RFL

Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung

10

Oktober 2014
66. Jahrgang

- Jungbullenmast
- Klauenkrankheiten
- Physikalisches Imaging
- Omega-3-Fettsäuren
- Weideschlachtung
- Kupferfragmente in Wildfleisch
- Einfluss von Leuchtmitteln
- IFS Food Version 6
- Hepatitis E-Virus
- Dresdner Tage ‘14
- Tierärzte für den Tierschutz
- Die Felsenbirne

Hepatitis E-Virus – lebensmittelhygienisch relevant in Deutschland?

Anja Carl, Kristina Naumann, Gesine Schulze

>>> Hepatitis E ist eine durch die Infektion mit dem Hepatitis E-Virus (HEV) hervorgerufene Lebererkrankung. Sie heilt zumeist folgenlos aus und weist eine relativ niedrige Letalität auf. Abhängig von Genotyp des Virus und Immunstatus des Patienten können jedoch auch schwerwiegende und chronische Krankheitsverläufe auftreten.

Bislang galt eine Hepatitis E-Erkrankung in industrialisierten Ländern als Reiseerkrankung nach Auslandsaufenthalten in Asien, Afrika, Mittel- oder Lateinamerika, wo das HEV endemisch vorkommt. In den letzten Jahren traten in Deutschland jedoch vermehrt autochthone Fälle ohne Reisehintergrund auf. Da das Hepatitis E Virus bei Tieren nachgewiesen wurde und insbesondere Haus- und Wildschweine eine hohe Durchseuchung mit dem Virus aufweisen, wird eine Zoonose bei der Übertragung als möglich erachtet. Zudem sind Fall-Kontroll-Studien beschrieben, die eine HEV-Infektion mit dem Verzehr von rohem oder nicht ausreichend erhitztem Schweine- bzw. Wildschweinfleisch assoziieren.

Am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Erlangen wurden Leberproben von Schlachtschweinen sowie Leberwürste aus dem bayerischen Einzelhandel auf das Vorkommen von HEV-RNA untersucht. Ein positiver Nachweis erfolgte dabei sowohl in rohen Schweinelebern als auch in den getesteten Leberwürsten. Der Verzehr von nicht ausreichend erhitzten Fleischerzeugnissen könnte somit bei der Übertragung des Virus in Deutschland und damit auch für den vorbeugenden Verbraucherschutz zukünftig eine Rolle spielen. Um jedoch tatsächlich an einer Hepatitis E zu erkranken, sind neben der Infektion mit dem Virus noch zusätzliche Faktoren von Bedeutung, die noch nicht abschließend geklärt sind. So tritt eine Erkrankung nur bei einem sehr geringen Anteil an Personen auf, die sich mit dem Virus infiziert und eine Immunantwort ausgebildet haben.

Das Hepatitis E-Virus

Bei dem Hepatitis E-Virus handelt es sich um ein nicht-umhülltes, ikosaedrisches RNA-Virus mit einem Durchmesser von etwa 28 bis 34 Nanometer. Taxonomisch wird das Virus der Familie der Hepeviridae zugeordnet.

Aufgrund phylogenetischer Analysen können die für den Menschen relevanten HEV-Isolate in einzelne Genotypen und weiter in verschiedene Subtypen untergliedert werden. Ein allgemein anerkanntes Klassifizierungsschema beinhaltet die Einteilung der Viren in vier Genotypen sowie 24 Subtypen (Lu et al., 2006), wobei die einzelnen Genotypen eine weltweit unterschiedliche Verbreitung aufweisen: Genotyp 1 ist endemisch in Ländern Asiens und Afrikas sowie in einigen Ländern Lateinamerikas. Genotyp 2 beinhaltet aus Mexiko und Afrika stammende Virusisolate. Genotyp 3 und 4 sind für einzeln auftretende Hepatitis E-Fälle in industrialisierten Ländern Europas, Amerikas und Asiens (v. a. Japan) verantwortlich. In Deutschland spielt insbesondere Genotyp 3 eine Rolle. Im Gegensatz zur genetischen Variabilität ist für das Hepatitis E Virus immunologisch nur ein Serotyp bekannt.

