrialisierten Ländern autochthone Hepatitis E-Virus-(HEV-)Infektionen (Genotyp 3) eine zunehmende Rolle. Epidemiologische und molekulare Untersuchungen verweisen auf unzureichend gegarte Wildschwein- und Schweinefleischprodukte als Risikolebensmittel. In Deutschland haben die jährlich gemeldeten Hepatitis E-Erkrankungsfälle von <50 in 2001–2003 auf 238 in 2011 zugenommen. Der Anteil der autochthonen Fälle stieg auf 78 % (2011). Die Infektionslast in der Gesamtbevölkerung ist unbekannt. In dieser Studie untersuchten wir die Prävalenz und Determinanten des HEV-Antikörper-Nachweises in der Erwachsenenbevölkerung.

Es handelt sich um eine größere Teilstichprobe (n = 4.352) aus dem repräsentativen Deutschen Erwachsenen-Gesundheitssurvey (Gesamtstichprobe n = 7.116, 108 über Deutschland verteilte Gemeinden, Alter 18–79 Jahre.). Die Seren wurden mit dem recomLine HEV-IgG/IgM-Immunoassay (Mikrogen, Neuried) auf HEV-IgG getestet. Der Test weist eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität auf, auch für Antikörper gegen Genotyp 3. Die Stichprobe wurde poststratifiziert, damit sie der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland bezüglich Alter, Geschlecht und geografischer Verteilung entspricht. Die gewichteten Seroprävalenzen wurden mittels logistischer Regression berechnet. Die jährliche HEV-Seroinzidenz schätzten wir basierend auf den Seroprävalenzdaten in einem katalytischen Modell.

Die gewichtete Seroprävalenz betrug 16,8 % (95 % Konfidenzintervall 15,6–17,9 %). Sie stieg signifikant mit dem Alter an, von 6,1 % (95 % KI 4,5–7,8 %) in der Altersgruppe 18–34 Jahre auf >20 % bei >50-Jährigen. Die Altersgruppe 60–64 Jahre wies die höchste Seroprävalenz auf (26,4 %, 95 % KI 21,6–31,1 %). Kein Zusammenhang zeigte sich bezüglich Geschlecht, geografischer Region (Norden/Mitte/Süden) oder Gemeindegröße. Das katalytische Modell ergab eine geschätzte jährliche HEV-Inzidenz von 3,9 (3,6–4,2) pro 1.000 Einwohner.

HEV-Infektionen in Deutschland sind häufig. Die Meldedaten erfassen die Neuinfektionen nur zu einem sehr geringen Teil. Dies liegt zum Teil an der hohen Anzahl von milden oder asymptomatischen Infektionen, aber auch an der diagnostischen Untererfassung. Die hohe, mit dem Alter zunehmende Seroprävalenz ist ein Ausdruck der Lebenszeit-Exposition. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass ein großer Anteil der Infektionen lebensmittelbedingt ist. Dies ist konsistent mit den beobachteten hohen HEV-Prävalenzen bei Schweinen und Wildschweinen. Welche Lebensmittel konkret mit einem erhöhten Infektionsrisiko assoziiert sind, ist Gegenstand weiterer Studien.

#### 4.5 Wanderratten: Überträger eines humanpathogenen Hepatitis E-Virus?

Rainer G. Ulrich<sup>1</sup>, Paul Dremsek<sup>1</sup>, Eveline Kindler<sup>2</sup>, Anika Schielke<sup>3, 4</sup>, Jochen Reetz<sup>4</sup>, Anita Plenge-Bönig<sup>5</sup>, Henrike Gregersen<sup>6</sup>, Wolfram Rietschel<sup>6</sup>, Martin H. Groschup<sup>1</sup>, Sebastian Guenther<sup>7</sup>, Gerald Heckel<sup>8, 9</sup> und Reimar Johné<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger, Greifswald-Insel Riems

<sup>2</sup>Institut für Immunbiologie, Kantonshospital St. Gallen, St. Gallen, Schweiz

<sup>3</sup>Robert Koch-Institut, Berlin

<sup>4</sup>Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

<sup>5</sup>Insitut für Hygiene und Umwelt, Hamburg

<sup>6</sup>Wilhelma, Zoologisch-Botanischer Garten Stuttgart, Stuttgart

<sup>7</sup>Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Freie Universität, Berlin

