

Einfluss technologischer Prozesse auf die Inaktivierung und Tenazität von Norovirus in Lebensmitteln

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle I:	Hochschule Ostwestfalen Lippe FB Life Science Technologies Labor Mikrobiologie Prof. Dr. B. Becker
Industriegruppen:	Lemgoer Arbeitskreis Fleisch und Feinkost e.V., Lemgo
	Projektkoordinator: H. Eiben Dr. August Oetker Nahrungsmittel KG, Bielefeld
Laufzeit:	2007 – 2009
Zuwendungssumme:	€ 253.850,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Die häufigste Ursache für Gastroenteritiden beim Menschen in den industrialisierten Ländern ist die Norovirus-Infektion. Primär und sekundär kontaminierte Lebensmittel sind als Übertragungs-Medien von Noroviren bekannt. Hinsichtlich der Überdauerungsfähigkeit (Tenazität) von Noroviren in Lebensmitteln liegen aber bislang keine umfassenden studiengestützten Daten vor. Ziel des Forschungsvorhabens war es, mittels quantitativer real-time RT-PCR Aussagen darüber treffen zu können, ob und in welchem Umfang Noroviren im Rahmen technologischer Prozesse im Lebensmittel inaktiviert werden. Dazu musste im Vorfeld der Inaktivierungsstudien ein geeigneter Workflow zur effizienten Aufreinigung von Noroviren aus Lebensmitteln und ein robustes real-time PCR-basiertes Detektionssystem entwickelt werden.

Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurden ausgewählte Lebensmittel (Convenience-Produkte, Feinkost, Fleisch, Salat, Früchte) artifiziert mit einer definierten Anzahl humanem Norovirus inokuliert und lebensmitteltechnologischen Prozessen (z. B. Erhitzung, Kühlung, Einfrieren etc.) unterzogen. Durch den Vergleich der Noroviren-Zahlen von Lebensmittelproben „vor“ und „nach“ der Behandlung ergab sich die

Inaktivierung. Die Norovirus-Detektion und Quantifizierung erfolgte im Rahmen dieser Studie mittels quantitativer real-time RT-PCR unter Verwendung eines optimierten TaqMan Primer-/Sondensystems und einer externen Standardkurve, die auf einem rekombinanten RNA-Standard basierte. Mittels des Frameworks „CAmpER“ konnte eine standardisierte Ermittlung der Ct-Werte aus den real-time RT-PCR-Läufen durchgeführt werden. Damit konnte die Vergleichbarkeit der PCR-Daten aus unterschiedlichen Läufen optimiert werden. Die Nachweisgrenze des Systems betrug < 10 Viren/PCR-Ansatz, das entspricht ca. 400 Viren/mL Retentat. Durch eine der PCR vorgeschaltete RNA-Degradation mittels RNase-Verdau wurde sichergestellt, dass in den Inokulationsstudien ausschließlich RNA aus intakten Viruspartikeln detektiert wurde. An unterschiedlichen Stellen des entwickelten Workflows (von der Virusextraktion bis zum real-time PCR-Nachweis) wurde mit Kontrollen zur Ermittlung falsch-positiver (z. B. Extraktionsnegativkontrolle, Amplifikationsnegativkontrolle) und falsch-negativer (z. B. interne MS2-Prozesskontrolle, Amplifikationskontrolle) Ergebnisse gearbeitet. Neben der Verifizierung lieferten die Kontrollen Informationen über die Effizienz und Reproduzierbarkeit der Virusextraktion und darüber, ob und in welchem Maße eine Lebensmittelmatrix die real-time PCR inhibierte.

Es konnte gezeigt werden, dass lebensmitteltechnologische Prozesse, wie z. B. Kühlung, Kryokonservierung, Säuerung und moderate Hitzebehandlung (Pasteurisierung), ineffizient sind, um humanes Norovirus in einer Lebensmittelmatrix oder auf der Oberfläche zu inaktivieren. Hitzebehandlungen, wie Backen, Kochen, Braten, führten in Lebensmittelprodukten, wie Pizza und Hackfleisch, zu deutlichen Reduktionen bzw. vollständigen Inaktivierungen der inokulierten Noroviren. Zusätzlich wurde festgestellt, dass Lebensmittel spezifische protektive Effekte und die Prozessführung Einfluss auf die Inaktivierung von Noroviren in einem Lebensmittel haben kann.

Das Vorhaben beinhaltet die erste systematische und umfangreiche quantitative Datenermittlung mit infektiösen humanen Noroviren bezüglich Einfluss technologischer Prozesse auf die Tenazität und Stabilität in verschiedenen Lebensmitteln. Dieser Ansatz könnte möglicherweise anwendbar sein auch auf andere enterische RNA-Viren, die lebensmittelassoziiert und nicht-kultivierbar sind.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Die im Forschungsprojekt etablierte Methode und die ermittelten Daten können von der Lebensmittelindustrie zur Prozessoptimierung bezüglich Noroviren-Inaktivierung in Lebensmitteln genutzt werden und dazu beitragen, eine Risikobewertung hinsichtlich eines verbesserten Verbraucherschutzes zu ermöglichen.

Der entwickelte Workflow erlaubt es für eine Vielzahl unterschiedlicher Lebensmittel, das gleiche Untersuchungsverfahren anzuwenden. Auf Basis dieses Workflows können Inokulationsstudien für unterschiedliche Lebensmittel schnell und zuverlässig durchgeführt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass es keine Aussage zur Hitzeinaktivierung von Norovirus in Lebensmitteln gibt, die gleichermaßen für alle Produkte gilt, da die Zusammensetzung des Produktes sowie die Erhitzungstemperatur und die Einwirkungsdauer einen erheblichen Einfluss haben.

Auf Basis des entwickelten Workflows können Dienstleistungslaboratorien Lebensmittel produzierenden Unternehmen individuelle, produktspezifische „NV-Challenge-Tests“ (Beimpfungsversuche) anbieten und somit ihr Dienstleistungsportfolio erweitern.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2009.
2. Becker, B. und Mormann, S.: Humanes Norovirus – Nachweis und Stabilität. FOOD-Lab 5-6, 30-33 (2012).
3. Mormann, S. und Becker, B.: Humanes Norovirus in Lebensmitteln – Übertragung und Inaktivierung. Rundsch. Fleischhyg. Lebensmittelüberwach. 3, 84-85 (2010).
4. Mormann, S., Dabisch, M. und Becker, B.: Effects of technological processes on the tenacity and inactivation of Norovirus GGI in experimentally contaminated foods. Appl. Env. Microbiol. 79, 536-545 (2010).
5. Becker, B.: Einfluss technologischer Prozesse auf die Inaktivierung und Tenazität von Norovirus in Lebensmitteln. Tagungsband 67. FEI-Jahrestagung 2009, 79-94 (2010).

Weiteres Informationsmaterial:

Hochschule Ostwestfalen Lippe
 Fachbereich Life Science Technologies
 Labor Mikrobiologie
 Liebigstr. 87, 32657 Lemgo
 Tel.: +49 5261 702-296
 Fax: +49 5261 702-404
 E-Mail: barbara.becker@fh-luh.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
 Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
 Tel.: +49 228 3079699-0
 Fax: +49 228 3079699-9
 E-Mail: fei@fei-bonn.de

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

gefördert durch/via:

