

5. BfR-Symposium „Lebensmittelassoziierte Viren“

Berlin, 8. November 2022

Eine Veranstaltung des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR)

Impressum

BfR Abstracts

5. BfR-Symposium „Lebensmittelassoziierte Viren“

Für den Inhalt der Abstracts sind deren Autorinnen und Autoren verantwortlich.

Bundesinstitut für Risikobewertung
Max-Dohrn-Straße 8–10
10589 Berlin

Berlin 2022
21 Seiten

Inhalt

1	Programm	5
2	Abstracts	7
2.1	How new technologies can help to identify human enteric viruses on coastal-environment and shellfish	7
2.2	Genetische Diversität der zirkulierenden Noroviren in Deutschland vor und während der SARS-CoV-2 Pandemie	8
2.3	Aktuelle Lebensmittel-assoziierte Hepatitis-A-Virus-Infektionen	9
2.4	Alimentäre Übertragung von Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus	10
2.5	Molekulare und zeitliche Dynamik des Hepatitis E-Virus bei Wildtieren auf sechs verschiedenen Truppenübungsplätzen der Bundeswehr	11
2.6	Protektive Maßnahmen zur Reduktion von HEV in der europäischen Schweineproduktion	12
2.7	Hepatitis E aus Sicht eines Klinikers	13
2.8	Zellkulturbasiertes Arbeiten mit dem Hepatitis-E-Virus: Virusisolierung und Bestimmung neutralisierender Antikörper	14
2.9	Noroviren und Hepatitis-A-Virus in gefrorenen Beerenfrüchten – Laborvergleichsuntersuchungen am NRL für durch Lebensmittel übertragbare Viren	15
2.10	Neue Modelle zur Infektiositätstestung humaner Noroviren – Von Stammzellen bis Zebrafisch	16
2.11	Bewertung der Verwendung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Pflanzen im Hinblick auf humanpathogene Viren	17
2.12	Stabilität von Hepatitis E-Virus gegenüber pH-Wert, Salz und nach Trocknung auf Oberflächen	18
2.13	Stabilität verschiedener humanpathogener Viren auf Glas und deren Inaktivierung während des manuellen Spülprozesses von Trinkgläsern	19
2.14	Oberflächenstabilität von SARS-CoV-2 auf Euromünzen und -geldscheinen – Übertragungsrisiko durch Bargeld?	20
3	Verzeichnis der Autorinnen und Autoren	21

Willkommen zum 5. BfR-Symposium „Lebensmittelassoziierte Viren“!

Wir freuen uns sehr, Sie zum fünften BfR-Symposium „Lebensmittelassoziierte Viren“ des Bundesinstituts für Risikobewertung begrüßen zu dürfen. Nachdem wir im letzten Jahr bedingt durch die Corona-Beschränkungen das Symposium verschieben mussten, können wir dies nun nachholen und dabei gleichzeitig das Symposium auch im Hybrid-Format für eine breitere Zuhörerschaft öffnen. Das erste Symposium „Lebensmittelassoziierte Viren“ fand im Jahr 2009 statt und hat sich seitdem im deutschsprachigen Raum zu einer wichtigen Plattform für den Wissensaustausch auf dem Gebiet der durch Lebensmittel übertragbaren Viren entwickelt. Wir wollen mit diesem Symposium die Vernetzung der Forschung in diesem Feld weiter vorantreiben, die neuesten wissenschaftlichen Ergebnisse austauschen und darüber hinaus die sich unmittelbar ergebenden Konsequenzen für die lebensmittelhygienische Praxis beleuchten.

Erkrankungen durch Viren, die über Lebensmittel übertragen werden können, nehmen einen immer wichtigeren Stellenwert im gesundheitlichen Verbraucherschutz ein. Jedes Jahr werden in Deutschland mehr als 3.000 Hepatitis E-Fälle gemeldet, bei denen eine zoonotische Übertragung des verursachenden Virus über Lebensmittel von infizierten Schweinen und Wildtieren als Hauptursache angesehen wird. Lebensmittelbedingte Infektionen mit Noro- und Hepatitis A-Viren spielen ebenfalls eine wichtige Rolle. Darüber hinaus hat die Coronavirus-Pandemie Fragen zur Übertragbarkeit von Coronaviren über Lebensmittel und Gebrauchsgegenstände aufgeworfen. Wenngleich in den letzten Jahren deutliche Fortschritte bei der Entwicklung von Nachweismethoden für Viren in Lebensmitteln erzielt wurden, besteht immer noch umfangreicher Forschungsbedarf, um Übertragungswege besser aufzuklären und geeignete Maßnahmen zur Verhinderung von Erkrankungen zu ergreifen.

Zu Beginn des diesjährigen Symposiums wird Frau Dr. Soizick Le Guyader (IFREMER, Nantes, Frankreich) in einem Übersichtsvortrag über neue Technologien zur Identifikation von humanpathogenen Viren in Muscheln berichten. Neuartige Metagenom-Analysetechniken sowie Zellkultursysteme werden hierbei vorgestellt und deren Anwendung bei den häufig mit Viren kontaminierten Muscheln aufgezeigt. Ein weiterer Übersichtsvortrag von Herrn PD Dr. Sven Pischke (UKE, Hamburg-Eppendorf) beleuchtet später die Konsequenzen von lebensmittelbedingten Virusinfektionen: hierbei wird aus Sicht eines Kliniklers die Hepatitis E-Erkrankung vorgestellt und näher betrachtet. Die drei wissenschaftlichen Sessions behandeln in Kurzvorträgen aktuelle Themen zur Epidemiologie und zu Erkrankungsausbrüchen, zu Nachweismethoden sowie zur Hygiene und Inaktivierung von Viren. Neben den typischen lebensmittelassoziierten Noro-, Hepatitis A- und Hepatitis E-Viren werden aus aktuellen Anlässen diesmal auch das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus sowie Coronaviren eine Rolle spielen. Wir hoffen, mit diesem Programm sowohl Interessierte aus wissenschaftlichen Einrichtungen als auch aus Untersuchungsämtern und Überwachungsbehörden ansprechen zu können und damit die wichtigsten Aspekte lebensmittelassoziiierter Virusinfektionen zu behandeln.

Wir wünschen Ihnen ein interessantes Symposium und bei Teilnahme in Berlin angeregte Gespräche mit den Kolleginnen und Kollegen,

Professor Dr. Dr. Andreas Hensel
Professor Dr. Reimar Johné

1 Programm

Dienstag, 8. November 2022

10:00–10:15 Uhr

Begrüßung

Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel, Präsident des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR)
Prof. Dr. Reimar Johne, BfR, Berlin

Übersichtsvortrag

Chair: Prof. Dr. Reimar Johne, BfR

10:15–10:45 Uhr

How new technologies can help to identify human enteric viruses on coastal-environment and shellfish

Dr. Soizick Le Guyader, National Institute for Ocean Science (IFREMER), Nantes, Frankreich

10:45–11:15 Uhr Kaffeepause

Session I: Epidemiologie und Krankheitsausbrüche

Chair: Prof. Dr. Rainer G. Ulrich,
Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald – Insel Riems

11:15–11:35 Uhr

Genetische Diversität der zirkulierenden Noroviren in Deutschland vor und während der SARS-CoV-2 Pandemie

Dr. Sandra Niendorf, Robert Koch-Institut (RKI), Berlin

11:35–11:55 Uhr

Aktuelle Lebensmittel-assoziierte Hepatitis-A-Virus-Infektionen

Prof. Dr. Jürgen Wenzel, Universitätsklinikum Regensburg

11:55–12:15 Uhr

Alimentäre Übertragung von Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus

Dr. Dominik Moor, Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen, Bern, Schweiz

12:15–12:35 Uhr

Molekulare und zeitliche Dynamik des Hepatitis E-Virus bei Wildtieren auf sechs verschiedenen Truppenübungsplätzen der Bundeswehr

Dr. Ulrich Schotte, Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel, Kronshagen

12:35–12:55 Uhr

Protektive Maßnahmen zur Reduktion von HEV in der europäischen Schweineproduktion

Tamino Dubbert, BfR

12:55–13:55 Uhr Mittagspause

Übersichtsvortrag

Chair: Dr. Sandra Niendorf, RKI

13:55–14:25 Uhr

Hepatitis E aus Sicht eines Klinikers

PD Dr. Sven Pischke, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Session II: Nachweismethoden

Chair: Dr. Sandra Niendorf, RKI

14:25–14:45 Uhr

Zellkulturbasiertes Arbeiten mit dem Hepatitis E-Virus: Virusisolierung und Bestimmung neutralisierender Antikörper

Nele Gremmel, Tierärztliche Hochschule Hannover

14:45–15:05 Uhr

Noroviren und Hepatitis A-Virus in gefrorenen Beerenfrüchten – Laborvergleichsuntersuchungen am NRL für durch Lebensmittel übertragbare Viren

Dr. Nadine Althof, BfR

15:05–15:25 Uhr

Neue Modelle zur Infektiositätstestung humaner Noroviren – Von Stammzellen bis Zebrafisch

Prof. Dr. Stefan Taube, Universität zu Lübeck

15:25–15:55 Uhr Kaffeepause

Session III: Hygiene und Inaktivierung

Chair: Prof. Dr. Dietrich Mäde, Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, Halle (Saale)

15:55–16:15 Uhr

Bewertung der Verwendung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Pflanzen im Hinblick auf humanpathogene Viren

Dr. Alexander Falkenhagen, BfR

16:15–16:35 Uhr

Stabilität von Hepatitis E-Virus gegenüber pH-Wert, Salz und nach Trocknung auf Oberflächen

Prof. Dr. Reimar Johne, BfR

16:35–16:55 Uhr

Stabilität verschiedener humanpathogener Viren auf Glas und deren Inaktivierung während des manuellen Spülprozesses von Trinkgläsern

Dr. Katja Schilling-Loeffler, BfR

16:55–17:15 Uhr

Oberflächenstabilität von SARS-CoV-2 auf Euromünzen und -geldscheinen – Übertragungsrisiko durch Bargeld?

Dr. Daniel Todt, Ruhr-Universität Bochum

17:15–17:30 Uhr

Schlusswort

Prof. Dr. Reimar Johne, BfR

2 Abstracts

2.1 How new technologies can help to identify human enteric viruses on coastal-environment and shellfish

Dr. Soizick Le Guyader

National Institute for Ocean Science (IFREMER), Microbiology laboratory, Nantes, Frankreich

Human sewage contains a huge diversity of viruses and if wastewater treatment is not efficient, these viruses may contaminate surface waters or coastal environment. One major consequence is the possible food contamination and thus food-borne outbreaks. Being able to describe viral diversity in environmental and food samples may be of interest to understand some viral transmission and to prevent further contamination. The development of the novel catch-all virus detection assays, building from metagenomics, became available allowing profiling of all viral matter in food samples. Therefore, it can be expected that such a new approach will provide more detailed information on the full range of strains present in samples. However, the major challenge to apply this technique to environmental or food samples is to preserve all viral genetic diversity as some human viruses are present at very low concentrations. Describing rare sequences is of particular interest for virus such as norovirus. This group of highly diverse viruses and very resistant in environmental conditions and constitute the main source of food-borne outbreaks, especially following oyster consumption. In such a case, an amplicon-based metagenomic approach will be efficient to describe the genomic diversity, while the metagenomic approach will help to describe all virus genome. For example, applied to shellfish exposed to human and animal contaminations a large variety of viral sequences can be described. In such a case, naturally growing shellfish can be used as a sentinel in some areas where sampling is difficult.

Among the novel tools, one of the major breakthrough was the development of cell culture systems, based on human intestinal enteroids (HIEs), that allow measurement of norovirus infectivity. Using these HIEs we showed that two human norovirus strains can remain infectious for several weeks in seawater. Together with data on foodborne outbreaks, it will be helpful to understand the behaviour of norovirus in the environment, and thus protect human health by adapting sanitary regulations to the actual infectious risks.