<sup>8</sup>Universität Bern, Institut für Ökologie und Evolution, Bern, Schweiz

<sup>9</sup>Swiss Institute of Bioinformatics, Genopode, Lausanne, Schweiz

E-Mail: rainer.ulrich@fli.bund.de

Das Hepatitis E-Virus (HEV) verursacht eine akute Leberentzündung und wird bei autochthonen Fällen in Europa von den Reservoirwirten Wildschwein und Hausschwein auf den Menschen übertragen. Ausgangspunkte für unsere Suche nach einem HEV bei der Wanderratte (*Rattus norvegicus*) waren zwei Befunde: (i) HEV-reaktive Antikörper sind zum Teil mit großer Prävalenz bei Wanderratten und anderen Rattenarten in Indien, Japan und den USA nachgewiesen worden, wohingegen kein Virusgenom detektiert werden konnte. (ii) Untersuchungen bei Personen aus industrialisierten Ländern haben Antikörperprävalenzen von bis zu 20 % gezeigt, während die Zahl der gemeldeten Hepatitis E-Erkrankungen vergleichsweise sehr niedrig ist. Eine Erklärungsmöglichkeit für diese Befunde könnte die Existenz eines bisher unbekanntes HEV sein, das mit den bisher bekannten nur gering verwandt ist, aber eine kreuzreaktive Antikörperantwort hervorruft.

Die Entwicklung einer neuen Breitspektrum-PCR-Methode führte zum erstmaligen Nachweis eines neuen HEV in Kotproben von Wanderratten aus Hamburg. Anschließend Untersuchungen von Leberproben führten zur Identifikation des kompletten Genoms dieses Virus, das eine HEV-typische Organisation aufweist. Ein Vergleich der Genomsequenzen dieses Virus mit denen von humanpathogenen und aviären HEV-Stämmen zeigte jedoch große Unterschiede. Deshalb wurde das neue Virus von uns als ein neuer Genotyp klassifiziert. In weiterführenden Untersuchungen wurde das Virus inzwischen in Wanderratten aus Berlin, Stuttgart und Esslingen nachgewiesen. Gegenwärtig werden Wanderratten aus anderen Großstädten Europas untersucht; die aktuellen Ergebnisse aus diesen Untersuchungen werden vorgestellt.

Die molekularepidemiologischen Untersuchungen sollen fortgesetzt werden, um einerseits den Übertragungsmechanismus des Virus aufzuklären und andererseits dessen geografische Verbreitung und molekulare Evolution genauer zu erfassen. Zukünftige Untersuchungen sollen prüfen, inwieweit dieses Virus auch Infektionen und Erkrankungen beim Menschen hervorruft. Eine erste serologische Studie zeigte bei einigen Waldarbeitern aus Brandenburg Ratten-HEV-reaktive Antikörper.

#### 4.6 Identifikation einer aviären Rotavirus-Reassortante mit einem mutmaßlichen Säuger-Rotavirus VP4-Gen

Eva Trojnar<sup>1,2</sup>, Jana Sachsenröder<sup>1,2</sup>, Sven Twardziok<sup>3</sup>, Jochen Reetz<sup>1</sup>, Peter H. Otto<sup>4</sup> und Reimar Johne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

<sup>2</sup>Freie Universität Berlin, Berlin

<sup>3</sup>Institut für Molekularbiologie und Bioinformatik, Charite, Berlin

<sup>4</sup>Friedrich Loeffler Institut, Institut für Bakterielle Infektionen und Zoonosen, Jena

E-Mail: Eva.Trojnar@bfr.bund.de

Rotaviren gehören sowohl bei Menschen als auch bei zahlreichen Säugern und Vögeln zu den Haupterregern von Magen-Darm-Erkrankungen. Bei Kleinkindern können schwere Krankheitsverläufe auftreten, die eine stationäre Behandlung nötig machen. Die Viren werden auf fäkal-oralem Weg entweder durch direkten Kontakt oder indirekt über verunreinigtes Trinkwasser und kontaminierte Lebensmittel übertragen. In den letzten Jahren mehrten sich die Hinweise, dass Rotaviren wechselseitig zwischen Säugetieren und Menschen übertragen werden können. Aus solchen Übertragungen können über den Prozess des Reassortments auch neue Virus-Typen entstehen, die sich nachfolgend ausbreiten.