Virusisolate des Genotyp 1 und 2 sind spezifisch für den Menschen. Genotyp 3 und 4 beinhalten Isolate, die sowohl aus Patientenmaterial als auch aus verschiedenen Tieren (vor allem aus Hausschweinen, Wildschweinen und Rotwild) isoliert wurden (Lu et al., 2006; Schielke et al., 2009; Wenzel et al., 2011). Die vom Tier stammenden Viren der Genotypen 3 und 4 zeigen hierbei in Einzelfällen eine große Ähnlichkeit mit humanen HEV-Isolaten (Wenzel et al., 2011). Für die sporadisch in Industrienationen wie auch in Deutschland auftretenden Infektionen wird daher eine Übertragung vom Tier auf den Menschen und somit eine Zoonose als wahrscheinlich angesehen.

Erkrankung

Eine durch das Hepatitis E-Virus hervorgerufene akute Hepatitis E-Erkrankung manifestiert sich 2 bis 8 Wochen nach der Infektion in klinisch ähnlicher Ausprägung wie eine Hepatitis A-Infektion. Sie geht mit den typischen Symptomen einer infektiösen Leberentzündung wie Gelbsucht (Ikterus), Oberbauchschmerzen und Fieber einher, wobei nicht selten auch Verlaufsformen ohne Gelbsucht beobachtet werden. Üblicherweise heilt eine Hepatitis E-Erkrankung nach einigen Wochen folgenlos aus. Dennoch können zu einem geringen Anteil auch schwerwiegende und chronische Verläufe auftreten. Die Letalitätsrate bei einer Hepatitis E beträgt 0,5 bis 4 % und liegt damit etwas höher als bei einer Hepatitis A-Erkrankung (Kamar et al., 2012).

Neuere Untersuchungen deuten darauf hin, dass bei einer Infektion sowohl der Genotyp des Virus als auch die Menge an Viren und der Immunstatus des Infizierten die Ausprägung der Erkrankung maßgeblich beeinflussen. So sind schwere Verlaufsformen vermehrt nach einer Infektion mit HEV des Genotyp 1 und 2 beschrieben. Ein erhöhter Alkoholkonsum sowie weitere Grunderkrankungen des Patienten führen zusätzlich zu einer schlechteren Prognose.

Von Untersuchungen aus Endemiegebieten sind fulminante Erkrankungsverläufe mit einem Virusbefall des Gehirns und einer schwerwiegenden, bis zum Leberversagen führenden Leberentzündung vor allem bei schwangeren Frauen beschrieben. Die Todesrate bei einer Infektion während der Schwangerschaft ist hier mit bis zu 20 % angegeben (Previsani und Lavanchy, 2001). Die schweren Verlaufsformen bei Schwangeren werden dabei insbesondere mit HEV des Genotyp 1 und 2 assoziiert. Für die in Europa zirkulierenden Viren des Genotyp 3 und 4 sind schwerer verlaufende Infektionen bei Schwangeren im Vergleich zu anderen Personen bislang nicht beschrieben.

Eine Hepatitis E-Infektion in industrialisierten Ländern galt lange als Reiseerkrankung nach Aufenthalten in Asien, Afrika, Latein- und Mittelamerika. In diesen Gebieten ist die Hepatitis E endemisch und stellt die häufigste durch ein Virus verursachte Lebererkrankung beim Menschen dar. Die Weltgesundheitsorganisation schätzt die Anzahl an Neuinfektionen auf jährlich mehr als 20 Millionen mit bis zu 3,3 Millionen akuten Erkrankungsfällen und 56.600 Todesfällen (WHO; http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en/). Die Erkrankungen in Endemiegebieten treten dabei oft in Form von großen Ausbrüchen auf, die vor allem auf verunreinigtes Trinkwasser und schlechte hygienische Bedingungen zurückzuführen sind.

