

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 97 (2006)
Heft: 1

Artikel: Norovirus
Autor: Becker, Barbara
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982018>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 18.01.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Norovirus*

Barbara Becker, Fachhochschule Lippe und Höxter, Lemgo, Deutschland

Zu den durch Lebensmittel übertragbaren Viren gehören Norovirus, Sapovirus, Adenovirus, Rotavirus, Hepatitis A-Virus, Hepatitis E-Virus (wasserassoziiert), Enterovirus, Astrovirus sowie Frühsommermeningoenzephalitis-Virus (FSMEV).

Die grösste Bedeutung bei der alimentären Virenübertragung haben Muscheln. Als Überträger der Viren wurden weiterhin eine Vielzahl verschiedener Lebensmittel beschrieben (z.B. Obst, Gemüse, Fruchtsaft, Sandwiches, Salate, Backwaren, Speiseeis, Rohmilch), die kontaminiert und anschließend nicht ausreichend erhitzt wurden. Eine Übertragung der Viren auf Früchte und Gemüse kann durch kontaminiertes Wasser bereits auf dem Feld oder im Rahmen der Verarbeitung erfolgen. Häufig erfolgt die Kontamination der Lebensmittel mit humanpathogenen Viren jedoch am Ende der Verarbeitungskette, z.B. bei der Zubereitung direkt vor Abgabe an den Endverbraucher. Krankheitsfälle wurden ausgelöst, indem pathogene Viren in Backwaren und Speiseeis während der Herstellung eingebracht wurden (1, 2). Ob und unter welchen Bedingungen Viren in Lebensmitteln überdauern können, ist nicht systematisch untersucht. Ebenso fehlen Daten zur Virusinaktivierung im Rahmen lebensmitteltechnologischer Prozesse. Standardisierte Methoden zum Nachweis von Viren in Lebensmitteln stehen nicht zur Verfügung.

Norovirus kommt ubiquitär vor, ist hoch kontagiös und verursacht grosse internationale Ausbrüche von Gastroenteritiden. Norovirus entwickelte sich in den letzten Jahren zum Hauptverursacher von gastrointestinalen Infektionen in UK, den USA und Deutschland. Norovirus zählt in Deutschland neben *Salmonella*, *Campylobacter* und Rotavirus zu den vier häufigsten meldepflichtigen Erregern infektiöser Gastroenteritis.

Erreger

Norovirus gehört zur Familie der *Caliciviridae*, die in 4 Genera unterteilt wird. Humanpathogene Viren, die beim Menschen Durchfallerkrankungen verursachen, werden den Gattungen Norovirus und Sapovirus, die tierpathogenen Erreger den Genera Vesivirus (z.B. felines Calicivirus; FCV) und Lagovirus zugeordnet. Inner-

*Vortrag gehalten an der 38. Arbeitstagung der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittelhygiene (SGLH) in Zürich, 16. September 2005.

halb der Gattung Norovirus sind zusätzlich tierpathogene Arten, wie z.B. Porcine-Enteric-Calicivirus und murines Norovirus 1 (MNV-1), bekannt.

1972 konnten Kapikian (3) und seine Mitarbeiter erstmalig SRSV (small round structured viruses) im Elektronenmikroskop darstellen. Das Viruspartikel ist 27 bis 40 nm gross und weist eine ikosaedrische Form auf, die im elektronenmikroskopischen Bild tassenförmig erscheint und aufgrund dessen die Namensgebung Calicivirus (*griech.* kalyx, Kelch) erfolgte. Ein aus 180 Kopien eines Strukturproteins bestehendes Kapsid umschliesst ein einzelsträngiges Plusstrang-RNA-Genom mit 7400 bis 8300 Nukleotiden. Ein Grund für die hohe Stabilität des Norovirus in Bezug auf Umwelteinflüsse ist das Fehlen einer Virushülle.

Noroviren weisen eine ausgeprägte Genomvariabilität auf und werden bisher in fünf Genogruppen GG I–V (umfassend 29 Cluster) unterteilt. Humanpathogen sind GG I, GG II und GG IV. Zur Variabilität trägt die viruseigene RNA-Polymerase bei, der im Gegensatz zu vielen anderen Polymerasen eine Korrekturfunktion fehlt. Falsch eingebaute Nukleotide führen somit zu Mutationen und bedingen u.a. die hohe genetische Diversität (4).

Epidemiologie

In den USA verursachen Noroviren pro Jahr 23 Millionen Gastroenteritis-Erkrankungen (4–7). Eine epidemiologische Studie des Centers of Disease Control and Prevention (CDC) belegt, dass in den USA 47% der Norovirus-Ausbrüche lebensmittelassoziiert sind (8). Schätzungen aus den USA gehen davon aus, dass in 21–40% aller Norovirus-Erkrankungen die Virusübertragung lebensmittelassoziiert erfolgte (5, 6). In Europa wurden in der Zeit von 1995–2000 mehr als 85% der nicht bakteriell bedingten Gastroenteritis-Ausbrüche durch Noroviren verursacht (9). Dabei wurden ca. 12–16% aller Norovirus-Ausbrüche durch kontaminierte Speisen und Getränke hervorgerufen (10).