Über das zoonotische Potential von Rotaviren des Geflügels gibt es nur wenige Daten. Frühere Sequenzanalysen zeigten, dass die aviären Rotaviren nur wenig mit den Säuger-Rotaviren verwandt sind. Allerdings gibt es vereinzelte Berichte über Infektionen von Kälbern mit aviären Rotaviren sowie von Hühnern und Puten mit Rinder-Rotaviren. In der vorliegenden Arbeit wurden die Genome von Rotaviren einer Pute und eines Fasans vollständig sequenziert. Hierfür wurde eine neue Methode mittels Deep-Sequencing-Techniken etabliert, die eine schnelle und umfassende Charakterisierung der Stämme ermöglicht. Der Rotavirus-Stamm 03V0002E10 aus einer Pute erwies sich hierbei als ein typischer Vertreter der aviären Rotaviren. Der Stamm 10V0112H5 aus einem Fasan besaß zehn typisch aviäre Rotavirus-Gene, während sein VP4-Gen (codiert für ein Oberflächen-Kapsidprotein) überraschenderweise denen der Säuger-Rotaviren ähnelte.

Die Befunde weisen darauf hin, dass es sich bei dem Fasanen-Rotavirus erstmals um eine Reassortante zwischen Vogel- und Säuger-Rotaviren handelt. Da sich Reassortanten nur dann bilden können, wenn sich die zwei Elternviren gleichzeitig im selben Wirt vermehren, würde dies für eine wechselseitige Übertragbarkeit und damit für ein zoonotisches Potential der aviären Rotaviren sprechen. Ob es sich bei dem Befund um einen Einzelfall handelt und ob aviäre Rotaviren bzw. Rotavirus-Reassortanten auch Menschen infizieren können, ist derzeit unklar und sollte weiter untersucht werden.

#### **4.7 Entwicklung von amtlichen Methoden nach § 64 LFGB zum Nachweis von Viren von Lebensmitteln**

Dietrich Mäde

Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, Fachbereich Lebensmittelsicherheit, Halle  
E-Mail: dietrich.maede@lav.ms.sachsen-anhalt.de

Neben der Übertragung von Mensch zu Mensch gelangten die lebensmittelassoziierten Virusinfektionen Ende des vergangenen Jahrzehnts zunehmend in den Fokus. Mit der erheblich zunehmenden Zahl der gemeldeten Noroviruserkrankungen erwuchs die Notwendigkeit, aus den zahlreichen publizierten Nachweismethoden die für die Lebensmittelanalytik geeigneten Verfahren auszuwählen und in der Folge als amtliche Methoden zu standardisieren.

Die Vielzahl der in die Übertragung von Viren möglicherweise einbezogenen Lebensmittelkategorien bedingte den modularen Aufbau der Nachweismethoden. In einem ersten Modul werden die Verfahren zur Viruskonzentration und Nukleinsäureextraktion beschrieben, das zweite Modul umfasst die molekularen Nachweisverfahren. Auf dieser Grundlage wurde die weltweit erste Methode zum qualitativen Nachweis von Noroviren auf Lebensmitteln mit glatten festen Oberflächen mittels Real-Time RT-PCR, die sogenannte Tupfermethode, erfolgreich im Ringversuch geprüft und in der Amtlichen Sammlung nach § 64 LFGB unter der Nummer L 00.00-112 veröffentlicht. Die Arbeitsgruppe blieb aktiv und es folgten Methoden zum qualitativen Nachweis von Noroviren in angesäuerten Milchprodukten (L 02.00-35), von Rotaviren in angesäuerten Milchprodukten mittels (L 02.00-36) sowie von Noroviren in geriebenen Möhren (L 25.04.01-1). Durch den modularen Aufbau stehen validierte Verfahren zur Aufbereitung von drei verschiedenen Lebensmittelkategorien und zum molekularen Nachweis von zwei der wichtigsten humanen viralen Durchfallerreger zur Verfügung. Derzeit werden in der § 64-Arbeitsgruppe Verfahren für weitere Lebensmittel (Hackfleisch) und für weitere Erreger (u. a. HEV) entwickelt.

In der internationalen Standardisierung ist eine Arbeitsgruppe des CEN für die Entwicklung lebensmittelvirologischer Verfahren aktiv. Der abgestimmte Entwurf einer technischen Spezifikation zum Nachweis von NoV und HAV in Lebensmitteln liegt vor und wird 2013 in einem Ringversuch geprüft. Auch in dem Entwurf für die CEN/TS 15216 werden dem modularen Aufbau folgend verschiedene Verfahren zur Aufbereitung von Lebensmitteln beschrieben, die in einheitliche molekulare Nachweisverfahren münden. Die nationale Tupfermethode nach § 64 LFGB ist ein Bestandteil der europäischen CEN/TS.