Using approaches being able to describe viral diversity including some animal viruses may help to understand some zoonotic transmissions events. For the future, it will be important to gather data that can contribute to source tracking and monitoring of contamination for any viruses (traceability method). These new methods will help to better characterise the contaminations with the aim to find new solutions to decrease the risk for consumer. However, remaining major questions are how detection of viral genome translates into human health risk, and how to identify additional viruses with potential pathogenic potency in order to limit their spread? For this important issue, HIEs infectivity may contribute to provide answer.

Session I: Epidemiologie und Krankheitsausbrüche

2.2 Genetische Diversität der zirkulierenden Noroviren in Deutschland vor und während der SARS-CoV-2 Pandemie

Dr. Sandra Niendorf^{1,2}, Dr. Andreas Mas Marques^{1,2}, Prof. Dr. Claus-Thomas Bock²,
Dr. Sonja Jacobsen^{1,2}

¹ Robert Koch-Institut, Konsiliarlabor für Noroviren, Berlin

² Robert Koch-Institut, Fachgebiet 15: Virale Gastroenteritis- und Hepatitisserreger und Enteroviren, Berlin

Infektionen mit Noroviren (NV) sind in Deutschland nach §6 und §7 des Infektionsschutzgesetzes meldepflichtig. In den Jahren 2015 bis 2019 wurden jährlich durchschnittlich 80.000 NV-Infektionen an das RKI übermittelt. Die Meldezahlen der NV-Infektionen in Deutschland wurden durch die Covid-19 Pandemie und die damit eingeführten nicht-pharmazeutischen Maßnahmen stark beeinflusst. Im Vergleich zum vorpandemischen Zeitraum wurden in den Jahren 2020 und 2021 61 % weniger NV-Infektionen an das RKI übermittelt. Auch die Anzahl der Einsendungen an das Konsiliarlabor (KL) für NV war in diesem Zeitraum ebenfalls rückläufig. Im vorpandemischen Zeitraum von 2015 bis Februar 2020 wurden Proben aus 1.249 bekannten Ausbruchsgeschehen zur Analyse eingesendet. Im betrachteten Zeitraum während der Covid-19 Pandemie (März 2020 bis August 2022) wurden aus 213 bekannten Ausbruchsgeschehen Proben zur Analyse eingesendet. Die Anzahl der Einsendungen an das KL während der Pandemie ging um 65 % und damit in vergleichbarem Maße wie die NV-Meldezahlen in Deutschland zurück.

Vor der Covid-19 Pandemie wurden von den 1.249 analysierten Ausbrüchen 1.033 vollständig, das heißt sowohl im ORF1 als auch im ORF2, typisiert. Insgesamt 41 verschiedene Genotypen konnten detektiert werden. Viren der Genogruppe GI wurden in 12 % der Ausbrüche und Viren der Genogruppe GII in 88 % der Ausbrüche identifiziert. Die am häufigsten detektierten GII-Viren waren GII.P16-GII.4 Sydney (29 %), GII.P16-GII.2 (14 %) und GII.P31-GII.4 Sydney (12 %). Die am häufigsten identifizierten Viren der Genogruppe GI waren GI.P3-GI.3 (3 %) und GI.P4-GI.4 (2 %). Im Zeitraum März 2020 bis August 2022 wurden 182 Ausbrüche vollständig im ORF1 und im ORF2 charakterisiert, dabei konnten 24 verschiedene Genotypen identifiziert werden, von denen 9 % zur Genogruppe GI und 91 % zur Genogruppe GII gehörten. Die am häufigsten detektierten GII-Viren waren GII.P16-GII.4 Sydney (41 %), GII.P12-GII.3 (13 %) und GII.P16-GII.2 (9 %). Die am häufigsten identifizierten Viren der Genogruppe GI waren GI.P11-GI.6 (4 %) und GI.P1-GI.1 (1 %).

Diese Typisierungsergebnisse deuten darauf hin, dass von März 2020 bis August 2022 die Diversität der zirkulierenden NV weiterhin sehr hoch war und die Rekombinante GII.P16-GII.4 Sydney der dominante Genotyp geblieben ist. Allerdings zeigt sich eine Zunahme der Rekombinante GII.P12-GII.3 während der Pandemie (von 2 % auf 13 %). Die nicht-pharmazeutischen Maßnahmen hatten zwar einen Einfluss auf die Anzahl der übermittelten NV-Infektionen, nicht aber auf die Diversität der zirkulierenden NV-Varianten in Deutschland.

2.3 Aktuelle Lebensmittel-assoziierte Hepatitis-A-Virus-Infektionen

Prof. Dr. Jürgen Wenzel

Universitätsklinikum Regensburg, Institut für Klinische Mikrobiologie und Hygiene, Konsiliarlabor für HAV und HEV

Hepatitis-A-Viren (*Hepatitis A Virus*, HAV) werden durch direkten Kontakt mit infektiösen Ausscheidungen von Person zu Person übertragen („fäkal-oral“). Der Mensch ist der einzige bekannte Wirt, ein tierisches Reservoir existiert nicht. Weniger bekannt ist, dass die Infektion häufig auch über verschiedene kontaminierte Lebensmittel und – im globalen Rahmen – über fäkal verunreinigtes Trinkwasser erfolgt. In Westeuropa besitzt nur ein recht geringer Anteil der Bevölkerung Immunität gegen Hepatitis A (<40 % der 20–40 J. Erwachsenen, <5 % der Kinder unter 7 J.). Vor diesem Hintergrund treten auch hier immer wieder kleinere und mittelgroße Hepatitis-A-Ausbrüche auf.

Seit Einführung der gesetzlichen Meldepflicht nach IfSG im Jahr 2001 wurden in Deutschland jährlich im Mittel 1060 Hepatitis-A-Fälle gemeldet. Insgesamt ist in den letzten Jahren ein leicht rückläufiger Trend zu verzeichnen. Die meisten HAV-Infektionen (64 %) werden in Deutschland erworben. Hierbei spielen importierte, kontaminierte Lebensmittel als Infektionsquelle eine zunehmend wichtige Rolle. Dieser Vortrag stellt aktuelle und zurückliegende, lebensmittelassoziierte Hepatitis-A-Ausbrüche in Deutschland dar (z. B. verursacht durch importierte Beeren und Beerenmix, beerenhaltige Kuchen, Gebäck und Datteln). Anhand von zwei Beispielen wird die Problematik HAV-infizierter Mitarbeiter im Lebensmittelgewerbe behandelt.

