

## Virusinaktivierung durch Erhitzungs- und Räucherverfahren bei Fleischerzeugnissen – Erarbeitung von Prozessvorgaben anhand geeigneter Modellviren

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Universität Leipzig, Zentrum für Veterinary Public Health, Institut für Lebensmittelhygiene Prof. Dr. Peggy Braun/Dr. Thiemo Albert
<b>Forschungsstelle II:</b>	Universität Leipzig, Zentrum für Veterinary Public Health, Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen Prof. Dr. Uwe Truyen/Dr. Anja Petereit
<b>Industriegruppe:</b>	Bundesverband der Deutschen Fleischwarenindustrie e.V. (BVDF), Bonn  Projektkoordinator: Alfred Gehr, Unilever Deutschland Produktions GmbH & Co OHG Werk Schafft Ansbach
<b>Laufzeit:</b>	2012 – 2014
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 223.200,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Fragestellungen zur Sicherheit von Lebensmitteln im Zusammenhang mit Viren haben sowohl im Wissenschaftsbereich als auch in der öffentlichen Wahrnehmung an Bedeutung zugenommen. Dies liegt nicht zuletzt auch am Auftreten neuer Erreger (Influenzavirus H5N1 und H1N1, SARS Coronavirus) sowie an der nach wie vor sehr hohen Zahl virusbedingter Gastroenteritiden in Deutschland. Aus epidemiologischer Sicht sind hier vor allem Noroviren, Rotaviren sowie Hepatitis-A-Viren von Bedeutung.

Zur Risikobewertung einzelner Produkt-Erreger-Kombinationen sind Kenntnisse zum Einfluss lebensmitteltechnologischer Prozesse auf die Virusinaktivierung notwendig, insbesondere auch für Fleisch und Fleischerzeugnisse. Fleisch kann schon endogen mit Viren kontaminiert sein oder Viren werden während der Schlachtung und Weiterverarbeitung in die Prozesskette eingetragen. Da Viruskontaminationen meist unerkannt bleiben und routinetaugliche Methoden zum Virusnachweis fehlen, ist die Ausschaltung möglicher virusbedingter gesundheitlicher Risiken während des Herstellungsprozesses, zum Bei-

spiel durch Erhitzungs- und Räucherverfahren, von entscheidender Bedeutung. Kritische Kontrollpunkte beziehen sich hierbei vor allem auf die Festlegung von Grenzwerten bei erhitzten Produkten. Konkrete Prozessvorgaben im Zusammenhang mit der Inaktivierung viraler Erreger durch thermische Prozesse liegen für Hersteller von Fleischerzeugnissen bislang aber nur in sehr begrenztem Umfang vor, Gleiches gilt auch für den Einfluss von Räucherverfahren.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens sollten daher Daten zum Einfluss von Erhitzungs- und Räucherverfahren auf die Stabilität von lebensmittelübertragbaren Viren bzw. geeigneten Modellviren (Surrogate) während der Herstellung von Fleischerzeugnissen erarbeitet werden. Aus den Ergebnissen sollten anhand der Inaktivierungskinetik Vorhersagemodelle sowie Prozessvorgaben in Form von Grenzwerten (Temperatur/Zeit-Profilen) für erhitzte und/oder geräucherte Fleischerzeugnisse abgeleitet werden. Diese sollen dann anschließend in bestehende HACCP-Konzepte von Fleischwarenherstellern einfließen und zur Sicherheit der Produkte im Zusammenhang mit viralen Infektionserregern beitragen.