#### 4.8 Produktion rekombinanter Proteine in *Leishmania tarentolae*: Eine neue Expressionsstrategie für Hepatitis E-Virus-Antigene

Christine Bächlein<sup>1</sup>, Claudia Engemann<sup>2</sup>, Diana Meemken<sup>3</sup>, Thomas Blaha<sup>4</sup> und Beatrice Grummer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Virologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover

<sup>2</sup>Labor Diagnostik Leipzig GmbH, Leipzig

<sup>3</sup>Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit, Tierärztliche Hochschule Hannover

<sup>4</sup>Außenstelle für Epidemiologie Bakum, Tierärztliche Hochschule Hannover

E-Mail: christine.baechlein@tiho-hannover.de

Die Hepatitis E des Menschen ist eine akut verlaufende Infektionskrankheit, die jedoch bei immunsupprimierten, organtransplantierten Patienten einen chronischen Verlauf nehmen kann. Untersuchungen der letzten Jahre zeigen, dass das Virus in der deutschen Hauschweinepopulation endemisch ist und möglicherweise durch den Verzehr ungegarter Produkte vom Schwein übertragen wird. Um das Risiko von Infektionen, die entweder durch Lebensmittel oder durch direkten Tierkontakt verursacht werden, möglichst gering zu halten, ist die Identifizierung und Überwachung von HEV-positiven Schweinebeständen mittels Serologie unerlässlich.

Die meisten der momentan angewandten Testsysteme beruhen auf bakteriell exprimierten HEV-Antigenen. Problematisch dabei sind einerseits fehlende posttranslationale Modifikationen sowie andererseits die häufig beobachtete geringe Löslichkeit der überexprimierten Proteine. Diese Nachteile werden durch die Proteinexpression in *L. tarentolae*, einem parasitären Organismus, umgangen: Die posttranslationalen Modifikationen des überexprimierten Proteins weisen überaus starke Ähnlichkeiten mit denen von Säugetierzellen auf. Des Weiteren können sekretorische rekombinante Proteine direkt aus dem Medium aufgereinigt werden und behalten so ihre Konformation.

Ein trunkiertes Fragment des zweiten offenen Leserahmens von HEV, welcher für das Kapsidprotein codiert, wurde nach RNA-Isolierung aus porzinem Lebergewebe amplifiziert und in den Expressionsvektor kloniert. Nach Elektroporation der Leishmanien und Überprüfung der Expression wurde die Kultur bei 27 °C bis zu einer optischen Dichte von 1,8 inkubiert. Anschließend konnte das Protein, welches über einen C-terminalen His-tag verfügt, mittels FPLC aufgereinigt werden. In ersten Testungen zeigt das neu exprimierte Antigen eine gute Reaktivität. Durch den Einsatz in der Untersuchung von Serum und Fleischsaft von Schlachtschweinen werden die verbesserten antigenen Eigenschaften zum vertieften Verständnis der HEV-Epidemiologie beitragen.

#### 4.9 Entwicklung und Anwendung von Real-Time RT-PCR-Assays zum Nachweis von potentiell zoonotischen Viren in den Fäzes von Schweinen<sup>1</sup>

Patrycja Machnowska<sup>1,2</sup> und Reimar Johne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

<sup>2</sup>Freie Universität Berlin, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Berlin

Patrycja.Machnowska@bfr.bund.de

Im Darm von Schweinen kommen mehrere Virusarten vor, die mit verschiedenen Erkrankungen, vor allem Gastroenteritis, in Verbindung gebracht werden. Darüber hinaus besitzen viele von ihnen starke Sequenzhomologien zu Viren des Menschen, weshalb ein zoonotisches Potential angenommen wird. Hierzu gehören Astroviren (AstV), Encephalomyocarditis-Viren (EMCV), Noroviren (NoV), Rotaviren der Gruppen A, B und C (GARV, GBRV und GCRV) sowie Hepatitis E-Viren (HEV). Über die Prävalenz dieser Viren in den Fäzes von Schweinen ist bisher nur wenig bekannt. Für den Nachweis dieser Viren existieren bereits einige RT-PCR-Protokolle, aber nur wenige bzw. keine Real-Time RT-PCR-Assays.