Bei der Erkennung, Aufklärung und Rückverfolgung der Fälle und Ausbrüche hat sich die „molekulare Surveillance“ durch HAV-Typisierung in den letzten Jahren als ein wichtiges Werkzeug erwiesen. Mittels PCR und Sequenzierung wurden seit 2010 am Konsiliarlabor ca. 840 HAV-Proben typisiert, deren Einsendung durch den ÖGD veranlasst wurde. Ganz überwiegend kursierte in dieser Zeit HAV-Genotyp I (96 %), gefolgt von Genotyp III (4 %). Die Subtypen waren in abnehmender Häufigkeit folgendermaßen verteilt: HAV-IA (58 %), IB (38 %) und IIIA (4 %). Durch die Sequenzierung in der variablen VP1/P2a-Region des HAV-Genoms kann den Viren jeweils ein „molekularer Fingerabdruck“ zugeordnet werden. Dies ermöglicht die Identifikation und Zuordnung zu oft überregionalen Ausbrüchen und kann als Information für die klassische epidemiologische Arbeit nützlich sein. Aus diesem Grund streben das Konsiliarlabor für HAV und das RKI eine Ausweitung der molekularen HAV-Surveillance an.

2.4 Alimentäre Übertragung von Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus

Dr. Dominik Moor

Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen, Bern, Schweiz

Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) ist in Zentral- und Osteuropa die häufigste virale, durch Zecken auf den Menschen übertragene Zoonose. In der Schweiz ist die Krankheit seit 1988 meldepflichtig, die Anzahl der Meldungen nimmt in den letzten Jahren tendenziell zu (2015/2021: 121/285 Fälle). Die Krankheit wird durch das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (FSMEV; englisch: tick-borne encephalitis virus, TBEV), ein Flavivirus, verursacht. Eine Infektion mit FSMEV kann beim Menschen eine grippeartige Erkrankung auslösen und in schweren Fällen zu Entzündungen des zentralen Nervensystems (Meningitis, Meningoenzephalitis und –myelitis) führen.

Normalerweise wird das Virus beim Stich einer infizierten Zecke auf den Menschen übertragen. Auch Nutztiere, insbesondere Ziegen, können sich durch Zeckenstiche infizieren und das Virus für einen Zeitraum von wenigen Tagen über die Milch ausscheiden. Der Konsum kontaminierter Rohmilch und Rohmilchprodukte ist deshalb ein zweiter, wenn auch seltener Übertragungsweg des Virus auf den Menschen. Sporadische Fälle wurden in Deutschland (Ziegen-Rohmilchkäse) und grössere Ausbrüche in Estland, Lettland und der Slowakei (Ziegen-Rohmilch) sowie Frankreich (Ziegen-Rohmilchkäse) gemeldet.

Für die Schweiz gibt es bis anhin keine Daten zur Prävalenz von FSMEV in Ziegen-Rohmilch und daraus hergestellten Rohmilchprodukten, die Relevanz des alimentären Übertragungsweges ist unklar. Das BLV hat deshalb die entsprechende Analytik aufgebaut. Im Frühling 2021 wurde mit der im BLV-Labor etablierten Methode ein Monitoring von Ziegenrohmilch gestartet, wobei insgesamt 230 Tankmilchproben von 6 grossen Ziegenmilch-Verarbeitern aus der Schweiz erhoben wurden. In 5 der 230 Proben (2,2 %) konnte FSMEV nachgewiesen werden. Die Virus-Konzentration war dabei jedoch sehr gering – im Bereich der analytischen Nachweisgrenze.

Eine Infektion des Menschen über den Konsum FSMEV-kontaminierter Ziegenrohmilch und daraus hergestellten Produkten ist in der Schweiz also grundsätzlich möglich. Allerdings ist zu erwähnen, dass mit der angewendeten Nachweismethode keine Aussage über die Infektiosität des Virus in der Milch möglich ist. Deshalb sind weitere Forschungsarbeiten notwendig, um das Risiko der alimentären Übertragung von FSMEV besser abschätzen zu können.

2.5 Molekulare und zeitliche Dynamik des Hepatitis E-Virus bei Wildtieren auf sechs verschiedenen Truppenübungsplätzen der Bundeswehr

Dr. Ulrich Schotte¹, Annett Martin², Dr. Sandra Brogden^{3,4}, Dr. Katja Schilling-Loeffler², Dr. Mathias Schemmerer⁵, Dr. Helena E. Anheyer-Behmenburg⁶, Dr. Kathrin Szabo⁷, PD Dr. Christine Müller-Graf², Prof. Dr. Jürgen J. Wenzel⁵, Prof. Dr. Corinna Kehrenberg⁸, Dr. Alfred Binder¹, Prof. Dr. Günter Klein^{3,†}, Prof. Dr. Reimar Johné²

¹ Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel, Kronshagen

² Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

³ Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

⁴ Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

⁵ Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Nationales Konsiliarlabor für HAV und HEV, Universitätsklinikum Regensburg

⁶ Ministerium für Landwirtschaft, ländliche Räume, Europa und Verbraucherschutz Kiel

⁷ Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin

⁸ Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde, Justus-Liebig-Universität Gießen