In Deutschland kommen Hepatitis E-Erkrankungen nur sporadisch und relativ selten vor. Für das Jahr 2013 wurden bundesweit 458 Hepatitis E-Fälle verzeichnet (Quelle: Robert-Koch-Institut: Surv-

Stat, http://www3.rki.de/ SurvStat, Datenstand: 25.07.2014; Abb. 1). Eine Immunantwort auf das Virus haben jedoch über 10 % der Bevölkerung ausgebildet (Krumbholz et al., 2012; Faber et al., 2012; Dremsek et al., 2012). Dies zeigt zum einen, dass das Hepatitis E Virus auch in Deutschland sehr weit verbreitet ist. Zum anderen deutet es darauf hin, dass der weitaus größte Anteil an Infektionen ohne Ausprägung von Symptomen und somit unerkannt verläuft.

Wenngleich die Anzahl der durch das Robert-Koch-Institut erfassten akuten Hepatitis E-Erkrankungen in Deutschland insgesamt relativ gering ist, steigt dennoch deren Anzahl beständig an. Von Beginn der Meldepflicht im Jahr 2001 bis zum jetzigen Zeitpunkt hat sich die Zahl der Fälle annähernd verzehnfacht (Abb. 1). Die Ursache für die stete Zunahme an gemeldeten Erkrankungen ist bislang nicht bekannt. Allein durch eine vermehrte Diagnosestellung und Verbesserung der Analytik in den letzten Jahren lässt sich diese Entwicklung nicht erklären. Denn ein Anstieg wurde vor allem auch bei den in Deutschland erworbenen, sogenannten autochthonen Erkrankungsfällen, bei denen kein Zusammenhang mit einer Reise in ein Endemiegebiet besteht, beobachtet. Inzwischen sind mehr als die Hälfte der insgesamt gemeldeten Erkrankungen durch eine in Deutschland erworbene Infektion bedingt (Abb. 2). Diese Hepatitis E-Infektionen sind hauptsächlich mit Genotyp 3 assoziiert (Wenzel et al., 2011). Die Hepatitis E gewinnt daher zunehmend auch in Deutschland an Bedeutung.

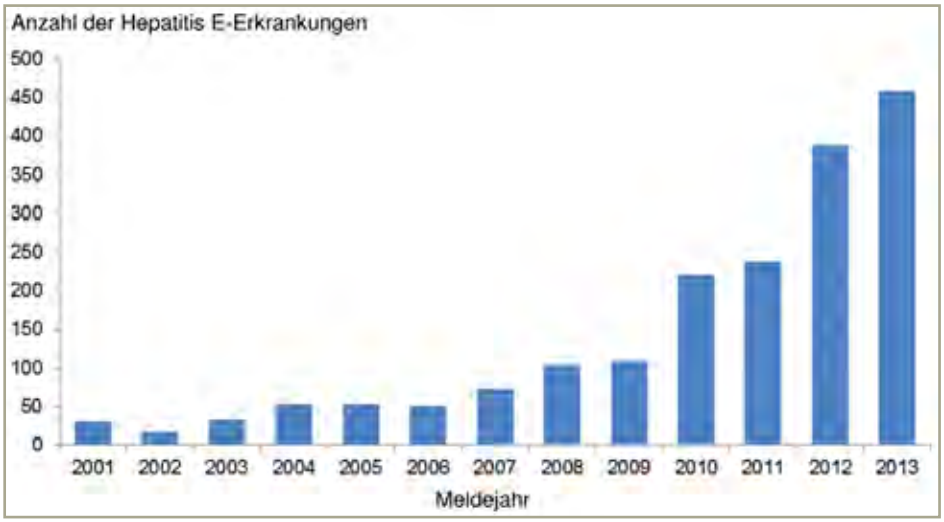

Abb. 1: Anzahl der Hepatitis E-Erkrankungen in Deutschland, 2001 bis 2013 (Quelle: Robert-Koch-Institut: SurvStat, http://www3.rki.de/SurvStat, Datenstand: 24. 7. 2014).