Zur Entwicklung der Real-Time-RT-PCR-Protokolle wurden zunächst multiple Alignments mit in Datenbanken vorhandenen Virussequenzen erstellt und nachfolgend entweder publizierte Primer und Sonden selektiert oder neue Primer und Sonden generiert. RNA-Standards wurden durch Klonierung von PCR-Produkten und anschließende *In-vitro*-Transkription hergestellt. Real-time-RT-PCR-Protokolle mit entsprechenden RNA-Standards konnten für alle der genannten Virusarten etabliert werden. Die PCR-Effizienz der Protokolle liegt zwischen 91 % und 103 %; die Detektionsgrenze zwischen 3 und 78 Viruskopien pro Reaktion.

Die Assays wurden an natürlich infizierten Schweinen aus einem Tierversuch getestet. Hierbei wurden AstV, EMCV, NoV, GARV, GCRV und HEV mit unterschiedlicher Häufigkeit in verschiedenen Altersgruppen nachgewiesen. Weitere Untersuchungen an Schweinen aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands werden derzeit durchgeführt, um die Prävalenz dieser potentiell zoonotischen Viren in Schlachtschweinen zu ermitteln. Bisher wurden 120 Kotproben von Schlachtschweinen aus Baden-Württemberg auf NoV und GARV untersucht, wobei sich Nachweisraten von 14,2 % für NoV und 0,8 % für GARV ergaben. Weiterführende Charakterisierungen der gefundenen Viren sollen ihr zoonotisches Potential ermitteln und dadurch die Bewertung des Risikos einer Übertragung über kontaminiertes Schweinefleisch ermöglichen.

---

<sup>1</sup> Die Arbeiten wurden im Rahmen des SFB852 „Ernährung und intestinale Mikrobiota – Wirtsinteraktionen beim Schwein“ durchgeführt.

#### 4.10 Simultane Identifikation von DNA- und RNA-Viren in Fäzes von Schweinen mittels Deep Sequencing<sup>2</sup>

Jana Sachsenröder<sup>1,2</sup>, Sven Twardziok<sup>3</sup>, Jens A. Hammer<sup>1</sup>, Pawel Janczyk<sup>1</sup>, Paul Wrede<sup>3</sup>, Stefan Hertwig<sup>1</sup>, Reimar Johné<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

<sup>2</sup>Freie Universität Berlin, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Berlin

<sup>3</sup>Institut für Molekularbiologie und Bioinformatik, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin  
E-Mail: Jana.Sachsenroeder@bfr.bund.de

Im Darmtrakt von Tieren und Menschen existiert eine Gemeinschaft von verschiedenen Mikroorganismen, die vor allem aus Bakterien, aber auch aus Viren besteht. Um die Gesamtheit der hier in einem Tier vorkommenden Viren zu erfassen, wurde ein Protokoll entwickelt, bei dem (i) alle Viruspartikel aus der Kotprobe gereinigt werden, (ii) daraus die virale Nukleinsäure extrahiert wird, (iii) diese mittels Deep Sequencing sequenziert wird und (iv) die Sequenzen durch Homologie-Vergleiche den enthaltenen Virusarten zugeordnet werden. Das Protokoll wurde mit Hilfe von drei sehr unterschiedlichen Bakteriophagen optimiert und anschließend an einer Sammel-Kotprobe von fünf Schweinen getestet.

Mittels Deep Sequencing wurden aus der Sammel-Kotprobe 69.613 Sequenzen erhalten. Davon konnten 5.366 Sequenzen (7,7 %) bekannten Virusfamilien zugeordnet werden. Die meisten Virussequenzen stammten von Bakteriophagen (73,9 %), gefolgt von Säuger-Viren (23,9 %), während Pflanzen-Viren nur 0,8 % ausmachten. Insgesamt wurden die Sequenzen 447 verschiedenen Virusarten zugeordnet. Die häufigsten Schweine-Viren waren Kobuvirus, Rotavirus C, Astrovirus, Enterovirus B, Sapovirus und Picobirnavirus. Zusätzlich wurden Sequenzen mit Homologien zum „Stool-associated circular ssDNA virus“ von Schimpansen identifiziert. Die Gesamtgenom-Analyse dieses Virus zeigt, dass es sich hierbei um ein bisher unbekanntes Schweine-Virus handelt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das etablierte Protokoll die gleichzeitige Identifikation von DNA- und RNA-Viren in Schweine-Fäzes erlaubt, wobei auch der Nachweis bisher unbekannter Viren möglich ist. Die Technik kann in Zukunft zur Untersuchung von Ätiologie und Epidemiologie von Erkrankungen eingesetzt werden. In diesem Sinne können die Untersuchungen auch Keime identifizieren, die potentiell durch fäkale Kontaminationen von Schlachtkörpern über Lebensmittel übertragen werden können.