† 22. Dezember 2016

Der Genotyp 3 des Hepatitis-E-Virus (HEV) kann auch von infizierten Wildschweinen und Wildwiederkäuern auf den Menschen übertragen werden. Zur Untersuchung der räumlich-zeitlichen HEV-Infektionsdynamik in Wildtierpopulationen wurden zwischen 2013/14 und 2016/17 Proben von 3572 Wildschweinen und Rot-, Reh- sowie Damwild aus sechs verschiedenen Regionen (Übungsplätzen der Bundeswehr) untersucht. Im Studienzeitraum stiegen die HEV-spezifischen Antikörper-Nachweisraten beim Wildschwein von 9,5 % auf 22,8 % an und gingen beim Rotwild von 1,1 % auf 0,2 % zurück. Gleichzeitig stiegen die HEV-RNA-Nachweisraten bei Wildschweinen von 2,8 % auf 13,3 % und bei Wildwiederkäuern von 0,7 % auf 4,2 %. Zwischen den untersuchten Übungsplätzen wurden deutliche Unterschiede festgestellt mit konstant hohen Nachweisraten einerseits oder HEV-Neueinträgen gefolgt von steigenden Nachweisraten andererseits. Durch molekulare Typisierung wurden die HEV-Subtypen 3c, 3f, 3i bestätigt sowie ein mutmaßlich neuer Subtyp, der mit italienischen Wildschweinstämmen verwandt ist. In Regionen mit hoher Wildschweindichte dominierte über den gesamten Beobachtungszeitraum ein bestimmter Subtyp. Die phylogenetische Analyse bestätigte die enge Verwandtschaft der dominanten Stämme einer Region untereinander und spiegelte eine regionale Clusterung wider. Die Ergebnisse zeigen, dass die HEV-Infektionsdynamik bei Wildtieren von Region und Subtyp abhängt, indem dominante Stämme über einen langen Zeitraum ungeachtet der Tierart zirkulieren. Die enge Verwandtschaft mit menschlichen Stämmen aus Deutschland bestätigt das zoonotische Infektionsrisiko. Das HEV kann von Wildschweinen als Hauptreservoir auf Wildwiederkäuer und allgemein von Wildtieren auf Menschen übertragen werden.

2.6 Protektive Maßnahmen zur Reduktion von HEV in der europäischen Schweineproduktion

Tamino Dubbert¹, Dr. Elke Burow¹, Richard P. Smith²

¹ Bundesinstitut für Risikobewertung, Abteilung Biologische Sicherheit, Berlin

² Animal & Plant Health Agency, Department of Epidemiological Sciences, Surrey, United Kingdom

Hepatitis-E-Viren (HEV) sind zoonotische Krankheitserreger, die bei Schweinen im Allgemeinen subklinisch auftreten. HEV-Infektionen beim Menschen können chronisch oder akut verlaufen (Mortalität 1 %). Die Hauptinfektionsquelle für Menschen sind Nahrungsmittel (z. B. kontaminiertes Schweinefleisch), wobei auch der direkte Kontakt mit infizierten Schweinen ein Risiko darstellt.

Das BIOPIGEE Projekt ('Biosecurity practices for pig farming across Europe') hat zum Ziel, wirksame Biosicherheitsmaßnahmen zur Kontrolle von HEV und Salmonellen in der Schweineproduktion in Europa zu identifizieren. Letztlich soll auf Basis dieser und weiterer Projektergebnisse eine Best Practice-Empfehlung entstehen, welche Biosicherheitsmaßnahmen zu priorisieren sind. Für diese Praxisstudie wurden Kotproben auf Betrieben mit hohem und niedrigem Salmonellenrisiko gezogen. Diese Kotproben wurden auf Salmonellen und HEV hin untersucht. Farmen mit vielen positiven Proben (≥ 20 %) wurden als Hochrisikobetriebe eingestuft. Der im Projekt entwickelte Fragebogen zu Biosicherheitsmaßnahmen enthält generelle und produktionsstufenspezifische Fragen zu internen und externen Biosicherheitsmaßnahmen aus acht Kategorien (z. B. Personen, Transport, Material und Geräte, etc.).

Von den 231 Betrieben (Wurf bis Endmast-, Zucht- und Mastbetriebe) aus neun europäischen Ländern wurden 83 Betriebe als HEV-Hochrisikobetriebe eingestuft. Auf Basis von univariaten logistischen Regressionsanalysen wurden 41 Variablen ($p < 0,25$ mit HEV) für das Risikofaktorenmodell herangezogen. Im Risikofaktorenmodell, kontrolliert für Land und Betriebstyp, waren eine niedrige Zahl an im Betrieb Arbeitenden (< 6 Personen), ein Isolierstall sowie die Wirksamkeitsprüfung der Reinigung mittels Hygienogramm im Zuchtbereich mit einem niedrigen HEV-Risiko assoziiert. Eine nutzungsfreie Zeit nach der Reinigung der Buchten von wenigstens drei Tagen im Mastbereich und das Händewaschen interner Mitarbeiter vor dem Betreten eines anderen Stallabschnitts waren hingegen mit einem höheren HEV-Risiko assoziiert.

Bisher gibt es noch wenige Studien zu Biosicherheitsmaßnahmen gegen HEV in der Schweineproduktion. Die Ergebnisse dieser Studie des BIOPIGEE Projekts leisten einen wertvollen Beitrag dazu, das Wissen zu Biosicherheit in der Schweineproduktion zu erweitern und letztendlich das HEV-Infektionsrisiko für Menschen zu reduzieren.

2.7 Hepatitis E aus Sicht eines Klinikers

PD Dr. Sven Pischke

Erste Medizinische Klinik und Poliklinik, Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Hamburg

Der Abstract lag zum Redaktionsschluss nicht vor.

Session II: Nachweismethoden

2.8 Zellkulturbasiertes Arbeiten mit dem Hepatitis-E-Virus: Virusisolierung und Bestimmung neutralisierender Antikörper

Nele Gremmel¹, Dr. Oliver Keuling², Prof. Dr. Reimar Johne³, Prof. Dr. Paul Becher¹,
Dr. Christine Bächlein^{1,4}

¹ Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Virologie

² Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Terrestrische und Aquatische Wildtierforschung

³ Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

⁴ Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Lebensmittel- und Veterinärinstitut Braunschweig/Hannover

Seit der Erstbeschreibung des Hepatitis-E-Virus (HEV) im Jahr 1983 wird an der Etablierung eines geeigneten Zellkultursystems zur Virusisolierung und -vermehrung gearbeitet. Der Fokus liegt dabei hauptsächlich auf humanen HEV-Stämmen, wie z. B. den Varianten Sar-55 (Genotyp 1), Kernow-C1 und 47832c (beide Genotyp 3).