Grafiken/Fotos: Verfasser

Hepatitis E – Ein lebensmittelhygienisches Problem?

Als Quelle für das Hepatitis E-Virus in industrialisierten Ländern mit einem hohen Hygienestandard werden vor allem Hausschweine und Wildschweine vermutet, die eine hohe Durchseuchung mit dem Virus aufweisen, ohne jedoch selbst zu erkranken. Wie Untersuchungen aus Süddeutschland aufzeigen, hat mehr als die Hälfte der Hausschweine eine spezifische Immunantwort gegen HEV ausgebildet (Wacheck et al., 2012). Zudem gelang es, das Hepatitis E-Virus direkt bei Haus- und Wildschweinen mittels molekularbiologischer Methoden nachzuweisen (Schielke et al., 2009; Wenzel et al., 2011). Bei der Untersuchung von Schweinelebern (Hausschwein) aus dem Handel waren vier Prozent der Proben positiv (Wenzel et al., 2011). Des Weiteren belegen Untersuchungen des Bundesinstituts für Risikobewertung, dass in Deutschland 15 Prozent der erlegten Wildschweine das Virus in sich tragen (Schielke et al., 2009). Auch hier erfolgte der Nachweis in Leberproben. Einige aus den Tieren isolierte Erreger zeigten eine hohe Ähnlichkeit mit Hepatitis E Viren, die aus Patientenmaterial gewonnen wurden (Wenzel et al., 2011 Schielke et al., 2009), was die Annahme, dass die Viren vom Schwein auf den Menschen übertragen werden können, zusätzlich bekräftigt. Eine mögliche Bedeutung für das HEV-Infektionsgeschehen hat auch das Rotwild. In den Niederlanden weisen fünf Prozent der Rothirsche eine spezifische Immunreaktion gegen das Virus auf (Rutjes et al., 2010).

Fasst man die Forschungsergebnisse der letzten Jahre zusammen, so zeichnet sich deutlich ab, dass vor allem Haus- und Wildschweine eine Rolle bei der Übertragung des Virus spielen. Von diesen Tieren stammende Lebensmittel, die insbesondere mit Leber (z. B. Leberwurst) aber auch rohem Muskelfleisch (z. B. Rohwürste) hergestellt sind und infektiöse Viruspartikel enthalten, könnten somit für einen Teil der Erkrankungsfälle in Deutschland ursächlich sein. Nachdem sich die Viren in Leberzellen vermehren, dürfte die Viruslast im Lebergewebe dabei deutlich höher sein als im Muskelfleisch.

Ein direkter Nachweis des HEV in verzehrsfertigen Lebensmitteln konnte bislang jedoch nur in einigen wenigen Fällen durchgeführt werden, wie beispielsweise in korsischer Figatelli, einer traditionellen Rohwurst, die mit roher Schweineleber hergestellt wird. Der Verzehr dieser Rohwurst war für eine familiäre Häufung von Hepatitis E-Erkrankungsfällen in Frankreich verantwortlich. (Colson et al., 2010). Eine

