

## Tenazität (Widerstandsfähigkeit) von Noroviren in Erdbeerkompott

Stellungnahme Nr. 038/2012 des BfR vom 6. Oktober 2012

Ab dem 19. September 2012 kam es in verschiedenen Schulen und Einrichtungen der Kinderbetreuung in den Bundesländern Berlin, Brandenburg, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen zum bisher größten bekannten lebensmittelbedingten Ausbruch von Gastroenteritis in Deutschland. Insgesamt litten über 11 000 Kinder und Jugendliche unter Durchfall und Erbrechen. Epidemiologische Untersuchungen des Robert Koch-Instituts und der am Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit eingerichteten Task Force legen nahe, dass der Erreger bzw. die krankmachende Substanz durch eine Charge roher Tiefkühlerdbeeren übertragen wurde. Ergebnisse von Stuhluntersuchungen der Erkrankten zeigen, dass möglicherweise Noroviren die Ursache der Erkrankungen waren. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat die Tenazität, das heißt die Widerstandsfähigkeit von Noroviren in dem Lebensmittel Erdbeerkompott abgeschätzt, welches in den beteiligten Küchen auf unterschiedliche Art und Weise hergestellt wurde. Zur Tenazität von humanen Noroviren ist generell wenig bekannt, weil durch fehlende Zellkultursysteme die Infektiosität dieser Viren nicht gemessen werden kann. Dennoch ist nach derzeitiger Kenntnis davon auszugehen, dass nicht nur von rohen, sondern auch von bloß kurzzeitig erhitzten Speisen mit Erdbeeren ein hohes Infektionsrisiko ausgeht, wenn diese mit Noroviren kontaminiert sind.

### 1 Gegenstand der Bewertung

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat die Tenazität von Noroviren in Erdbeerkompott wissenschaftlich bewertet, welches in verschiedenen Großküchen aus Tiefkühl-Erdbeeren unterschiedlich zubereitet wurde. Hintergrund ist ein Ausbruch von akuter Gastroenteritis unter Kindern und Jugendlichen sowie Betreuungspersonal von Einrichtungen in Ostdeutschland. Erkrankungsfälle sind Ende September 2012 größtenteils in Schulen und Kindergärten aufgetreten, die im fraglichen Zeitraum von mindestens 10 verschiedenen Küchen mit Nachspeisen versorgt wurden, die aus Tiefkühl-Erdbeeren einer bestimmten Charge und ohne ausreichende Erhitzung hergestellt wurden. Darüber hinaus zeigen Studien des Robert Koch-Instituts einen starken und statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Verzehr dieser Erdbeerspeisen und den Erkrankungen an Brechdurchfall.

Dieser Ausbruch ist mit über zehntausend Fällen der bisher mit Abstand größte bekannte lebensmittelbedingte Ausbruch in Deutschland. Es verdichtet sich der Verdacht, dass mit Noroviren kontaminierte Tiefkühl-Erdbeeren diesen Ausbruch verursacht haben.

Ermittlungen des betroffenen Cateringunternehmens haben ergeben, dass die Tiefkühl-Erdbeeren in den jeweiligen Küchen unterschiedlich zubereitet wurden. Von mehreren Küchen, die mit Erkrankungen assoziiert sind, wurde berichtet, dass die Tiefkühl-Erdbeeren nur aufgetaut und gezuckert wurden. Zwei Küchen gaben an, die Erdbeeren kurz aufgekocht zu haben. Eine Küche soll die tief gefrorenen Erdbeeren mit Zucker und einer Prise Salz in kochendes Wasser eingerührt, 2 bis 3 Minuten weitergekocht und dann ziehen gelassen haben. Gemäß Angaben des betroffenen Cateringunternehmens sollen Küchen, welche bisher nicht mit Erkrankungen im Zusammenhang stehen, die Erdbeeren fast ausschließlich in gekochter Form abgegeben haben. Welche Kerntemperaturen bei diesen Erhitzungsverfahren erreicht wurden, ist dem BfR nicht bekannt.

### 2 Ergebnis

Zur Tenazität von humanen Noroviren ist generell wenig bekannt, weil durch fehlende Zellkultursysteme die Infektiosität dieser Viren nicht gemessen werden kann. Eine Erhitzung von

humanen Noroviren für 30 Minuten auf 60 °C sowie eine auf pH-Wert-Senkung auf pH 2,7 für 3 Stunden kann das Virus nicht vollständig inaktivieren, wie in Freiwilligen-Versuchen nachgewiesen wurde. Studien zu Noroviren in Erdbeerkompott oder ähnlichen Zubereitungen liegen nicht vor.

