

# Inaktivierung von Murinem Norovirus und Hepatitis-A-Virus auf Stahlkeimträgern, gefrorenen Erdbeeren und Himbeeren durch UVC-Bestrahlung

Uwe Truyen, Erhard Merschbrock

**>>> Kontaminationen von Früchten mit Noroviren und Hepatitis-A-Viren sind von besonderer Bedeutung für die Lebensmittelindustrie. Wir stellen hier eine einfache Möglichkeit zur Inaktivierung dieser beiden Viren mit UVC-Strahlen vor. Auf den experimentell kontaminierten Früchten konnte durch Bestrahlung für 7 Minuten mit einer Dosis von 5.625 mJ/cm<sup>2</sup> die Virusinfektiosität um den Faktor 10<sup>3</sup> bis 10<sup>5</sup> reduziert werden.**

Die Verunreinigung von Lebensmitteln, insbesondere Früchten, mit humanpathogenen Viren ist eine permanente Gefährdung des Verbrauchers. Vor allem Viren, die Fäkaloral übertragen werden, sind ein häufiges Problem bei frischen und gefrorenen Beeren. Diese Früchte werden nach der Ernte nicht routinemäßig gewaschen, und ein hoher Hygienestandard ist nicht in allen Ländern, in denen diese angebaut und geerntet werden, Standard. Daher ist eine Methode zur Desinfektion dieser Früchte dringend notwendig. Die spezifische Struktur und der Geschmack der Früchte dürfen dabei nicht beeinträchtigt werden.

Die UVC-Bestrahlung ist eine wirksame Technik zur Desinfektion von Oberflächen, die gleichermaßen Bakterien, Pilze und Viren erfasst.

Wir beschreiben hier eine einfache Methode der UV-Bestrahlung und ihre Wirkung auf experimentell mit Norovirus und Hepatitis-A-Virus kontaminierte Stahlkeimträger, tiefgefrorene Himbeeren und tiefgefrorene Erdbeeren.

Die UVC-Quelle war der UVpro WDS 36-Strahler der Fa. Orca GmbH, der in einem Gestell in regelmäßigen Abständen von 10 Zentimetern über dem Objekt platziert werden konnte (Abb. 1). Die Strahlungsintensität wurde mit einem Messgerät UV light meter PCE-UV 36 gemessen.

Das murine Norovirus Stamm S 99 und das Hepatitis-A-Virus Stamm HM 175 wurden eingesetzt. Sie wurden in RAW 264.7-Zellen (MNV) oder fetale Rhesusaffen-nieren-Zellen (FRhk), wie bei Müller et al. 2007 beschrieben, kultiviert.



**Abb. 1: UVC-Bestrahlungseinheit und UVC-Messgerät. Die Früchte wurden in die Vertiefungen des Trägers eingelegt und unter die UVC-Quelle geschoben.**

Fotos: Verfasser

Die Bestrahlung wurde in einer ersten Versuchsreihe auf viruskontaminierten Stahlkeimträgern durchgeführt gemäß den Prüfrichtlinien der DVG für die viruzide Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln im Lebensmittelbereich ([www.desinfektion-dvg.de](http://www.desinfektion-dvg.de)). Dafür wurden 5 ml einer Virussuspension auf einen Stahl-

keimträger von zwei Zentimeter Durchmesser getropft und für 30 Minuten bei Raumtemperatur in einem Exsikator mit einem bar Unterdruck getrocknet. Der Keimträger wurde dann unter den UVC-Strahler gestellt und bestrahlt. Infektiöses Virus wurde durch zehnmaliges Spülen vom Keimträger abgewaschen und in einem Endvolumen von 5 ml Phosphatpuffer (PBS) aufgenommen und durch einen 0,22 Mikrometer-Filter filtriert. Ein Aliquot wurde in der entsprechenden Zelllinie titriert und der Virustiter nach der Formel von Spearman und Kaerber berechnet.

Die Inaktivierungswirkung wurde als die Differenz der Virusinfektiosität auf einem bestrahlten und einem nicht bestrahlten Stahlkeimträger definiert.

In Analogie zu den Stahlkeimträgern wurden in weiteren Versuchsreihen Viren auch auf frische Himbeeren und Erdbeeren getropft. Nach dem Auftropfen wurden die Früchte für 3 Stunden bei -20 °C eingefroren, bevor sie der UV-Strahlung ausgesetzt wurden. Auf einigen Früchten konnte man kleine Tropfen des Virusinokulums sehen (Abb. 2). Nach der Bestrahlung wurde das Virus mit PBS von den Früchten abgespült und wie für den Stahlkeimträger beschrieben filtriert und titriert.

Unter den Laborbedingungen erwies sich der Abstand von 11,5 cm von der UV-Quelle als praktikabel. Mit dieser Einstel-



**Abb. 2: Viruskontaminierte Erdbeeren und Himbeeren. Insgesamt 50 Mikroliter der Virussuspension wurden jeweils auf eine Frucht getropft.**

**Tab. 1: Inaktivierungskinetik von Murinem norovirus (MNV) und Hepatitis-A-Virus (HAV) auf Stahlkeimträgern, tiefgefrorenen Himbeeren und tiefgefrorenen Erdbeeren. Angegeben sind die Reduktionsfaktoren (lg Virustiter der nicht bestrahlten Viruskontrolle abzüglich des lg Virustiters nach UVC-Bestrahlung) als Durchschnittswert von 3–5 unabhängigen Versuchen.**

exposure time (seconds)	radiation dose (mJ/cm <sup>2</sup> )	MNV			HAV		
		steel carrier (r. f.)	Raspberry (r. f.)	strawberry (r. f.)	steel carrier (r. f.)	Raspberry (r. f.)	strawberry (r. f.)
50	625	3,34	3,83	2,37	2,35	2,81	1,12
100	1250	3,49	4,33	3,25	2,85	3,13	1,62
150	1875	3,94	4,33	2,50	2,85	3,06	2,12
200	2500	3,81	5,85	3,12	2,73	2,68	2,12
250	3125	3,81	4,08	2,75	3,10	3,43	2,62
300	3750	3,91	>4,27	4,06	>3,90	4,06	2,75
350	4375	2,98	3,58	3,93	>3,90	3,93	3,12
400	5000	>4,11	>3,53	2,56	>3,90	>4,31	3,12
450	5625	>4,33	>5,15	2,56	>3,90	>4,31	3,12
500	6250	>4,51	>4,52	2,37	>3,90	4,06	>4,00
550	6875	>4,51	>4,09	3,19	>3,90	>4,13	3,12

r. f. = reduction factor

lung wurde eine Strahlungsintensität von 12,5 mW/cm<sup>2</sup> auf der Oberfläche gemessen.

Bei einer Bestrahlung der Früchte und Keimträger für bis zu 550 Sekunden wurde eine Strahlungs-dosis von bis zu 6.875 mJ/cm<sup>2</sup> erreicht. Die Strahlungsintensität in mW/cm<sup>2</sup>, gemessen durch das UV-Messgerät, multipliziert mit der Expositionszeit in Sekunden, erbrachte die Strahlungs-dosis in mJ/cm<sup>2</sup>.

Sowohl MNV und HAV reagierten sehr empfindlich auf die UV-Bestrahlung. Selbst geringe Dosen unter 1.000 mJ/cm<sup>2</sup> führten zu einer 3 lg Reduktion der Infektiosität auf Stahlkeimträgern. Um jedoch eine volle Inaktivierung (unter diesen Bedingungen > 4,5 lg Stufen) zu erzielen, waren für MNV und HAV Strahlungsintensitäten von 3.750 oder 6.250 mJ/cm<sup>2</sup> notwendig (Tab. 1).

Die Ergebnisse mit den Stahlkeimträgern konnten grundsätzlich mit den tiefgefrorenen Früchten reproduziert werden, jedoch war die Inaktivierung nicht linear und wies erhebliche Variationen auf. Unter den gewählten Testbedingungen konnte nur mit Himbeeren eine vollständige Inaktivierung erreicht werden, nicht jedoch mit Erdbeeren (Tab. 1).

Die Gründe für diese Unterschiede wurden nicht untersucht, aber die Oberflächen der beiden Früchte unterscheiden sich mor-

phologisch erheblich. Dieses Phänomen war bekannt (Fino und Kniel, 2008).

UVC-Bestrahlung ist wirksam auf Oberflächen, ihre Wirkung nimmt jedoch mit steigender Dichtung rasch ab. Das Volumen der Viruskontamination wurde daher auf ein Minimum reduziert, um sehr kleine und dünne Tropfen zu erzeugen. Wir gehen daher davon aus, dass das Virus der UV-Bestrahlung voll ausgesetzt war. HAV war geringfügig empfindlicher gegenüber der UV-Bestrahlung. Es wurde auf dem Stahlkeimträger bereits mit 3750 mJ/cm<sup>2</sup> vollständig inaktiviert, wo MNV fast die doppelte Strahlungs-dosis benötigte. Jedoch waren die absoluten Reduktionsfaktoren auf Grund der unterschiedlichen Ausgangstitern nicht identisch (Tab. 1).

Die hier gefundenen Inaktivitätswerte sind insgesamt etwas höher als die von anderen Studien, die andere Keimträger, Pulslichtbestrahlung und wahrscheinlich auch andere Virusstämme benutzten (Jean et al., 2011).

Die UV-Bestrahlung erscheint für den Routinebetrieb geeignet, da die Inaktivierung der zwei wichtigsten viralen Lebensmittelkontaminanten bereits nach wenigen Sekunden erreicht wird. Um eine vollständige Inaktivierung der viralen Infektiosität

zu erreichen, sind jedoch Expositionszeiten von ca. 5 Minuten notwendig.

Die in der Praxis vorzufindende Konzentration von Noro- oder Hepatitis-A-Viren auf gefrorenen oder frischen Früchten ist unbekannt und sicherlich unterschiedlich. Wenige Studien haben natürliche Kontaminationen untersucht, und eine Studie berichtet Kontaminationsraten von 1000 PCR-Einheiten im Waschwasser von frischen Früchten (Maunula et al., 2013). Der Bereich der natürlichen Kontamination sollte daher durch die hier beschriebene Wirksamkeit der UV-Bestrahlung abgedeckt sein.

Literatur bei den Verfassern. ■

#### Prof. Dr. Uwe Truyen

Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen  
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig  
An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig  
truyen@vmf.uni-leipzig.de

#### Dipl.-Ing. Erhard Merschbrock

Ingenieurbüro Merschbrock  
Kochstraße 40, 33397 Rietberg