### Forschungsergebnis:

Im ersten Teilprojekt erfolgten Untersuchungen zur Hitzestabilität von murinen Noroviren (MNV) S 99 und CW 1, von Influenzavirus H1N1 (A/WSN/33) sowie von murinem Parvovirus MVM (Minute Virus of Mice Crawford) in verschiedenen Matrices (Salz- und Pökellake, Brühwurstbrät, gepökeltes Fleisch, Leber). MNV, welche stellvertretend für die nicht-kultivierbaren humanen Noroviren verwendet wurden, konnten bereits bei 60 °C schnell inaktiviert werden. In Salz- und Pökellake war dabei kein signifikanter Einfluss praxisüblicher Konzentrationen an Natriumchlorid sowie Nitritpökelsalz auf die Hitzestabilität von MNV S 99 nachweisbar. Da die Hitzeinaktivierung von MNV einem log-linearen Verlauf folgte, konnten entsprechend D-Werte abgeleitet werden. Aufgrund der relativen Hitzelabilität war dies jedoch nur für  $D_{55^\circ\text{C}}$ -Werte möglich (gepökeltes Fleisch: 20,66 min; Leberbrät: 9,40 min; Lyonerbrät, 4 % Fett: 4,36 min; Lyonerbrät, 20 % Fett: 4,21 min). Es zeigen sich matrixabhängig zwar unterschiedliche D-Werte, insgesamt konnte jedoch kein von Fleischerzeugnissen ausgehender deutlicher protektiven Effekt auf die Thermostabilität von MNV erkannt werden. Wie am Beispiel der für MNV erzielten Ergebnisse ersichtlich, kann sich die Hitzestabilität einzelner Stämme einer Viruspezies deutlich unterscheiden. Im Vergleich der Thermostabilität von MNV S 99 und MNV CW 1 in Lyonerbrät erwies sich CW 1 bei 55 °C als deutlich hitzestabiler ( $D_{55^\circ\text{C}}[\text{MNV S99}] = 4,14 \text{ min}$ ;  $D_{55^\circ\text{C}}[\text{MNV CW 1}] = 30,06 \text{ min}$ ). Beide Isolate konnten jedoch in Lyonerbrät bei 60 °C schnell inaktiviert werden. Unter Umständen muss dieser Aspekt jedoch in zukünftigen Untersuchungen Berücksichtigung finden.

Eine vergleichsweise hohe Stabilität zeigte das murine Parvovirus MVM, welches als hitzestabiles Surrogat zur Simulation eines „worst-case scenarios“ eingesetzt wurde. Erst höhere Temperaturen führten zur deutlichen Titerreduktion, welche nach 100minütiger Erhitzung bei 72 °C und 82 °C 1,25 bis 2,00 bzw. 1,75 bis 2,75 log-Stufen betrug.

Das Influenzavirus H1N1 zeigte bereits in unerhitzten Matrices (Brühwurstbrät, gepökeltes Fleisch, Leber) eine geringe Stabilität und die Thermisierung bei 55 °C führte zur sicheren Inaktivierung des Erregers. Von weiteren Untersuchungen mit dieser Virusart wurde daher abgesehen.

Im zweiten Teilprojekt wurde die antivirale Wirkung von Räucherverfahren (Flüssigrauch, Friktionsrauch im Kaltrauchverfahren) untersucht. Die Prüfung des Einflusses genannter Raucharten auf die Infektiosität von Viren erfolgte mit den murinen Noroviren (MNV) S 99 und MNV CW 1, dem bovinem Enterovirus (BEV) als Surrogat für humane Enteroviren sowie dem Influenza-A-Virus (H1N1). Hierzu wurden auf Edelstahlträgern aufgebrachte Virussuspensionen bei 22 °C Flüssig- bzw. Friktionsrauch ausgesetzt. Zudem wurden Edelstahlträger beimpft, die vorab mit Rauch beschichtet wurden. Zur Anwendung kamen ein handelsübliches Flüssigrauchpräparat sowie aus Buchenholz erzeugter Friktionsrauch [hermetisch, 22 °C; Umluft langsam ( $\varnothing 1,2 \text{ m/s}$ )]. Der Nachweis des Vorliegens roh-wurstrelevanter Rauchdichten und Zeitintervalle (max. 120 min) in der Anlage (ASR 1297 Titan, Maurer-AG) erfolgte über sensorische Untersuchungen sowie über die Bestimmung des Guajacolgehaltes bei Mettenden (22 cm × 2 cm). Beide Raucharten zeigten einen deutlichen viruziden Effekt (bis 4,5 log-Stufen Reduktion) gegenüber den auf Edelstahlträgern aufgebrachten Virus-Isolaten. Auch eine virale Kontamination rauchbehafteter Edelstahloberflächen führte zu Titerverlusten unterhalb von deren Nachweisgrenze.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass übliche Erhitzungsverfahren ( $\geq 70 \text{ }^\circ\text{C}$ ) zur wirksamen Inaktivierung viraler Erreger eingesetzt werden können. Im Zusammenhang mit Influenzaviren und humanen Noroviren kann somit kein erhöhtes Expositionsrisiko für den Verbraucher für derart behandelte Fleischerzeugnisse abgeleitet werden. Im Rahmen des Projektes konnte zudem erstmals die antivirale Wirkung von Räucherrauch beschrieben werden. Somit kann auch Räuchern zur Risikominimierung im Zusammenhang mit Viren und Fleischerzeugnissen beitragen.

### Wirtschaftliche Bedeutung:

Die Herstellung von sicheren Fleischerzeugnissen ist ein entscheidendes Kriterium für alle fleischverarbeitende Betriebe, um Produkte weiterhin erfolgreich auf dem Markt zu etablieren. Erfahrungsgemäß reagieren Verbraucher und somit der Markt sehr sensibel auf von Lebensmittel ausgehende mikrobielle Risiken. Wie sich im Zusammenhang mit bakteriellen Mikroorganismen, u. a. Salmonellen, EHEC, *Listeria monocytogenes*, oft gezeigt hat, können Erreger-

nachweise bei den Produkten für Unternehmen hohe betriebswirtschaftliche Verluste durch Absatzeinbrüche, durch teure Rückrufaktionen oder durch Regressforderungen infolge von Lebensmittelinfektionen nach sich ziehen. Gleiches Szenario könnte aber auch für virale Erreger entstehen, wenngleich in vielen Fällen ein epidemiologischer Zusammenhang zwischen der Infektion des Menschen und dem Verzehr von Fleischerzeugnissen wissenschaftlich nicht eindeutig belegt ist. Mögliche Risiken sind vor dem Hintergrund viraler Erreger mit Zoonosepotential (z. B. aviäres Influenzavirus H5N1 Asia, „Schweinegrippevirus“ H1N1, Hepatitis E-Virus) zu sehen. Auch im Zusammenhang mit viralen Tierseuchenerregern können Hersteller von Fleischerzeugnissen erhebliche wirtschaftliche Verluste durch nationale und internationale Handelsbeschränkungen erleiden.

Die Ergebnisse des Vorhabens sind von den Herstellern direkt zur Qualitätssicherung und Risikobewertung im Zusammenhang mit betriebsspezifischen, HACCP-basierten Sicherheitskonzepten nutzbar. Sie können weiterhin durch die Objektivierung der öffentlichen Diskussion sowie durch eine Stärkung des Verbrauchervertrauens ein wichtiges Element im Krisenmanagement darstellen. Durch die Verbesserung der Produktsicherheit haben die Ergebnisse für alle Unternehmen der Branche ein hohes wirtschaftliches Potential.

Im Jahre 2012 existierten in Deutschland 396 industrielle fleischverarbeitende Betriebe mit einem Nettoumsatz von 18,0 Mrd. € sowie einer durchschnittlichen Beschäftigtenzahl von 58.894. Der Jahresumsatz lag in 2011 bei 853 von insgesamt 928 industriellen Fleischwarenbetrieben unter 50 Mio. €. Die Unternehmen produzierten rd. 5 Mio. t Wurstwaren. Hinzu kamen in 2012 rd. 14.300 Fleischerhandwerksbetriebe mit einem Gesamtumsatz von 16,4 Mrd. € und 145.700 Beschäftigten.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2014.
2. Jarke, C., Petereit, A., Fehlhaber, K., Truyen, U., Braun, P.G. und Albert, T.: Heat stability of murine noroviruses in meat products. *J. Food Safe. Food Technol.* 65, 10-17 (2014).
3. Jarke, C., Petereit, A., Fehlhaber, K., Braun, P.G., Truyen, U. und Albert, T.: Impact of sodium chloride, sucrose and milk on heat stability of the murine norovirus and the MS2 phage. *Food Environ. Virol.* 5, 135-143 (2013).

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei den Forschungsstellen abzurufen.

#### Weiteres Informationsmaterial:

Universität Leipzig  
Zentrum für Veterinary Public Health  
Institut für Lebensmittelhygiene  
An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig  
Tel.: +49 341 97-3 82 20  
Fax: +49 341 97-3 82 49  
E-Mail: [pbraun@vetmed.uni-leipzig.de](mailto:pbraun@vetmed.uni-leipzig.de)

Universität Leipzig  
Zentrum für Veterinary Public Health  
Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen  
An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig  
Tel.: +49 341 97-3 81 50  
Fax: +49 341 97-3 81 98  
E-Mail: [truyen@vmf.uni-leipzig.de](mailto:truyen@vmf.uni-leipzig.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](mailto:fei@fei-bonn.de)

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

gefördert durch/via:

