

Voedselveiligheid [Microbiologie]

Leen Baert en Mieke Uyttendaele

Dr. L. Baert en prof. dr. ir. M. Uyttendaele, Laboratorium voor Levensmiddelenmicrobiologie en -conservering, Universiteit Gent, +32 9 264 99 29, Leen.Baert@UGent.be.

Stabiliteit van norovirussen in de voedselketen

Naar aanleiding van voedselinfecties veroorzaakt door virussen startte de Universiteit Gent vijf jaar geleden onderzoek naar de stabiliteit van het norovirus en welke reductiestrategieën het beste kunnen worden ingezet. Recent promoveerde Leen Baert op dit onderwerp. Een beknopt verslag van haar bevindingen.

Het laatste decennium stijgt wereldwijd het aantal infecties en uitbraken door virussen, met name het norovirus. In 2007 werd maar liefst 11,9% van de aan EFSA gerapporteerde voedselgebonden uitbraken toegeschreven aan virale agentia. Daarmee zijn virussen, na *Salmonella*, de belangrijkste oorzaak. Het norovirus veroorzaakt meestal een milde buikgriep of gastro-enteritis dat kan gepaard gaan met projectielbraken. Ernstigere symptomen als dehydratatie en zelfs sterfte kunnen optreden bij kleine kinderen, bejaarden of immuun verzwakte personen. Tien tot honderd virusdeeltjes zijn al voldoende om ziek te worden.

Bronnen

Menselijke uitwerpselen zijn de belangrijkste besmettingsbron, vandaar dat een goede hygiëne bij de productie (en bereiding) van voedingsmiddelen erg belangrijk is. Tweekleppige schelpdieren, zoals oesters en mosselen, afkomstig uit verontreinigd kweekwater en groenten en fruit die in contact kwamen met fecaal gecontamineerd (oppervlakte- of grond)water of ongeschikte biologische meststof zijn daarom risicoproducten. Tweekleppigen vormen een extra risico omdat deze met voedingsstoffen ook virusdeeltjes uit het water filteren, waardoor virussen zich in de schelpdieren kunnen ophopen.

Stabiel

In tegenstelling tot bacteriën, gisten en schimmels kunnen virussen zich niet vermeerderen in levensmiddelen. Virussen zijn over het algemeen stabiel in voedingsmiddelen. Die stabiliteit schrijven onderzoekers toe aan het ontbreken van een zogeheten omringende lipide enveloppe. Studies hebben aangetoond dat deze virussen kunnen overleven gedurende de houdbaarheidsperiode van gekoelde levensmiddelen (Tabel 1) en bestand zijn tegen een lage pH of lage wateractiviteit.

Inactivatie

Het meten van het effect van inactivatiemethoden op voedselgebonden norovirussen is niet mogelijk omdat onderzoekers het virus niet kunnen kweken bij gebrek aan een geschikte cellijn. Het eerste norovirus, het murine norovirus (MNV), waarbij dat wel kon, werd pas in 2003 ontdekt. Het MNV is nauw verwant aan de humane norovirus-stammen, maar infecteert louter muizen. Het MNV is daarmee vermoedelijk het beste beschikbare modelvirus voor de humane norovirussen om het effect van reductiestrategieën te bepalen (Tabel 2).

Hitteresistentie

De studie uitgevoerd aan de UGent naar de hitteresistentie van MNV in celcultuurmedium toonde aan dat een blootstelling aan 80°C gedurende 150 seconden voldoende is om ten minste een 6 log reductie te verkrijgen. Deze hittebehandeling zou dus het virus kunnen elimineren. Ook blijkt blancheren gedurende een minuut bij 80 of 90°C een efficiënte manier te zijn om MNV op spinazie te inactiveren (Tabel 2).

De vraag drong zich op in welke mate de steeds populairder wordende milde hittebehandelingen de eventuele virale belasting konden verminderen. Hiervoor werden frambozen genomen omdat desserts waarin frambozen waren verwerkt eerder uitbraken met norovirussen veroorzaakten in Frankrijk, Zweden en Denemarken.

De persistentie van MNV tegen twee milde thermische pasteurisatieprocessen, die ook in de industrie worden uitgevoerd op frambozenpuree, werd geëvalueerd. In frambozenpuree die gedurende 30 seconden werd verhit op 65°C werd nog geen honderdvoudige reductie van het MNV gerealiseerd. Verhitten bij 75°C gedurende 15 seconden induceerde minder dan een duizendvoudige reductie. Bij dezelfde hittebehandeling werd er nochtans meer dan een duizendvoudige afname van de klassieke microbiologische indicator *Escherichia coli* waargenomen. Geen aanvullend lethaal effect werd geconstateerd door hittebehandelde frambozenpuree overnacht te bewaren bij 4°C. Studies die de hitteresistentie getest hebben op basis van andere modelvirussen worden weergegeven in Tabel 3. Hieruit blijkt dat inactivatie door hitte afhankelijk is van het type virus. De matrix speelt ook een belangrijke rol bij afdoding door hitte.

Groenten

Virale voedselinfecties als gevolg van de consumptie van sla, bereide slaatjes en lente-uien komen occasioneel voor. Daarom werd het effect van decontaminatie op de microbiologische belasting onderzocht met behulp van het modelvirus MNV. Wassen van spinazie of uien met water induceerde hooguit een tienvoudige afname van het aantal MNV-deeltjes.