Seit 2001 ist in Deutschland jeder Labornachweis von Norovirus sowie jede Häufung von Krankheitsfällen, bei denen Norovirus als Ursache vermutet wird, nach Infektionsschutzgesetz meldepflichtig. Die Datenerhebung belegt, dass die Anzahl der Norovirus-Erkrankungen in Deutschland seit 2001 rapide angestiegen ist (Tab. 1). Bis zur 40. Woche 2005 wurden dem RKI (Robert Koch-Institut, Berlin) 53.578 Norovirus-Erkrankungsfälle gemeldet (11).

Tabelle 1

Norovirus-Erkrankungsfälle in der Bundesrepublik Deutschland: Anzahl und Inzidenz (pro 100000 Einwohner); k.A.: keine Angabe; Quelle: RKI, Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Infektionskrankheiten für 2001, 2002, 2003 und 2004

Jahr	Norovirus-Erkrankungsfälle	Inzidenz
2001	9273	11,2
2002	50764	61,6
2003	41716	50,5
2004	64893	78,6

Norovirusähnliche Sequenzen wurden aus dem Kot von Kälbern und Schweinen amplifiziert (12). Dies könnte auf ein bisher nicht nachweisbares zoonotisches Potential hinweisen. Die Krankheit tritt im gesamten Jahresverlauf auf, zeigt jedoch einen ausgeprägten saisonalen Gipfel in den Wintermonaten. Diese epidemiologische Auffälligkeit deutet auf eine Relevanz der aerogenen Transmission bei Noroviren hin, wie sie auch bei anderen Viren, z.B. Influenza, beobachtet wird (13). Neben der aerogenen spielt die fäkal orale Übertragung sowie die über kontaminierte Lebensmittel, Trinkwasser oder Bedarfsgegenstände eine Rolle. Infizierte Personen können bei Nichteinhalten der Hygienemaßnahmen über Erbrochenes und den Stuhl ausgeschiedene Noroviren in Lebensmittel einbringen oder Oberflächen von Bedarfsgegenständen kontaminieren. Im Rahmen einer epidemiologischen Aufarbeitung von Krankheitsausbrüchen wurde eine Vielzahl von kontaminierten Lebensmitteln, z.B. Muscheln, Eis, grüner Salat, Obstsalat, Kartoffelsalat, Himbeeren, gekochter Schinken, Sandwiches, Melonen, Gebäck, als Infektionsquelle identifiziert (14).

Die epidemiologische und volkswirtschaftliche Bedeutung dieser Infektionskrankheit wurde vor allem durch die Noroviruspandemie im Winter 2002/2003 deutlich. Auch in den Jahren 2004 und 2005 wurden zahlreiche Krankheitsausbrüche in Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen, z.B. Kreuzfahrtschiffen, Krankenhäusern, Kindertagesstätten und Altenheimen, beobachtet. Krankheitsausbrüche wurden in Zusammenhang gebracht mit prä-symptomatischen, symptomatischen und bereits genesenen Beschäftigten im Lebensmittelbereich (15, 16, 17).

Die Ausscheidung der Erreger nach Genesung und deren Übertragung durch Lebensmittel konnte in mehreren Ausbruchuntersuchungen in einen ursächlichen Zusammenhang gesetzt werden. Als Virusüberträger konnten Lebensmittel identifiziert werden, die von Personen 24–48 Std. bzw. bis zum vierten Tag nach deren Genesung zubereitet wurden (17, 18). Noroviren konnten im Stuhl noch nach 10 symptomfreien Tagen nachgewiesen werden (4). Die Ausscheidung der Viren im Stuhl erfolgt frühestens 15 Std. nach der Ansteckung und kann sich auf einen Zeitraum von 7–14 Tagen nach Ende der symptomatischen Phase erstrecken (19, 20).

Im Rahmen von Hygieneschulungen müssen Beschäftigte in lebensmittelproduzierenden oder -verarbeitenden Unternehmen sowie Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen hinsichtlich des Ausscheidens viraler infektiöser Erreger über den Stuhl auch nach Abklingen der Krankheitssymptome besonders informiert werden. Maßnahmen zur effektiven Händehygiene müssen definiert und geschult werden.

Krankheitsbild

Das Krankheitsbild einer Norovirusinfektion zeigt 3 typische Symptome (Diarrhö, Übelkeit, Erbrechen). Die Erkrankung kann zudem einhergehen mit Muskel- und Gliederschmerzen, abdominalen Krämpfen und leichtem Fieber. Die Inkubationszeit beträgt 6–48 Stunden. Die Krankheitsdauer beläuft sich auf 2–3 Tage, wobei die akuten Symptome bereits nach 12 Stunden abklingen können (13). Durch eine Infektion wird keine Langzeitimmunität erreicht (4). Eine Impfung steht nicht zur Verfügung.

Pathogenese

Die Pathogenese der humanen Calicivirusinfektion ist weitestgehend unklar. Als Zielzellen für Noroviren werden reife Enterocyten vor allem an den Zottenspitzen in Betracht gezogen. *Hutson et al.* (21) zeigten, dass Noroviren über spezifische Kohlenhydrate, die in ABH- und Lewis-Blutgruppenantigenen vorkommen, an die Epithelzellen binden. Der Schutz einiger Personen vor Infektion wird mit dem Fehlen des Rezeptors für Norovirus in Verbindung gebracht (22). Durch das Fehlen einer Zellkultur zur gezielten Anzucht von Noroviren wird die Forschung auch auf diesem Gebiet erschwert.

Medizinische Diagnostik

Während der akuten Phase der Infektion lassen sich die Viruspartikel in Stuhlproben direkt elektronenmikroskopisch nachweisen. Im Rahmen der medizinischen Diagnostik erfolgt jedoch vor allem der Erregernachweis bzw. der Nachweis viraler Ribonukleinsäure (RNA) im Stuhl oder im Serum mittels molekularbiologischer Verfahren (polymerase chain reaction; PCR), die sich durch eine hohe Sensitivität und Spezifität auszeichnen. Eine Sequenzierung der Amplifikate liefert zudem Informationen über genomische Differenzierung von Noroviren und damit Informationen zur Aufklärung von Ausbrüchen und Übertragungswegen. Der Nachweis von Norovirus-Antigenen im Stuhl kann zudem über Enzym-Immunoassays geführt werden. Eine Zellkultur zum Nachweis von Noroviren ist nicht etabliert.

Lebensmitteluntersuchung

Die in der medizinischen Diagnostik Anwendung findenden Methoden sind nicht ohne weiteres auf die Lebensmitteldiagnostik übertragbar. Es ist davon auszugehen, dass die Viruszahlen im Lebensmittel sehr gering sind und somit hohe Anforderungen an die Sensitivität der Methode gestellt werden müssen. Elektronenmikroskopische und immunologische Methoden erfüllen die Sensitivitätsanforderungen nicht. In Ermangelung einer Zellkultur zum Nachweis von Norovirus, die den Sensitivitäts- und Spezifitätsansprüchen genügen würde, finden zum Nachweis von Viren in Lebensmitteln molekularbiologische Verfahren (PCR, real-time PCR) Verwendung, die jedoch keine Abgrenzung zwischen infektiösen und nicht infektiösen Viren erlauben. Es sind jedoch Methoden in der Entwicklung, die darauf abzielen, positive PCR Befunde inaktiver Viren zu unterdrücken.

Trotz intensiver Aktivitäten ist eine Zellkultur für die Anzucht von Noroviren bisher nicht bekannt. *Duizer et al.* (24) inokulierten 27 verschiedene Zellkulturen mit Norovirus-Isolaten, die aus an Gastroenteritis erkrankten Patientenstühlen gewonnen und vorab durch PCR bestätigt wurden. Die Stühle wurden negativ befundet in Hinblick auf Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus und Enterovirus. In den Zellkulturen wurden keine reproduzierbaren Norovirus-induzierten cytopathischen Effekte beobachtet, d.h. eine geeignete Zellkultur für Norovirus konnte nicht gefunden werden.

Das erste Zellkultursystem für MNV-1 beschrieben *Wobus et al.* (25). Es konnte gezeigt werden, dass MNV-1 Makrophagen-ähnliche Zellen infizieren und sich in dendritischen Zellen und Makrophagen vermehren. Vergleichbare Ergebnisse für humanpathogene Noroviren liegen bisher nicht vor. *Taube et al.* (23) berichten von einem alternativen System zur Gewinnung von Norovirus-like-particles in HEK-293T (human endothelial kidney cell line).

Der Nachweis von Norovirus in Lebensmitteln unter Anwendung der PCR ist kompliziert aufgrund der komplexen nicht einheitlichen Probenmatrix, durch das Auftreten von Amplifikationsinhibitoren und aufgrund des geringen zu erwartenden Virustiters. Beim Nachweis von Norovirus in Lebensmitteln mittels PCR steht eine effektive Probenaufarbeitung im Vordergrund, die die Lebensmittelmatrix berücksichtigt. Für verschiedene Matrices werden unterschiedliche Probenaufbereitungen beschrieben (26). So wird bei Muscheln das gesamte Muschelfleisch oder der Hepatopankreas homogenisiert (27). Bei kleinen Muschelarten ist die Isolierung des Hepatopankreas nicht möglich.

Von Lebensmitteln mit festen Oberflächen (z.B. Obst und Gemüse), Fleischstücken, Wurstscheiben oder Lebensmittelverpackungen und Bedarfsgegenständen werden die Viren mittels Tupfern isoliert. Dazu wird ein mit Phosphatpuffer angefeuchteter Tupfer mit definiertem Druck über die Oberfläche (10–20 cm²) geführt und anschliessend in einem Reaktionsgefäss in 500 µl PBS eluiert. Der Tupfer ist mit grösster Sorgfalt auszuwaschen, indem er intensiv gegen die Wand des Probengefässes gedrückt wird. Mit diesem Tupfer kann ein weiteres Teilstück der Produktoberfläche beprobt und so eine Aufkonzentrierung der Viren erzielt werden. Aus der virushaltigen PBS-Lösung wird die virale RNA mit einem kommerziellen Kit oder nach jedem anderen Protokoll (28) extrahiert (26).

Mäde und Kahle (29) beschreiben zum Nachweis von humanen Caliciviren aus zerkleinerten Lebensmitteln wie Hackfleisch, Salaten oder Früchten mit weichen Oberflächen (z.B. Himbeeren) folgendes Verfahren: 5 g des Produktes werden mit 5–10 ml PBS versetzt und in einem Stomacherbeutel mit Filter mehrfach innerhalb des Elutionszeitraumes von 24–48 Std. (4°C) mit der Hand gewalkt. Den Lebensmitteln anhaftende Viren werden auf diese Weise «abgewaschen» ohne die übermässige Freisetzung von Lebensmittelbestandteilen, die die weiteren Präparationschritte stören. Es schliesst sich eine Zentrifugation zur Abtrennung grober Bestandteile (1000 xg, 10 Min.) an. Der Überstand wird mit einem 0,2 µm Spritzenfilter gereinigt und in einem Zentrifugalkonzentrator (3000 xg, 20–120 Min., 15°C) bis zu einem Volumen von 150 µl aufkonzentriert. Die Isolierung der viralen RNA aus der Viruslösung kann mittels BOOM-Extraktion (28) oder kommerziell erhältlicher Kits nach Herstellerangaben erfolgen.

Zum Nachweis von Noroviren stehen konventionelle und real time PCR-Systeme zur Verfügung. Ein konventionelles PCR-System basiert auf einer one-step reverse transcription (RT)-PCR mit den Primern MON 431, MON 432, MON 433 und MON 434 (30, 31). Real time PCR basierte Verfahren zum Nachweis von

Noroviren wurden u.a. von *Kageyama et al.* (32), Höhne and Schreier (33), *Nishida et al.* (34), Beuret (35), *Loisy et al.* (36) beschrieben. 2004 wurde im Rahmen eines Ringversuches der «Arbeitsgruppe Lebensmittelassoziierte Viren» (ALV) die Leistungsfähigkeit der konventionellen PCR mit einem real time PCR System in Hinblick auf den Nachweis von GG I und GG II nach Tupferprobennahme verglichen. Die prozentualen Wiederfindungsraten sind in Tab. 2 dargestellt und zeigen, dass die konventionelle PCR in Hinblick auf den Nachweis von GG I und GG II über eine höhere Sensitivität verfügt (37).

Tabelle 2

Wiederfindung von Noroviren auf artifiziell kontaminierten Tupferproben durch konventionelle PCR sowie durch real time PCR

PCR-System	GG I (180 PCR-units)	GG I (18 PCR-units)	GG II (200 PCR-units)	GG II (20 PCR-units)
konventionell	87,50 %	62,50 %	100 %	100 %
real time	85,71 %	42,86 %	100 %	85,71 %

Die real time PCR weist zz. neben der im Vergleich zur konventionellen PCR geringeren Sensitivität die Schwächen auf, dass unbekannte Virusvarianten nicht detektiert werden und ohne weiterführende Untersuchungen keine epidemiologische Zuordnung erfolgen kann. Eine Verifizierung der Ergebnisse der konventionellen PCR durch Sequenzierung der Amplifikate kann diese Nachteile erheblich einschränken. Eine Überprüfung der PCR-Produkte durch Restriktion mit zwei Restriktionsendonukleasen erscheint aufgrund der Heterogenität der Noroviren ohne praktikable Relevanz. Bei der real time PCR hingegen werden zwei Primer und gleichzeitig eine fluoreszenzfarbstoffmarkierte Gensonde eingesetzt. Somit erfolgt die Verifizierung der PCR-Produkte aufgrund der Sondenhybridisierung schon während der Amplifikation.

Das Mitführen einer Amplifikationskontrolle ist jedoch unerlässlich, um auf das Vorhandensein möglicher Inhibitoren zu prüfen, die ein falsch negatives Untersuchungsergebnis bedingen können. Zur Erkennung der Inhibition der enzymatischen Reaktionen entwickelten *Dreier et al.* (38) ein System, das auf dem Nachweis von MS2 Phagen RNA beruht und sowohl im Rahmen der konventionellen als auch der real time PCR eingesetzt werden kann.

Inaktivierung

Mittels PCR wiesen *Barker et al.* (39) die typischen Wege einer Norovirus-Schmierinfektion nach. Noroviren gelangten von belasteten Faekalien über Finger und Wischtücher auf andere Oberflächen wie z.B. Türgriffe und Telefonhörer. Ausgehend von kontaminierten Fingern können bis zu 7 weitere saubere Oberflächen kontaminiert werden. Eine intensive Händehygiene mit geeigneten Desinfektionsmitteln ist angezeigt.

Gehrke et al. (40) zeigten in Inaktivierungsstudien mit FCV unter Verwendung von Ethanol, 1-Propanol und 2-Propanol, dass bei Verwendung von 50 %igem und 70 %igem Ethanol eine Reduktion von $\geq 4 \log_{10}$ erst nach 3 Min. erreicht wird. Mit 1-Propanol (50 %ig und 70 %ig) ist eine Reduktion von $\geq 4 \log_{10}$ bereits nach 0,5 Min. möglich. Unter Berücksichtigung der in Stuhlproben vorkommenden hohen Viruszahlen von $>10^{10}/g$ sowie der geringen Infektionsdosis von 10 bis 100 Virionen erscheint eine Desinfektion unter Einsatz von Alkoholen als nicht ausreichend wirksam. Es wird diskutiert, zur Händedesinfektion Mittel auf Halogenbasis einzusetzen und zur Flächendesinfektion Präparate mit Chlor, Perverbindungen, Formaldehyd oder Phenol zu verwenden.

Gulati et al. (41) führten Untersuchungen zur Inaktivierung von Calicivirus auf Lebensmittelkontaktflächen (Edelstahl) durch. Keines der eingesetzten Mittel zeigte Wirksamkeit in der vom Hersteller angegebenen Konzentration und Einwirkzeit. Desinfektionsmittel mit phenolischen Komponenten inaktivierten FCV auf Kontaktflächen vollständig, wenn sie in doppelter bzw. vierfacher Konzentration eingesetzt wurden. Durch Waschen mit Wasser konnte der Virustiter um $2 \log_{10}$ reduziert werden.

Hinsichtlich der Inaktivierung von Norovirus in Lebensmitteln gibt es keine verlässlichen Daten. Systematische Untersuchungen unter Berücksichtigung der protektiven Wirkung verschiedener Lebensmittel liegen nicht vor. Die wenigen Untersuchungen zur Stabilität von *Caliciviridae* in Lebensmitteln wurden mit FCV durchgeführt. Pasteurisation bei 70°C für 2 Min. führt in gekochtem Fleisch zu einer Reduktion von $>3 \log_{10}$ (42). Humane *Caliciviridae* können durch Erhitzung (90°C >1 Min.) inaktiviert werden (Lopman et al., 2002). Durch Sprüh- und Gefriertrocknung von Milch und Suppen sowie durch Einfrieren von Eiscreme und gefrorenen Frucht-desserts wird die Anzahl von FCV um $<1 \log_{10}$ reduziert (42, 43).

Aktivitäten

In den vergangenen Jahren bildeten sich eine Reihe nationaler und europäischer Arbeitsgruppen, die sich mit dem Thema «Foodborne viruses» unter verschiedenen Gesichtspunkten beschäftigen. Im Dezember 2003 gründete sich auf nationaler Ebene die «Arbeitsgruppe Lebensmittelassoziierte Viren» (ALV). Die interdisziplinäre Forschergruppe beschäftigt sich mit der Entwicklung von Methoden zum Nachweis von Viren in Lebensmitteln und Umgebungsproben. Sie organisiert Workshops und Ringversuche und versteht sich als Ansprechpartner für die Lebensmittelindustrie und interessierte Kreise. Mit der Entwicklung und Standardisierung einer Methode zum Nachweis von Viren in Lebensmitteln beschäftigt sich seit April 2005 die §35 LMBG Unterarbeitsgruppe «Nachweis von Viren in Lebensmitteln» der Arbeitsgruppe «Molekularbiologische Methoden-Mikrobiologie». 2004 bildete der DIN-Arbeitsausschuss «Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschliesslich Schnellverfahren» eine Fachgruppe «Lebensmittelassoziierte Viren».

Auf europäischer Ebene entwickelt die CEN/TC 275 TAG 4 – «Detection of viruses in food» eine Standardmethode zum Nachweis humanpathogener Viren in Lebensmitteln. In den genannten Gruppen bezieht sich die Entwicklungsarbeit zz. primär auf den Nachweis von Norovirus und Hepatitis A Virus in Lebensmitteln. Das Konsortium «Food Borne Viruses in Europe» arbeitet seit 2003 u.a. am Aufbau einer zentralen Datenbank, der Entwicklung von Methoden zum Nachweis von «foodborne viral pathogens» sowie der Identifizierung von «high-risk» Lebensmitteln und Infektionswegen. Das European Network of Environmental Virology gründete sich 2004 und umfasst 6 Arbeitsgruppen, die als Zielsetzung die Entwicklung eines globalen Netzwerkes und einer Kommunikationsplattform verfolgen. Eine «List of Food Virologists» sowie eine «Virus Library» wird vom WHO Collaborating Center on Food Virology, University of California, Davis, herausgegeben. Das CDC stellt mit dem «CaliciNet/IDMEDS» ein Netzwerk verschiedener Laboratorien, ein Webboard sowie eine Sequenzdatenbank (<http://idmeds.forum.cdc.gov>) zur Verfügung.

Zusammenfassung

Norovirus ist hoch kontagiös und die Ursache für weltweite Ausbrüche von Gastroenteritiden. Im Zeitraum von 2001–2004 stieg in Deutschland die Anzahl an Noroviruserkrankungen von 9300 auf 64 900 Fälle an. Die Virusübertragung erfolgt durch Aerosole oder fäkal-oral, durch Lebensmittel, Trinkwasser und Bedarfsgegenstände. Es ist davon auszugehen, dass bis zu 40% der Norovirusinfektionen lebensmittelassoziiert sind. Krankheitsausbrüche in Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen wurden in Zusammenhang gebracht mit Beschäftigten im Lebensmittelbereich, die präsymptomatisch, symptomlos oder bereits genesen waren. Für vorbeugende Hygienemaßnahmen müssen deshalb wirksame Desinfektionsmittel eingesetzt werden. Zum Nachweis von Norovirus in Lebensmitteln sind standardisierte PCR Methoden (z.B. konventionelle PCR; real time PCR) in der Entwicklung. Ein geeignetes Zellsystem für humane Noroviren steht derzeit nicht zur Verfügung. Weltweit beschäftigen sich zahlreiche Arbeitsgruppen mit der Etablierung zuverlässiger Nachweismethoden, Risk Management Systemen, dem Aufbau von Netzwerken und Kommunikationsplattformen sowie der Erstellung von Datenbanken.

Summary "Norovirus"

Norovirus is a highly infective agent and the most common cause of gastroenteritis outbreaks worldwide. From 2001 to 2004, detection of Norovirus associated diseases increased from 9300 to 64 900 cases reported in Germany. Virus transmission is by aerosols or fecal-oral, by food, drinking water or articles of daily use. Up to 40% of infections by Norovirus estimated to be related to food. Outbreaks in public food serving areas are related to food handlers with pre-symptomatic or mild gastroenteritis, or when they just have been recovered from diseases. There-

fore, efficient working chemical disinfectants against Norovirus have to be used for hygienic preventive maintenance. For detection of Norovirus in food standardized PCR based methods (e.g. conventional PCR; real time PCR) are under development. Even a suitable cell culture system for human Noroviruses is not available. Worldwide a number of laboratories are working on the establishment of reliable detection methods, risk management systems, platforms for networking and communication, or programming databases.

Résumé

Le Norovirus est hautement contagieux et est la cause de nombreuses gastro-entérites dans le monde. De l'année 2001 à 2004, le nombre de pathologie dûe au Norovirus a augmenté de 9300 à 64 900 cas en Allemagne. Le virus se transmet par les aérosols ou par voie fécale-orale, par les aliments, l'eau potable et les objets d'usage quotidien. Il est supposé que jusqu' à 40% des infections au Novovirus sont propagées par les aliments. Quant à l'apparition de la maladie dans les restaurations collectives, la transmission peut avoir lieu entre employés, ceux-ci montrant des présymptômes de la maladie, étant sans symptôme ou bien déjà guéris. Pour les mesures d'hygiène préventives, des désinfectants efficaces doivent donc être mis en oeuvre. Des méthodes PCR standardisées (par exemple la PCR conventionnelle ou la Real Time PCR) sont en cours de développement. Un système de culture cellulaire adapté au Norovirus humain n'est actuellement pas disponible. De nombreux groupes de travail dans le monde s'emploient à l'établissement de méthodes d'analyses fiables, aux systèmes de management des risques, à la construction de réseaux et de plates-formes de communication et à la constitution de banques de données.

Key words

Norovirus, Lebensmittel, Inaktivierung, Amplifikationskontrolle, PCR, Gastroenteritis, Desinfektion

Literatur

- 1 Kuritsky J.N., Osterhol M.T., Greenberg H.B., Korlath J.A., Godes J.R., Hedberg C.W., Forfang J.C., Kapikian A.Z., Mc Cillough J.C. and White K.E.: Norwalk gastroenteritis: a community outbreak associated with bakery product consumption. *Ann Intern Med.* 100, 519–521 (1984)
- 2 Becker B., Prömse B., Krämer J. und Exner M.: Übertragung humanpathogener Viren durch Lebensmittel: Hepatitis A-Epidemie ausgelöst durch Backwaren im Kreis Euskirchen (NRW), *Gesundheitswesen* 58, 339–340 (1996)
- 3 Kapikian A.Z., Wyatt R.G., Dolin R., Thornhill T.S., Kalica A.R. and Chanock R.M.: Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol* 10, 1075–1081 (1972)
- 4 Lopman B.A., Brown D.W. and Koopmans M.: Human caliciviruses in Europe. *J. Clin Virology* 24, 137–160 (2002)

- 5 Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCraig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M. and Tauxe R.V.: Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect Dis.* **5**, 607–625 (1999)
- 6 Glass R.I., Noel J., Ando T., Fankhauser R., Belliot G., Mounts A., Parashar U.D., Bresee J.S. and Monroe S.S.: The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J. Infect Dis.* **181** Suppl. **2**, 254–261 (2000)
- 7 Marshall J.A., Hellard M.E., Sinclair M.I., Fairley C.K., Cox B.J., Catton M.G., Kelly H. and Wright P.J.: Incidence and characteristics of endemic Norwalk-like virus-associated gastroenteritis. *J. Med. Virol* **69**, 5658–578 (2003)
- 8 Koopmans M., von Bonsdorff C.H., Vinjé J., de Medici D. and Monroe S.: Foodborne Viruses. *FEMS Microbiology Reviews* **26**, 87–205 (2002)
- 9 Lopman B.A., Reacher M.H., van Duynhoven Y., Hanon F.X., Brown D. and Koopmans M.: Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995–2000. *Emerg. Infect Dis.* **9**, 90–96 (2003)
- 10 European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, Directorate C, C2-Management of scientific committees; scientific co-operation and network (2002): Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on Norwalk-like viruses. Adopted on 30–31 January 2002
- 11 Epidemiologisches Bulletin, Robert Koch-Institut, Berlin, Ausgabe 43/2005
- 12 van der Poel W.H., van der Heide R., Verschoor F., Gelderblom H., Vinje J., Koopmans M.P.: Norwalk-like calicivirus genes in farm animals. *Emerg. Infect Dis.* **6**, 36–41 (2000)
- 13 Schneider T., Mankertz J., Jansen A., Schreier E. und Zeitz M.: Norovirusinfektion – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. *Deutsches Ärzteblatt* **38**, 2153–2157 (2005)
- 14 Künkel U. und Schreier E.: Caliciviren: Virale Auslöser akuter Gastroenteritiden. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* **45**, 534–542 (2002)
- 15 Iversen A.M., Gill M., Bartlett C.L., Cubitt W.D. and McSwiggan D.A.: Two outbreaks of foodborne gastroenteritis caused by a small round structured virus: evidence of prolonged infectivity in a food handler. *Lancet* **5**, 556–558 (1987)
- 16 Lo S.V., Connolly A.M., Palmer S.R., Wright D., Thomas P.D. and Joynson D.: The role of the pre-symptomatic food handler in a common source outbreak of food-borne SRSV gastroenteritis in a group of hospitals. *Epidemiol Infect* **113**, 513–521 (1994)
- 17 Patterson T., Hutchings P. and Palmer S.: Outbreak of SRSV gastroenteritis at an international conference traced to food handled by a post-symptomatic caterer. *Epidemiol Infect* **111**, 157–162 (1993)
- 18 White K.E., Osterholm M.T., Mariotti J.A., Korlath J.A., Lawrence D.H., Ristinen T.L. and Greenberg H.B.: A foodborne outbreak of Norwalk virus gastroenteritis. Evidence for post-recovery transmission. *Am J. Epidemiol* **124**, 120–126 (1986)
- 19 Graham D.Y., Jiang X., Tanaka T., Opekun A.R., Madore H.P. and Estes M.K.: Norwalk virus infection of volunteers: new insights based on improved assays. *J. Infect Dis.* **170**, 34–43 (1994)
- 20 Okhuysen P.C., Jiang X., Ye L., Johnson P.C. and Estes M.K.: Viral shedding and fecal IgA response after Norwalk virus infection. *J. Int. Dis.* **171**, 566–569 (1995)
- 21 Hutson A.M., Atman R.L. and Estes M.E.: Norovirus diseases: changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends in Microbiology* **12**, 279–287 (2004)
- 22 Lindesmith L., Moe C. and Marionneau S.: Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat. Med.* **9**, 548–553 (2003)
- 23 Taube S., Kurth A. and Schreier E.: Generation of recombinant Norovirus-like particles (VLP) in the human endothelial kidney cell line 293T. *Arch Virol* (2005) (published online)
- 24 Duizer E., Schwab K.J., Neill F.H., Atman R.L., Koopmans M.P.G. and Estes M.K.: Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J. Gen. Virol* **85**, 79–87 (2004)

- 25 Wobus C.E., Karst S.M., Trackray L.B., Chang K.O., Sosnovtsev S.V., Belliot G., Krug A., Mackenzie J.M., Green K.Y. and Virgin IV. H.W.: Replication of Norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. *PloS Biology* 2, 2076–2084 (2004)
- 26 Mäde D.: Viren in Lebensmitteln. *Fleischwirtschaft* 6, 96–100 (2005)
- 27 Jothikumar N., Lowther J.A., Henshilwood K., Lees D.N., Hill V.R. and Vinje J.: Rapid and Sensitive Detection of Noroviruses by Using TaqMan-Based One-Step Reverse transcription-PCR Assays and Application to Naturally Contaminated Shellfish Samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1870–1875 (2005)
- 28 Boom R., Sol C.J.A., Salimans M.M.M., Jansen C.L., Wertheim-van Dillen P.M.E. and van der Noordaa J.: Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* 28, 495–503 (1990)
- 29 Mäde D. und Kahle S.: Nachweis von Rotaviren und humanen Caliciviren in Lebensmitteln und Tupferproben durch reverse Transkription und Polymerase-Kettenreaktion. Vorträge und Poster bei der 43. Arbeitstagung des Arbeitsgebiets Lebensmittelhygiene der DVG vom 24.–27.09.2002 in Garmisch-Partenkirchen, 1. Auflage, Verlag der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V., Giessen, 84–88
- 30 Beuret C., Kohler D., Baumgartner A. and Lüthi T.M.: Norwalk-Like virus sequences in mineral waters: One-year monitoring of three brands. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1925–1931 (2002)
- 31 Beuret C., Baumgartner A. and Schluep J.: Virus-contaminated oysters: a three-month monitoring of oysters imported to Switzerland. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 2292–2297 (2003)
- 32 Kageyama T., Kijima S., Shinohara M., Uchida K., Fukushi S., Hoshino F.B., Takeda N. and Katayama K.: Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.* 41, 1548–1557 (2003)
- 33 Höhne M. and Schreier E.: Detection and characterization of norovirus outbreaks in Germany: Application of a one-tube RT-PCR using a fluorogenic real-time detection system. *J. Med. Virol.* 72, 312–319 (2004)
- 34 Nishida T., Kimura H., Saitoh M., Shinohara M., Kato M., Fukuda S., Munemura T., Mikami T., Kawamoto A., Akiyama M., Kato Y., Nishi K., Kozawa K. and Nishio O.: Detection, quantitation, and phylogenetic analysis of noroviruses in Japanese oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 5782–5786 (2003)
- 35 Beuret C.: Simultaneous detection of enteric viruses by multiplex real-time RT-PCR. *J. Virol. Methods* 115, 1–8 (2004)
- 36 Loisy F., Atmar R.L., Guillon P., LeCann P., Pommepuy M. and Le Guyader F.S.: Real-time RT-PCR for norovirus in shellfish. *J. Virol. Methods* 123, 1–7 (2005)
- 37 Mäde D., Reiting R., Dreier J., Heun-Münch B., Loss U., Hagen M., Burkhardt S., Schrader C., Kahle S. und Becker B.: Nachweis von Noroviren in Tupferproben – Ergebnisse eines Ringversuchs zur Methodenentwicklung, Symposium Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelmikrobiologie, Lemgo, 2004
- 38 Dreier J., Störmer M. and Kleesiek K.: Use of bacteriophage MS2 as an internal control in viral reverse transcription-PCR assays. *J. Clin. Microbiol.* 43, 4551–4557 (2005)
- 39 Barker J., Vipon I.B. and Bloomfield S.F.: Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus contamination via environmental surfaces. *J. Hosp. Infect.* 58, 42–49 (2004)
- 40 Gehrke C., Steinmann J. and Goroncy-Bermes P.: Inactivation of feline calicivirus, a surrogate of Norovirus (formerly Norwalk-like viruses), by different types of alcohol in vitro and in vivo. *J. Hosp. Infect.* 56, 49–55 (2004)
- 41 Gulati B.R., Allwood P.B., Hedberg C.W. and Goyal S.M.: Efficacy of commonly used disinfectants for the inactivation of calicivirus on strawberry, lettuce, and a food-contact surface. *J. Food Protect* 64, 1430–1434 (2001)

- 42 *Doultree J.C., Druce J.D., Birch C.J., Bowden D.S. and Marshall J.A.:* Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J. Hosp. Infect.* **41**, 51–57 (1999)
- 43 *Hollinger F.B. and Ticehurst J.R.:* Hepatitis A virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (Eds.), *Field Virology*, 3rd ed. , 735–782 Lippincott-Raven, Philadelphia, PA (1996)

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. Barbara Becker, Fachhochschule Lippe und Höxter, Life Science Technologies, Labor Mikrobiologie, Liebigstrasse 87, D-32657 Lemgo, E-Mail: barbara.becker@fh-luh.de