Insgesamt kann aus den vorliegenden Daten abgeleitet werden, dass Noroviren einen niedrigen pH-Wert tolerieren und sie im Temperaturbereich oberhalb von 70 °C in Abhängigkeit von der gewählten Haltezeit an Infektiosität verlieren. Eine Erhitzung von Erdbeerkompott auf Kerntemperaturen von über 90 °C bzw. lange Heißhaltezeiten im Temperaturbereich oberhalb von 70 °C scheinen geeignet, das Virus vollständig zu inaktivieren. Es ist hingegen davon auszugehen, dass ein Einrühren großer Mengen tiefgefrorener Erdbeeren in kochendes Wasser oder die ungleichmäßige Erhitzung beim kurzen Aufkochen einer großen Menge Kompott auf den Erdbeeren vorhandene Noroviren nicht überall sicher inaktivieren können.

### 3 Begründung

Noroviren sind unbehüllte Viren des Genus *Norovirus* in der Familie *Caliciviridae*. Es existieren mehrere Genogruppen, von denen die Genogruppen I und II die wichtigste Bedeutung bei humanen Infektionen haben. Die Infektion mit Noroviren kann zu Magen-Darm-Erkrankungen führen, die durch Diarrhö und Erbrechen gekennzeichnet sind. Die Erkrankungen treten in allen Altersgruppen auf. In Infektionsversuchen mit Freiwilligen wurde eine minimale Infektionsdosis von 10-100 Viruspartikeln abgeschätzt. Neuere Analysen dieser Daten zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit einer Norovirus-Infektion nach Aufnahme eines infektiösen Norovirus-Partikels bei 0,5 liegt; die Wahrscheinlichkeit zu erkranken jedoch steigt erst mit höherer Infektionsdosis von 0,1 (bei  $10^3$  Partikeln) auf 0,7 (bei  $10^7$  Partikeln) (Teunis et al., 2008). Über Unterschiede in der Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Kindern und Erwachsenen sind dem BfR keine Untersuchungen bekannt. Von infizierten Personen können im Stuhl bis zu  $10^{11}$  Viruspartikel pro Gramm ausgeschieden werden (Atmar et al., 2008).

Noroviren werden über den fäkal-oralen Weg übertragen. Dies kann durch direkten Kontakt mit Infizierten oder indirekt über kontaminierte Oberflächen oder Lebensmittel erfolgen. Von Erkrankten kann das Norovirus in sehr hohen Mengen mit dem Stuhl ausgeschieden werden. Die Kontamination von Lebensmitteln kann auch über Kontakt mit Norovirus-kontaminierten Abwässern erfolgen. Außerhalb des Menschen existiert wahrscheinlich kein Reservoir für humane Noroviren.

Beeren können an verschiedenen Stellen ihrer Produktion mit Noroviren kontaminiert werden. Hierbei kommt zunächst die unsachgemäße Bewässerung bzw. Düngung mit humanen Norovirus kontaminierten Ausscheidungen in Betracht. Des Weiteren können während der Ernte oder Verpackung mit Noroviren infizierte Personen das Virus auf die Beeren übertragen. Bei tief gefrorenen Beeren kann darüber hinaus Norovirus über kontaminiertes Wasser, das während des Gefrierprozesses zugegeben wird, in die Beeren gelangen. Schließlich ist auch eine Kontamination während der Zubereitung der Beeren möglich.

Größere Erkrankungsausbrüche, die mit Norovirus kontaminierten Erdbeeren in Zusammenhang stehen, sind dem BfR nicht bekannt. Allerdings gibt es zahlreiche Berichte, die Erkrankungsausbrüche durch Norovirus kontaminierte Himbeeren beschreiben. Besonders Tiefkühl-Himbeeren werden in diesem Zusammenhang häufiger genannt. (Ponka et al., 1999; Falkenhorst et al., 2005; Cotterelle et al., 2005). Ein viraler Erkrankungsausbruch, der durch Hepatitis A-Virus kontaminierte gefrorene Erdbeeren ausgelöst wurde, ereignete sich 1991 in den USA (Niu et al., 1992).

Über die Tenazität von humanen Noroviren ist generell wenig bekannt, weil durch fehlende Zellkultursysteme die Infektiosität dieser Viren nicht gemessen werden kann. In Versuchen mit Freiwilligen zeigte sich, dass nach einer Erhitzung von Noroviren für 30 Minuten auf 60 °C die Inaktivierung nur unvollständig war (Dolin et al., 1972). Weitere Erkenntnisse zur Tenazität von Noroviren wurden indirekt durch die Verwendung von Surrogat-Viren, die mehr oder weniger eng mit den humanen Noroviren verwandt sind, erhalten. So zeigen Untersuchungen mit feline Calicivirus (FCV) und caninem Calicivirus (CaCV), dass eine Erhitzung auf 70 °C für 1 Minute zu einer Virusreduktion von etwa 3 log-Stufen führt (Duizer et al., 2004; Doultree et al., 1999). Eine Virusreduktion von einer log-Stufe bedeutet eine Verringerung der Virenlast um den Faktor 10. FCV und murines Norovirus (MNV) zeigen nach Erhitzung auf 72 °C für 15 Sekunden nur einen geringen Abfall der Infektiosität von 1 log-Stufe (Cannon et al., 2006). Eine Erhitzung von FCV auf 70 °C für 5 Minuten oder Kochen für 1 Minute führt zu einer starken Reduktion von 7,5 log-Stufen (Cannon et al., 2006). MNV wird bei Inkubation bei 80 °C für 2,5 Minuten um 6,5 log-Stufen inaktiviert (Baert et al., 2008a).