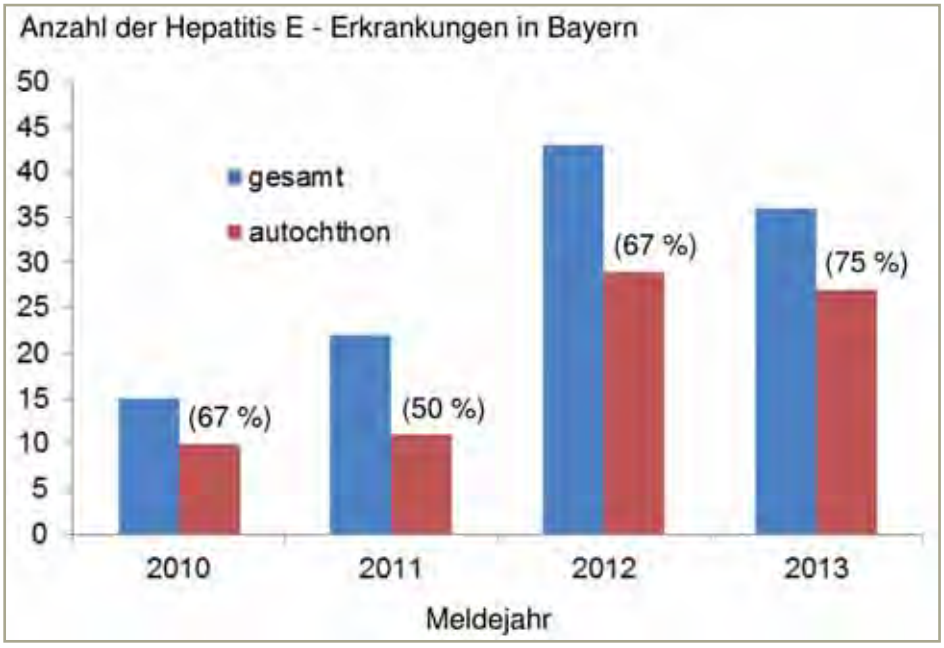

Abb. 2: Gesamtzahl der übermittelten Hepatitis E-Fälle und Anzahl der autochthonen Erkrankungen (in Prozent) in Bayern, 2010 bis 2013.

Fall-Kontroll-Studie des Robert-Koch-Instituts von 2008 ergab zudem, dass der Verzehr von Wildschweinfleisch und Innereien vom Wildschwein ein Risiko darstellt, um sich mit HEV zu infizieren (Wichmann et al., 2008).

In diesem Zusammenhang ergeben sich nun folgende Fragen:

- Welche Rolle spielen verzehrsfertige Lebensmittel, die rohes Fleisch bzw. Leber vom Schwein oder Wildschwein enthalten, bei der Übertragung des Virus auf den Menschen?
- Geht für den Verbraucher eine besondere Gefahr bei der Zubereitung von Speisen aus, bei denen rohe Schweineleber verwendet wird (z. B. Leberknödel)? Nachdem Schweineleber in der Regel nicht roh verzehrt wird, wäre in diesem Zusammenhang eine Übertragung der Viren auch über kontaminierte Oberflächen oder Gegenstände (z. B. Messer) denkbar.
- Gehören Angehörige bestimmter Berufsgruppen wie z. B. Jäger oder Metzger, die häufig mit rohem Schweine- oder Wildschweinfleisch Kontakt haben, zu einem besonders gefährdeten Personenkreis?
- Werden HEV-Infektionen in Deutschland generell unterschätzt? Da auch anikterische Formen bekannt sind und eine Infektion in den meisten Fällen asymptomatisch verläuft, wird ein Großteil der Infektionen statistisch nicht erfasst.

Untersuchungen am LGL

Aufgrund der aktuellen Thematik wurde 2013 im Rahmen eines vom damaligen Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit (StMUG) geförderten Projekts am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) eine molekularbiologische Untersuchungsmethode etabliert, die den Nachweis von HEV in Lebensmittelproben ermöglicht Abb. 3). Das Verfahren gliedert sich in drei aufeinanderfolgende Schritte: Homogenisierung der Probenmatrix, Extraktion der viralen Nukleinsäuren und Detektion HEV-spezifischer Nukleinsäuren mittels molekularbiologischer Methoden (reverse Transkription und real-time Polymerase-Kettenreaktion). Bei positivem Nachweis wird üblicherweise eine Sequenzierung angeschlossen, um den HEV Genotyp zu ermitteln.

Mit der eingeführten Analytik wurden Leberproben von 100 Hausschweinen sowie 61 Leberwürste hinsichtlich HEV getestet. Die Leberproben stammten von Schlachtschweinen aus 18 nordbayerischen Mastbetrieben und wurden direkt nach der Schlachtung der Tiere am Band entnommen. Bei

Abb. 3: Untersuchung von Leberwürsten am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Erlangen.

den Leberwürsten handelte es sich um industriell hergestellte Ware in Fertigpackungen aus dem bayerischen Einzelhandel.

HEV-spezifische Nukleinsäuren waren bei drei Prozent der Schweinelebern nachweisbar. Die nachfolgende Sequenzanalyse ergab bei sämtlichen positiven Proben eine Sequenzhomologie zu HEV Genotyp 3. Der Anteil von drei Prozent positiv getesteter Schweinelebern geht hierbei konform mit

den Ergebnissen einer vorhergehenden Studie, bei der ein Anteil von vier Prozent ermittelt wurde (Wenzel et al., 2011). Ein positiver Nukleinsäurenachweis in Leberproben weist auf eine akute Infektion der Tiere mit dem Virus hin. Das bedeutet, dass ein Anteil von etwa drei bis vier Prozent der Schlachtschweine in Deutschland potentiell infektiöse Hepatitis E-Viren in sich trägt. Werden Lebensmittel aus dem Fleisch dieser Tiere hergestellt, die nicht oder nicht ausreichend erhitzt werden, so ist eine Infektion mit HEV durch den Verzehr dieser Produkte durchaus denkbar. Außerdem stellen Kot und Blut dieser infizierten Schweine eine mögliche Infektionsquelle insbesondere für Landwirte, Tierärzte, Schlachthofmitarbeiter und Metzger dar. Aktuelle Studien weisen auf eine erhöhte Seroprävalenz bezüglich HEV bei Schlachthofmitarbeitern im Vergleich zu anderen Berufsgruppen hin (Krumbholz et al., 2012; Dremsek et al., 2012).

Bei den untersuchten Leberwürsten waren 17 der insgesamt 61 getesteten Würste und damit 27,9 Prozent HEV positiv. Der hohe Anteil von fast einem Drittel an positiv getesteten Leberwürsten im Vergleich zum Anteil von drei Prozent positiv getesteter Schweinelebern war überraschend. Eine Erklärung hierfür wäre jedoch, dass es sich bei den untersuchten Leberwürsten um industriell erzeugte Ware handelt, für deren Herstellung Lebern einer großen Anzahl an Tieren verwendet wird. Eine geringe Menge an Lebern akut infizierter Tiere mit einer hohen Viruslast wäre somit ausreichend, eine große Charge an Leberwurst mit einer Konzentration an Viren zu kontaminieren, die mit den vorhandenen molekularbiologischen Verfahren deutlich nachweisbar ist. Hierfür spricht auch die Tatsache, dass in einzelnen Leberwürsten mehrere unterschiedliche Virustypen gleichzeitig nachweisbar waren.

Diskussion

Mit den vorhandenen molekularbiologischen Untersuchungsmethoden wird das virale Genom detektiert. Ein positiver Nukleinsäurenachweis lässt zwar die Vermutung zu, dass intakte Viruspartikel vorhanden sind. Über die Infektiosität der nachgewiesenen Viren kann jedoch anhand dieses Nachweises keine Aussage getroffen werden.

Nachdem HEV in verzehrsfertigen Lebensmitteln wie Leberwurst nachgewiesen wurde, stellt sich nun die Frage, ob nach den verschiedenen Produktionsstufen bei der Wurstherstellung, insbesondere nach dem Erhitzungsschritt, noch infektiöse Viren vorhanden sind und damit für den Verbraucher ein Risiko besteht, sich durch den Verzehr dieser Produkte zu infizieren. Neuere Inaktivierungsstudien deuten darauf hin, dass das Hepatitis E-Virus eine hohe Temperaturstabilität aufweist und Temperaturen um die 70 °C notwendig sind, um die Viren abzutöten. Dabei ist zu beachten, dass unterschiedliche HEV Geno- und Subgenotypen auch verschiedene Temperaturresistenzen aufweisen (Schielke et al., 2011). Eine neuere Studie zeigt, dass mit HEV kontaminierte Leberpaté für mindestens 20 min bei 71 °C erhitzt werden muss, um in nachfolgenden in vivo-Infektionsversuchen mit Schweinen keine Infektion bei den Tieren mehr hervorzurufen (Barnaud et al., 2012).