---

<sup>2</sup> Die Arbeiten wurden im Rahmen des SFB852 „Ernährung und intestinale Mikrobiota – Wirtsinteraktionen beim Schwein“ durchgeführt.

#### 4.11 Desinfektion von Viren im Lebensmittelbereich

Uwe Truyen<sup>1,2</sup>, Birgit Hunsinger<sup>2</sup>, Jochen Steinmann<sup>2</sup> und Wolf-Dieter Kraetzl<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Zentrum für Veterinary Public Health, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

<sup>2</sup>Ausschuss Desinfektion der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft  
truyen@vmf.uni-leipzig.de

Die Desinfektion in Lebensmittel- und verarbeitenden Betrieben sowie in Großküchen ist durch die Bestimmungen des EU-Hygienepaketes (Verordnungen EG Nr. 852/2004, 853/2004 und 854/2004) geregelt. Zur Anwendung müssen dabei „geeignete“ chemische Desinfektionsmittel kommen, deren Wirksamkeit nach den Vorgaben der Biozid-Richtlinie nachgewiesen werden muss.

Der Ausschuss Desinfektion der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) hat vor vielen Jahren das Prinzip der unabhängigen Wirksamkeitsprüfung eingeführt. Die hierauf basierende Listung geprüfter Desinfektionsmittel in der DVG-Liste für den Lebensmittelbereich stellt heute ein national wie auch international anerkanntes Prüfsiegel dar.

Die Wirksamkeitsprüfung beschränkte sich jedoch bisher ausschließlich auf die bakterizide und levurozide beziehungsweise fungizide Wirksamkeit. In diesem Jahr wurde die Prüfrichtlinie um die viruzide Wirkung von Desinfektionsmitteln erweitert, was insbesondere für den Bereich der Großküchen von Bedeutung ist. Die listungsrelevante Prüfung erfolgt mittels eines Oberflächenversuches auf Stahlkeimträgern und dem Testvirus Murines Norovirus S99, ein Surrogatvirus für die nicht kultivierbaren humanen Noroviren.

Die Prüfrichtlinie ist verabschiedet. Vor Veröffentlichung der Richtlinie wird derzeit die Robustheit der Prüfrichtlinie durch Testung mit Referenzsubstanzen in ausgewählten Labors bestätigt. Mit einer Veröffentlichung der Richtlinie wird noch in diesem Jahr gerechnet.

#### 4.12 Einfluss nichtthermischer Verfahren der Lebensmittelkonservierung auf die Infektiosität potentieller Norovirus-Surrogate

Thiemo Albert<sup>1</sup>, Anett Lange-Starke<sup>1</sup>, Anja Zielonka<sup>2</sup>, Juliane Straube<sup>2</sup>, Uwe Truyen<sup>2</sup> und Karsten Fehlhaber<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Lebensmittelhygiene, Universität Leipzig

<sup>2</sup>Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Universität Leipzig

E-Mail: albert@vetmed.uni-leipzig.de

In der vorliegenden Studie<sup>3</sup> wurde der Einfluss nichtthermischer Verfahren der Lebensmittelkonservierung (Säuern, Salzen/Pökeln, Fermentation) auf die Infektiosität der zwei potentiellen Norovirus-Surrogate felines Calicivirus (FCV) und murines Norovirus (MNV) untersucht. Im Vergleich zu humanen Noroviren lässt sich die Infektiosität dieser Viren routinetauglich in Zellkultur nachweisen.

FCV zeigte hierbei gegenüber Natriumchlorid (PBS: 2–20 % w/v) sowie D,L-Milchsäure (PBS: pH 6,0–3,2) bei 4 °C eine hohe Stabilität. Bei höherer Temperatur (20 °C) war diese jedoch deutlich niedriger ausgeprägt. Natriumnitrit (100–200 ppm) zeigte keinen antiviralen Effekt auf FCV.

In Studien mit MNV wurde der Einfluss bakterieller Fermentation auf die Virustenazität am Beispiel rohwurstrelevanter Starter- und Schutzkulturen (Milchsäurebakterien, Staphylokokken, Mikrokokken) geprüft. Die Kulturen zeigten dabei sowohl in *In-vitro*-Studien als auch in Rohwurstmatrix keinen deutlichen antiviralen Effekt.

Den Ergebnissen zufolge sollte im Zusammenhang mit humanen Noroviren das antivirale Potential der geprüften nichtthermischen Verfahren der Lebensmittelkonservierung als gering eingeschätzt werden. Derart prozessierte Lebensmittel könnten daher eine Kontaminationsquelle darstellen.

---

<sup>3</sup> AiF Projekte 15189 BR und 16509 BR

#### 4.13 Untersuchungen zur Wirkung ausgewählter Lebensmittelinhaltsstoffe auf die Hitzestabilität von Norovirus-Surrogaten

Christina Jarke<sup>1</sup>, Anja Zielonka<sup>2</sup>, Uwe Truyen<sup>2</sup>, Peggy G. Braun<sup>1</sup>, Karsten Fehlhaber<sup>1</sup> und Thiemo Albert<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Lebensmittelhygiene, Universität Leipzig

<sup>2</sup>Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Universität Leipzig

E-Mail: Christina.Jarke@vetmed.uni-leipzig.de

Der Einfluss von Lebensmittelinhaltsstoffen auf die Hitzeinaktivierung von Noroviren ist noch unzureichend erforscht. Die wenigen Daten aus der Literatur zeigen jedoch, dass Matrixkomponenten protektiv oder inhibierend auf die Virusinaktivierung durch thermische Prozesse wirken können. Für Hepatitis A-Viren ist beispielsweise bekannt, dass Saccharose und Milchfett deren Thermostabilität erhöhen. Ähnliches ist für die Wirkung von Natriumchlorid auf die Hitzeresistenz von feline Caliciviren beschrieben. Dagegen wurde gezeigt, dass die Infektiosität von MNV-1 bei Erhitzung (50 °C) mit steigendem Salzgehalt abnimmt.

In diesem Zusammenhang war es Ziel der vorliegenden Studie, den Einfluss von Natriumchlorid, Saccharose und Milchfett auf die Thermostabilität der Norovirus-Surrogate MNV-1 (murine Noroviren) und MS2-Phagen zu prüfen. Auf diese Ersatzviren muss zurückgegriffen werden, da humane Noroviren sich bis heute nicht routinemäßig in Zellkultur anzüchten lassen.

Die murinen Noroviren (S99 P16) wurden bei 60 °C für 1 bis 5 min erhitzt, die MS2-Phagen (DSM 13767) für 5 bis 120 min. Die Hitzebehandlung der Surrogate erfolgte in PBS bzw. SM-Puffer (suspension medium) mit jeweils unterschiedlichen Konzentrationen an Natriumchlorid (< 1; 5 und 10 %) und Saccharose (5 und 50 %) sowie in Milch mit Fettgehalten von 0,3; 1,5 und 3,5 %.

Die Abnahme der Virustiter folgte für MNV-1 und MS2-Phagen einer log-linearen Funktion und wurde durch die geprüften Natriumchlorid- und Fettgehalte sowie durch Saccharose (5 %) nicht beeinflusst. Saccharose zeigte jedoch in hoher Konzentration (50 %) einen deutlich protektiven Effekt auf die Hitzestabilität von MNV-1. Im Unterschied zu MNV-1 konnte für die MS2-Phagen eine vergleichsweise hohe Hitzestabilität nachgewiesen werden.

Es gilt nun in weiteren Untersuchungen zu prüfen, ob diese Erkenntnisse bei der Risikobewertung von hitzebehandelten stark zuckerhaltigen Lebensmitteln, wie Fruchtaufstrichen, berücksichtigt werden müssen. Zusätzlich soll geklärt werden, inwieweit sich die Ergebnisse der *In-vitro*-Studie auch bei Untersuchungen mit komplex zusammengesetzter Lebensmittelmatrix bestätigen lassen.