Über die Empfindlichkeit von humanen Noroviren gegenüber pH-Wert-Änderungen oder Zusatzstoffen ist ebenfalls nur wenig bekannt. Die Surrogat-Viren FCV und CaCV zeigen bei einem pH Wert von 2 für 30 Minuten bei 37 °C einen starken Abfall der Infektiosität um 5 log-Stufen (Duizer et al., 2004). Dem gegenüber zeigt das Surrogat-Virus MNV unter den gleichen Bedingungen nur einen Abfall der Infektiosität um weniger als 1 log-Stufe (Cannon et al., 2006). Dieses Virus scheint für pH-Wert-Studien als Surrogat-Virus besser geeignet zu sein, da frühe Infektionsstudien mit humanem Norovirus an Freiwilligen gezeigt hatten, dass eine pH-Wert-Änderung auf pH 2,7 für 3 Stunden die Infektiosität nicht zerstören konnten (Dolin et al., 1972).

Untersuchungen zur Tenazität von humanen Noroviren in Erdbeeren existieren nicht. Eine Studie wurde mit MNV durchgeführt, das zu Himbeer-Püree zugegeben worden war (Baert et al., 2008b). Bei einer Behandlung von 65 °C für 30 Sekunden ergab sich eine Verminderung der Infektiosität um 1,86 log-Stufen. Eine Erhitzung auf 75 °C für 15 Sekunden führte zu einer Verminderung um 2,81 log-Stufen.

#### 4 Referenzen

Atmar RL, Opekun AR, Gilger MA, Estes MK, Crawford SE, Neill FH, Graham DY. Norwalk virus shedding after experimental human infection. *Emerg Infect Dis.* 2008 Oct;14(10):1553-7.

Baert L, Wobus CE, Van Coillie E, Thackray LB, Debevere J, Uyttendaele M. Detection of murine norovirus 1 by using plaque assay, transfection assay, and real-time reverse transcription-PCR before and after heat exposure. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Jan;74(2):543-6.

Baert L, Uyttendaele M, Van Coillie E, Debevere J. The reduction of murine norovirus 1, B. fragilis HSP40 infecting phage B40-8 and E. coli after a mild thermal pasteurization process of raspberry puree. *Food Microbiol.* 2008 Oct;25(7):871-4.

Cannon JL, Papafragkou E, Park GW, Osborne J, Jaykus LA, Vinjé J. Surrogates for the study of norovirus stability and inactivation in the environment: a comparison of murine norovirus and feline calicivirus. *J Food Prot.* 2006 Nov;69(11):2761-5.

Cotterelle B, Drougard C, Rolland J, Becamel M, Boudon M, Pinede S, Traoré O, Balay K, Pothier P, Espié E. Outbreak of norovirus infection associated with the consumption of frozen raspberries, France, March 2005. *Euro Surveill.* 2005 Apr 28;10(4):E050428.1.

Dolin R, DuPont HL, Wyatt RG, Hornick R, Buscho RF, Chanock RM, Blacklow NR and Kasel JA, 1972. Biological properties of Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 140, 578-583.

Doultree JC, Druce JD, Birch CJ, Bowden DS, Marshall JA. Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J Hosp Infect.* 1999 Jan;41(1):51-7.

Duizer E, Bijkerk P, Rockx B, De Groot A, Twisk F, Koopmans M. Inactivation of caliciviruses. *Appl Environ Microbiol.* 2004 Aug;70(8):4538-43.

Falkenhorst G, Krusell L, Lisby M, Madsen SB, Böttiger B, Mølbak K. Imported frozen raspberries cause a series of norovirus outbreaks in Denmark, 2005. *Euro Surveill.* 2005 Sep 22;10(9):E050922.2.

Niu MT, Polish LB, Robertson BH, Khanna BK, Woodruff BA, Shapiro CN, Miller MA, Smith JD, Gedrose JK, Alter MJ, et al. Multistate outbreak of hepatitis A associated with frozen strawberries. *J Infect Dis.* 1992 Sep;166(3):518-24.

Ponka A, Maunula L, Von Bonsdorff CH, Lyytikäinen O. Outbreak of calicivirus gastroenteritis associated with eating frozen raspberries. *Euro Surveill.* 1999 Jun;4(6):66-69.

Teunis PF, Moe CL, Liu P, Miller SE, Lindesmith L, Baric RS, Le Pendu J, Calderon RL. Norwalk virus: how infectious is it? *J Med Virol.* 2008 Aug;80(8):1468-76.