Bei der industriellen Herstellung werden Leberwürste üblicherweise bis zum Erreichen einer Kerntemperatur von 72–75 °C erhitzt. Die vorgesehen Kerntemperaturen liegen damit vermutlich oberhalb des kritischen Bereichs, der für eine Inaktivierung der Viren notwendig ist. Jedoch sind bei diesen hohen Temperaturen – auch aus technologischen Gründen – in der Regel keine Haltezeiten vorgesehen. Von einer sicheren Inaktivierung der Viren in den Leberwürsten kann daher nicht unbedingt ausgegangen werden. Um diesbezüglich eine abschließende Aussage treffen zu können, sind weitere umfangreiche Studien nötig.

Während bei der Herstellung industrieller Fleischerzeugnisse standardisierte Verfahren mit Überwachung und Dokumentation des Temperaturregimes angewandt werden, ist insbesondere bei kleineren handwerklichen Betrieben/Metzgereien ein Erreichen der geforderten Temperaturwerte nicht in jedem Fall gewährleistet. Zudem sind Produktfehler ohnehin nicht auszuschließen. Werden Leberwürste bei zu niedrigen Kerntemperaturen hergestellt, wäre dies im Endprodukt sensorisch meist nicht erkennbar. Der Verzehr solcher Produkte könnte jedoch bezüglich HEV kritisch sein. Nicht ausreichend erhitzte Schweinelebern wurden bereits in mehreren Fällen mit einer HEV-Infektion assoziiert (Matsuda et al., 2003).

Weiterhin ist nicht bekannt, welche Dosis an infektiösen Viren überhaupt notwendig ist, um einen Menschen zu infizieren. Untersuchungen von Ausbrüchen in Endemiegebieten zeigen eine im Vergleich zu anderen lebensmittelassoziierten Viren relativ geringe Erkrankungswahrscheinlichkeit („attack rate“) von ein bis 15 Prozent. Da es sich hierbei um Daten aus Endemiegebieten handelt, beziehen sich die Angaben auf Genotyp 1 und 2. Auch ist noch nicht ausreichend geklärt, welche Faktoren letztendlich die Ausprägung einer Erkrankung beeinflussen. Die hohe Seroprävalenz von HEV-spezifischen Antikörpern steht dabei im Widerspruch zur geringen Anzahl an in Deutschland verzeichneten Erkrankungsfällen.

Fazit

Zahlreiche Studien haben in den letzten Jahren schrittweise weiter zur Klärung des HEV-Infektionsgeschehens beigetragen und damit dem Hepatitis E-Virus in Deutschland eine immer größere Bedeutung zugemessen. Dennoch ist noch nicht klar, wie ein positiver HEV-Nachweis in einem verzehrsfertigen Lebensmittel sowohl lebensmittelhygienisch als auch lebensmittelrechtlich zu bewerten ist. Bevor diesbezüglich Entscheidungen getroffen werden können, gilt es, die zahlreichen noch offenen Fragen durch weiterführende Untersuchungen zu klären.

Eine gute Hygiene bei der Verarbeitung von rohem Fleisch, insbesondere von roher Schweineleber, sowie eine ausreichende Erhitzung bei möglichst hohen Temperaturen sind prinzipiell, und sicherlich nicht nur hinsichtlich HEV, zu empfehlen.

Danksagung

Wir danken Herrn Dr. Mircea Buda und dem Schlachthof Erlangen für die Bereitstellung und die Unterstützung bei der Entnahme der Leberproben sowie dem Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz für die finanzielle Förderung.

Literatur bei den Verfassern.

Anja Carl, Kristina Naumann, Gesine Schulze
Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)
Eggenreuther Weg 43
91058 Erlangen
anja.carl@lgl.bayern.de