Die effizienteste Virusreplikation kann in humanen Tumorzelllinien wie A549 (Adenokarzinom der Lunge), PLC/PRF/5 (Hepatom), Huh-7 oder HepG2 (Leberzellkarzinom) beobachtet werden.

Basierend auf einem Protokoll zur Isolierung von HEV aus humanen Proben wurde ein effizientes Zellkultursystem zur Virusisolation und -anzucht aus Organproben von Schweinen und Wildschweinen etabliert. Zunächst wurden Proben von 227 Tieren auf das Vorhandensein von HEV-RNA mittels RT-qPCR untersucht und 5,9 % positiv auf HEV getestet. Eine erfolgreiche Virusisolierung und nachfolgende Viruspassage auf PLC/PRF/5 Zellen konnte bei 15 der 18 positiv getesteten Proben erreicht und somit nachgewiesen werden, dass in 83 % aller PCR-positiven Organproben vermehrungsfähiges Virus enthalten war. Dies ist vor allem in Bezug auf das zoonotische Potenzial des Virus von Relevanz. Das Protokoll kann in zukünftigen Studien dazu verwendet werden, die Infektiosität von HEV-RNA-positiven, zum Verzehr bestimmten Proben zu bestimmen.

Eine weitere Anwendung findet das Zellkultursystem in der Bestimmung neutralisierender Antikörper in Serumproben. Der HEV-Antikörperstatus von über 500 Serumproben von Haus- und Wildschweinen wurde mittels hausinternem ELISA, basierend auf einem rekombinant exprimierten Kapsidprotein, bestimmt und diente als Grundlage zur Etablierung eines Neutralisationstestes. Zur Entfernung der Quasi-Hülle wurde das Virus vor Inkubation mit den zu testenden Seren mit einem Gallesalz behandelt, um die Bindung von Antikörpern an das dadurch freigelegte Kapsidprotein zu ermöglichen. Nach Inkubation des Antikörper-Virus-Ansatzes auf den Zellen und anschließender Immunfluoreszenz-Färbung zeigen vorläufige Untersuchungsergebnisse eine deutliche Korrelation zwischen Neutralisationskapazität und im ELISA ermitteltem Antikörperstatus.

2.9 Noroviren und Hepatitis-A-Virus in gefrorenen Beerenfrüchten – Laborvergleichsuntersuchungen am NRL für durch Lebensmittel übertragbare Viren

Dr. Nadine Althof, Prof. Dr. Reimar Johne, Dr. Eva Trojnar

Bundesinstitut für Risikobewertung, NRL für durch Lebensmittel übertragbare Viren, Berlin

Mit der Ernennung des am Bundesinstitut für Risikobewertung angesiedelten Nationalen Referenzlabors (NRL) für durch Lebensmittel übertragbare Viren im Jahr 2019 obliegt diesem unter anderem die Verantwortlichkeit zur regelmäßigen Durchführung von Eignungsprüfungen. Diese sogenannten Laborvergleichsuntersuchungen (LVUs) sollen die Qualität der durch die einzelnen nationalen amtlichen Laboratorien durchgeführten Untersuchungen hinsichtlich des Nachweises relevanter Virusarten in verschiedenen Lebensmittelmatrices sichern. Eine im Februar 2020 durchgeführte Umfrage ergab, dass sich die Mehrheit dieser Labore für den Nachweis von Noroviren der Genogruppen I und II (NV GI und II) sowie Hepatitis-A-Virus (HAV) in Beerenfrüchten interessiert. Gefrorene Beerenfrüchte stellten in den vergangenen Jahren laut „Rapid Alert System for Food and Feed“ (RASFF) die zweithäufigste Ursache für Lebensmittel-assoziierte Virusinfektionen dar. Seit 2014 steht für den Nachweis dieser Viren in Weichobst die europäische Norm EN ISO 15216-2 zur Verfügung.

2021 wurde eine erste LVU (NRLV01) durchgeführt, bei der 13 Landesuntersuchungsämtern sowie drei Laboren der Bundeswehr gefrorene Erdbeerproben zugesandt wurden, die verblindet mit einem oder mehreren Virustypen kontaminiert worden waren. Die teilnehmenden Labore wurden gebeten, die jeweils etablierten Routine-Methoden zur Probenanalyse einzusetzen. Nach Auswertung der Ergebnisse von insgesamt 14 rückmeldenden Laboren ließ sich feststellen, dass nur etwas mehr als die Hälfte der Teilnehmer vollständig richtige Ergebnisse erlangt hatte. Dabei lag bei Betrachtung aller Labore die relative Genauigkeit insgesamt bei 88,1 %, für NV GI bei 95,2 %, für NV GII bei 76,2 % und für HAV bei 92,9 %.

Mit gleichbleibender Virus-Matrix-Kombination richtete das NRL in 2022 erneut eine LVU (NRLV02) aus. Unter Berücksichtigung aller Ergebnisse aus insgesamt 12 rückmeldenden Laboren lag die relative Genauigkeit nun insgesamt bei 93,5 %, für NV GI bei 100 %, für NV GII bei 83,3 % und für HAV bei 97,2 %.

Insgesamt kann eingeschätzt werden, dass sich die Untersuchungsqualität der Labore in Jahr 2022 deutlich verbessert hat. Optimierungsbedarf gibt es vor allem beim Nachweis von NV GII. Weitere LVUs sind für die Folgejahre geplant.

**2.10 Neue Modelle zur Infektiositätstestung humaner Noroviren –
Von Stammzellen bis Zebrafisch**

Prof. Dr. Stefan Taube

Universität zu Lübeck

Der Abstract lag zum Redaktionsschluss nicht vor.