#### **4.14 Tenazität von humanem Norovirus und den Surrogatviren felines Calicivirus und murines Norovirus auf unterschiedlichen Werkstoffen von Bedarfsgegenständen in der Lebensmittelproduktion und -verarbeitung**

Sascha Mormann, Cathrin Heißenberg und Barbara Becker  
Hochschule Ostwestfalen-Lippe, Institut für Lebensmitteltechnologie-NRW (ILT-NRW), Mikrobiologie, Lemgo  
E-Mail: sascha.mormann@hs-owl.de

Die häufigste Ursache für Gastroenteritiden beim Menschen ist die Norovirusinfektion. Humanes Norovirus (hNV) ist hochkontagiös und kann von Person zu Person, fäkal-oral, aerogen oder durch Lebensmittel (LM) und Trinkwasser übertragen werden. Die überwiegende Zahl der Krankheitsausbrüche wird durch Sekundärkontaminationen bedingt, die durch Hygienemängel häufig im Rahmen der LM-Produktion, -verarbeitung oder -zubereitung erfolgen. hNV kann an verschiedenen Stellen in den Prozess eingebracht werden. Durch Personal z.B. in lebensmittelverarbeitenden Betrieben, Einrichtungen der Gemeinschaftsverpflegung und Krankenhäusern können die Viren direkt in das LM eingebracht oder auf Einrichtungsgegenstände, z.B. Lichtschalter, Türgriffe, Maschinen, Verpackungen, Arbeitsflächen, Transportbänder oder Kisten, aufgebracht werden. In der internationalen Literatur wurden in den letzten Jahren zahlreiche Berichte zur Überdauerung von Norovirus-Surrogaten veröffentlicht. Auffällig ist, dass die Ergebnisse sehr widersprüchlich sind. Offen bleibt zudem die Frage, ob sich die Ergebnisse auf humanes Norovirus übertragen lassen.

Im Rahmen dieses Vortrages wird die Überdauerungsfähigkeit von hNV sowie der zellkulturgängigen Surrogatviren FCV und MNV auf Werkstoffen (wie z.B. Edelstahl, Plastik), die in der Lebensmittelindustrie Verwendung finden, vorgestellt. Die Quantifizierung erfolgt mittels Zellkultur (FCV und MNV) sowie parallel mittels Real-Time RT-PCR (hNV, FCV und MNV).

Der Vergleich von Zellkultur und Real-Time RT-PCR liefert Daten zur Aussagefähigkeit von Tenazitätsstudien mit Surrogatviren (FCV und MNV) und ermöglicht eine Abschätzung, inwiefern die quantitative Real-Time RT-PCR für humanes Norovirus nicht nur die Anzahl intakter, sondern infektiöser Viren widerspiegelt.

#### **4.15 Experimentelle Kontamination und Persistenz von Noroviren, feline Caliciviren und Rotaviren in Miesmuscheln (*Mytilus edulis*)**

Reimar Johne, Ralf-Peter Pund und Christina Schrader  
Bundesinstitut für Risikobewertung, NRL für die Überwachung von Viren in zweischaligen Weichtieren, Berlin  
E-Mail: Reimar.Johne@bfr.bund.de

Über Ausbrüche von Magen-Darm-Erkrankungen nach dem Verzehr von Muscheln wurde wiederholt berichtet. Humanpathogene Viren können in Muscheln nach fäkalen Kontaminationsereignissen in den Anbaugeländen angereichert werden und danach für mehrere Wochen in ihnen persistieren.

In dieser Arbeit wurden Miesmuscheln (*Mytilus edulis*) mit Noroviren und Rotaviren für 24 Stunden in einem Zirkulationssystem mit künstlichem Meerwasser kontaminiert. Die Noroviren wurden hierbei 100- bis 1.000-fach in den Muscheln angereichert und persistierten in ihnen mindestens vier Wochen lang, wie durch semiquantitative Real-Time-RT-PCR-Untersuchungen gezeigt wurde. Demgegenüber wurden die Rotaviren nicht effizient in den Muscheln angereichert und waren nur etwa eine Woche lang mit Real-Time RT-PCR und Zellkultur nachweisbar. Das feline Calicivirus, welches als Modellvirus für Norovirusinfektiositätstests verwendet wurde, war auch nur etwa eine Woche lang in den Muscheln nachweisbar. Für die Rotaviren war die Inaktivierungskinetik in den Muscheln sehr ähnlich der im Meerwasser. Demgegenüber waren Noroviren für mindestens vier Wochen sehr stabil in den Muscheln, aber ihre Menge nahm im Meerwasser ab und sie waren hier nach drei Wochen nicht mehr nachweisbar.

Die Ergebnisse weisen auf einen besonderen Mechanismus der Anreicherung und Persistenz von Noroviren in Muscheln hin. Zur Verbesserung der mikrobiellen Sicherheit sollte die Überwachung auf den Nachweis von Noroviren in Muscheln fokussiert werden.