Session III: Hygiene und Inaktivierung

2.11 Bewertung der Verwendung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Pflanzen im Hinblick auf humanpathogene Viren

Dr. Alexander Falkenhagen, Dr. Heidi Wichmann-Schauer, Prof. Dr. Reimar Johne
Bundesinstitut für Risikobewertung, Abteilung Biologische Sicherheit, Fachgruppe Viren in Lebensmitteln

Klimatische Veränderungen erhöhen den Druck auf die Wasserressourcen weltweit. Die Nutzung von aufbereitetem Abwasser zur landwirtschaftlichen Bewässerung stellt eine Möglichkeit dar, Wasserressourcen zu schonen. Die Verordnung (EU) 2020/741 über Mindestanforderungen für die Wasserwiederverwendung soll EU-Mitgliedsstaaten die Umsetzung erleichtern und ein hohes Schutzniveau für die Umwelt sowie für die Gesundheit von Mensch und Tier gewährleisten. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat in einer Stellungnahme eine erste Abschätzung zum Risiko der Nutzung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Pflanzen, die als Lebensmittel genutzt werden sollen, im Hinblick auf humanpathogene Viren durchgeführt.

Insbesondere das humane Norovirus und das Hepatitis-A-Virus können über rohe oder unzureichend erhitzte pflanzliche Lebensmittel übertragen werden. Bei Betrachtung der wenigen verfügbaren Daten für diese humanpathogenen Viren sowie der verfügbaren Daten der untersuchten Surrogatviren lässt sich feststellen, dass die Viren in den meisten Fällen eine sehr hohe Stabilität gegenüber verschiedenen physiko-chemischen Parametern im Boden und auf der Pflanze zeigen. Weiterhin kann eine Internalisierung von Viren über die Wurzeln nicht ausgeschlossen werden. Da die meisten relevanten Viren eine sehr niedrige minimale Infektionsdosis aufweisen, können bereits geringe Virusmengen zu Erkrankungen führen. Dem gegenüber werden hohe Virusmengen mit dem Stuhl ausgeschieden, was wiederum eine hohe Belastung des Abwassers nahelegt. Forschungsbedarf gibt es unter anderem in Bezug auf Methoden, mit denen sich die Wirksamkeit der Inaktivierung entsprechender Viren durch verschiedene Abwasseraufbereitungssysteme prüfen und die Qualität des aufbereiteten Abwassers mit Blick auf das Vorhandensein von infektiösen humanpathogenen Viren untersuchen lassen.

Auch wenn die gegenwärtig unzureichende Datenlage eine abschließende Risikobewertung erschwert, empfiehlt das BfR im Sinne des gesundheitlichen Verbraucherschutzes, auf die Bewässerung von Pflanzen, deren bodennah oder im Boden wachsende Teile üblicherweise roh verzehrt werden, mit aufbereitetem Abwasser zu verzichten. Diese Empfehlung gilt bis geeignete Aufbereitungsverfahren und Kontrollen sicherstellen können, dass im Bewässerungswasser keine humanpathogenen Viren enthalten sind.

2.12 Stabilität von Hepatitis E-Virus gegenüber pH-Wert, Salz und nach Trocknung auf Oberflächen

Prof. Dr. Reimar Johne, Taras Günther, Alexander Wolff

Bundesinstitut für Risikobewertung, Abteilung Biologische Sicherheit, Fachgruppe Viren in Lebensmitteln

In den letzten Jahren haben die gemeldeten Hepatitis E-Fälle in Europa und Deutschland deutlich zugenommen. Der hier vorherrschende Genotyp 3 wird hauptsächlich über den Verzehr von Lebensmitteln, die von infizierten Tieren stammen, übertragen. Über die Stabilität und Inaktivierung des Hepatitis-E-Virus (HEV) während der Herstellung solcher Lebensmittel ist jedoch bisher nur wenig bekannt.

Ziel der Untersuchungen war es deshalb, die Stabilität von HEV gegenüber verschiedenen pH-Werten und Salzkonzentrationen, wie sie für die Konservierung von Lebensmitteln verwendet werden, zu ermitteln. Darüber hinaus sollte die Virus-Stabilität nach Trocknung auf Oberflächen, die üblicherweise in der Lebensmittelherstellung verwendet werden, untersucht werden. Für die Versuche wurde HEV in Zellkulturen vermehrt, konzentriert und in Phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) aufgenommen. Die Präparationen wurden dann den zu untersuchenden Behandlungen unterzogen und die Restinfektiosität mittels Zellkultur-Titration ermittelt.

Im Ergebnis wurde HEV nur bei pH1 und pH10 effizient inaktiviert. Dem gegenüber war bei pH2 bis pH9 sowie bei solchen pH-Werten, wie sie bei der Reifung von Fleischprodukten auftreten, keine Inaktivierung feststellbar. Auch Salzkonzentrationen bis zu 20 % NaCl, mit oder ohne Zusatz von NaNO_2 oder NaNO_3 , konnten HEV nicht effizient inaktivieren. Nach der Trocknung war HEV bei Raumtemperatur auf den meisten getesteten Oberflächen noch nach 4 Wochen nachweisbar, während es nach 8 Wochen inaktiviert war. Bei Lagerung bei 3 °C war infektiöses Virus auf den meisten Oberflächen auch noch nach 8 Wochen nachweisbar. Hier war das Virus auf Plastik sehr stabil, gefolgt von Keramik und Edelstahl, während es auf Holz am schnellsten inaktiviert wurde.

Die Ergebnisse zeigen, dass HEV sehr stabil gegenüber verschiedenen physiko-chemischen Bedingungen ist. Es ist deshalb davon auszugehen, dass die bei der Reifung von Fleischprodukten vorherrschenden Bedingungen HEV nicht effizient inaktivieren können. Deshalb kann beispielsweise in Rohwurst-Produkten infektiöses Virus erwartet werden, wenn ausreichende HEV-Mengen in den Ausgangsmaterialien waren. Auch auf Oberflächen zeigt sich das Virus sehr stabil. Eine strikte Beachtung von Hygienemaßnahmen bei der Herstellung und Zubereitung von Lebensmitteln erscheint deshalb wichtig, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

2.13 Stabilität verschiedener humanpathogener Viren auf Glas und deren Inaktivierung während des manuellen Spülprozesses von Trinkgläsern

Dr. Katja Schilling-Loeffler, Dr. Alexander Falkenhagen, Prof. Dr. Reimar Johne
Bundesinstitut für Risikobewertung, Abteilung Biologische Sicherheit, Fachgruppe Viren in Lebensmitteln

Mit Viren verunreinigte, unzureichend gereinigte Trinkgläser könnten ein Übertragungsrisiko für den Verbraucher darstellen, da Gläser beim Trinken in direktem Kontakt mit dem Mund und der Mundhöhle stehen. Daher widmet sich diese Studie der Stabilitätsuntersuchung von Viren auf Glas sowie deren Inaktivierung mit handelsüblichen Handgeschirrspülmitteln und während des Spülvorgangs in einem manuellen Gläserspülgerät. Diese Untersuchungen werden mit den behüllten Viren humanes Herpesvirus 1 (HSV-1) und humanes Coronavirus 229E (HCoV 229E) sowie den unbehüllten Viren murines Norovirus und Hepatitis A Virus durchgeführt. Die Infektiosität der Viren nach den Stabilitätsuntersuchungen wird mittels Plaque Assay ermittelt.

Infektiöses HCoV 229E und HSV-1 wurden jeweils über einen Zeitraum von 7 Tagen bei einer Lagerung im Tageslicht und 21 Tagen bei einer Lagerung in der Dunkelheit nachgewiesen. Eine Titerreduktion von $>4 \log_{10}$ wurde nach der Inkubation mit zwei gängigen Handgeschirrspülmitteln bei Raumtemperatur beim HCoV 229E nach 15 s und beim HSV-1 nach 60 s beobachtet. Mit einem dritten Handgeschirrspülmittel war eine Inkubation bei 43 °C für 60 s notwendig, um eine ähnliche Titerreduktion beider Viren zu erreichen. Darüber hinaus wurden HCoV 229E und HSV-1 mit einem manuellen Gläserspülgerät nach DIN 6653-3 vollständig von künstlich kontaminierten Trinkgläsern entfernt.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass behüllte Viren Tage bis Wochen auf einer Glasoberfläche infektiös bleiben können. Gleichzeitig deuten die Ergebnisse darauf hin, dass herkömmliche manuelle Spülverfahren behüllte Viren effizient von Trinkgläsern entfernen können. Die Stabilitäts- und Inaktivierungsuntersuchungen für die unbehüllten Viren werden derzeit noch durchgeführt und in Kürze abgeschlossen.

2.14 Oberflächenstabilität von SARS-CoV-2 auf Euromünzen und -geldscheinen – Übertragungsrisiko durch Bargeld?

Dr. Daniel Todt^{1,2}, Dr. Toni Luise Meister¹, John Howes³, Dr. Florian H. Brill⁴, Mark Wind⁵, Jack Schijven^{6,7}, Jörg Steinmann⁸, Eike Steinmann¹

¹ Abteilung für Molekulare & Medizinische Virologie, Ruhr-Universität Bochum

² European Virus Bioinformatics Center (EVBC), Jena

³ Europäische Zentralbank (EZB), Frankfurt am Main

⁴ Dr. Brill + Partner GmbH Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Bremen

⁵ Cash Policy Department, De Nederlandsche Bank, Amsterdam, The Netherlands

⁶ Department of Statistics, Informatics and Modeling, National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands

⁷ Department of Earth Sciences, Utrecht University, The Netherlands

⁸ Institut für Klinikhygiene, medizinische Mikrobiologie und klinische Infektiologie, Paracelsus Medizinische Privatuniversität Klinikum Nürnberg

Die derzeitige Pandemie des severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) stellt eine erhebliche Bedrohung für die globale Gesundheit dar. Während Aerosole oder Tröpfchen aus der Atemluft als Hauptübertragungsweg von Menschen zu Menschen gelten, können von infizierten Personen ausgeschiedene Sekrete auch Oberflächen und Gegenstände kontaminieren, so dass die Gefahr einer Übertragung durch diese besteht. Folglich wurden häufig berührte Gegenstände wie Papiergeld und Münzen als potenzielle Übertragungswege vermutet. Um das Risiko einer SARS-CoV-2-Übertragung durch Banknoten und Münzen zu bewerten, untersuchten wir die Stabilität von SARS-CoV-2 und des bovinen Coronavirus als Surrogat mit geringeren Biosicherheitseinschränkungen auf diesen verschiedenen Zahlungsmitteln und entwickelten eine Methode, um die Übertragungseffizienz von kontaminierten Oberflächen auf die Fingerspitzen zu untersuchen. Obwohl wir eine verlängerte Virusstabilität beobachtet haben, deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass eine Übertragung von SARS-CoV-2 über kontaminierte Münzen und Banknoten unwahrscheinlich ist und hohe Viruslasten sowie eine Abfolge bestimmter Ereignisse erfordert.

3 Verzeichnis der Autorinnen und Autoren

Althof, Nadine	15	Meister, Toni Luise	20
Anheyer-Behmenburg, Helena E.	11	Moor, Dominik	10
Bächlein, Christine	14	Müller-Graf, Christine	11
Becher, Paul	14	Niendorf, Sandra	8
Binder, Alfred	11	Pischke, Sven	13
Bock, Claus-Thomas	8	Schemmerer, Mathias	11
Brill, Florian H.	20	Schijven, Jack	20
Brogden, Sandra	11	Schilling-Loeffler, Katja	11, 19
Burow, Elke	12	Schotte, Ulrich	11
Dubbert, Tamino	12	Smith, Richard P.	12
Falkenhagen, Alexander	17, 19	Steinmann, Erik	20
Gremmel, Nele	14	Steinmann, Jörg	20
Günther, Taras	18	Szabo, Kathrin	11
Guyader, Soizick Le	7	Taube, Stefan	16
Howes, John	20	Todt, Daniel	20
Jacobsen, Sonja	8	Trojnar, Eva	15
Johne, Reimar	11, 14, 15, 17, 18, 19	Wenzel, Jürgen	9
Kehrenberg, Corinna	11	Wenzel, Jürgen J.	11
Keuling, Oliver	14	Wichmann-Schauer, Heidi	17
Klein, Günter	11	Wind, Mark	20
Martin, Annett	11	Wolff, Alexander	18
Mas Marques, Andreas	8		