Overdracht van het MNV vanuit het waswater naar groenten werd vastgesteld. Deze bevinding impliceert dat waswater een virale bron kan zijn van contaminatie. Toevoegen van desinfectantia aan het waswater kan kruiscontaminatie voorkomen.

Perazijnzuur en natriumhypochloriet

In België wordt het gebruik van decontaminatiemiddelen in de groenten- en fruitverwerkende industrie toegelaten via de autocontrolegids. Dit zijn door de Belgische VWA (Federaal agentschap voor de veiligheid van de voedselketen; FAVV) goedgekeurde documenten om de microbiologische kwaliteit van het waswater onder controle te houden op voorwaarde dat geen onaanvaardbare residuen achterblijven op het eindproduct. Met perazijnzuur in een concentratie van 20 mg/l werd ongeveer een 2,5 log afname van het MNV in water gerealiseerd (Tabel 2). Perazijnzuur kan daarmee een veelbelovend desinfectiemiddel zijn om de virale contaminatie van het waswater onder controle te houden.

Bovendien is het reducerend effect van perazijnzuur of natriumhypochloriet, toegevoegd aan het waswater, nagegaan op versneden ijsbergsla beënt met MNV. De daling van het aantal viruspartikels werd vergeleken met de reductie van bacteriële pathogenen *L. monocytogenes* en *E. coli* O157:H7. Een concentratie van

200 mg/l natriumhypochloriet en 250 mg/l perazijnzuur was nodig om een additionele één log reductie (te vergelijken met water) van MNV op versneden ijsbergsla te verkrijgen (Tabel 2). Enkel 250 mg/l perazijnzuur kon dit tot stand brengen voor bacteriële pathogenen. Niettegenstaande de beperkte afname op sla, werden noch virussen noch bacteriële pathogenen gedetecteerd in residueel waswater waaraan natriumhypochloriet (20 mg/l of 200 mg/l) of perazijnzuur (80 mg/l of 250 mg/l) was toegevoegd. Deze bevinding illustreerde het nut van natriumhypochloriet of perazijnzuur om kruiscontaminatie te voorkomen. Experimenten toonden evenwel aan dat, in tegenstelling tot perazijnzuur, de werking van natriumhypochloriet werd beïnvloed door de aanwezigheid van organisch materiaal.

Tenslotte werd het effect van diepvriezen getest op uien en spinazie waarbij geen afname werd geconstateerd na zes maanden diepgevroren bewaring.

Naast bovengenoemde studie zijn ook andere inactivatietechnieken onderzocht op virussen zoals hoge hydrostatische druk of irradiatie. Enkele voorbeelden van zulke studies zijn opgenomen in Tabel 3.

Conclusie

Uit dit onderzoek, gebaseerd op het modelvirus MNV, kan besloten worden dat conventionele hittebehandelingen in staat zijn norovirussen te inactiveren. Daarnaast is aangetoond dat minimale behandelingen, zoals milde pasteurisatieprocessen of decontaminatieprocedures, het niveau van virale besmetting kunnen verminderen. Bovendien zijn data beschikbaar betreffende het reducerend effect van alternatieve inactivatietechnieken op virussen zoals hoge hydrostatische druk en irradiatie. Er moet worden opgemerkt dat de afname bewerkstelligd door de meeste milde inactivatietechnieken enkel van belang is voor de volksgezondheid indien de initiële contaminatie laag is. Wanneer de beginconcentratie aan virussen hoog is, blijft er een hoge kans op infectie bij consumptie wegens de lage infectieuze dosis van het norovirus. Zodoende is het van cruciaal belang om besmetting te voorkomen door het hanteren van GAP en het handhaven van goede hygiënische praktijken in de volledige voedselketen.

Referentie

Baert, L., Debevere, J., Uyttendaele, M. (2009). The efficacy of preservation methods to inactivate foodborne viruses. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 83-94.

[beeld]

Figuur 1: Het Noro-virus is 27-32 nm groot en bestaat uit een eiwitmantel dat het virale genoom, een RNA streng, inkapselt (Figuur 1).

[beeld]

Figuur 2: Zacht fruit is door beregenen met besmet water of een slechte hygiëne bij het plukken, een belangrijke besmettingsbron.

Tabel 1: Overleving van virussen op gekoelde levensmiddelen

| Virus | | Overleving | Matrix | Log ₁₀ reductie |
|-----------------------|--------------------|----------------|---------------------------------|----------------------------|
| <i>Picornaviridae</i> | Poliovirus | 4°C 11,6 dagen | Sla | 1 |
| | Hepatitis A virus | 4°C 9 dagen | Versneden sla, wortelen | 2 |
| | | 4°C 4 weken | Gemarineerde mosselen (pH 3,75) | 1,7 |
| <i>Caliciviridae</i> | Feline calicivirus | 4°C 7 dagen | Sla | 2 |
| | | 4°C 6 dagen | Aardbeien | >2,5 |
| <i>Leviviridae</i> | MS2 | 4°C 7 dagen | Tomaat, sla, aardbeien,... | <1 |

Tabel 2: Het effect van reductiestrategieën op het MNV

| Reductiestrategieën | | Matrix | Log ₁₀ reductie |
|----------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|
| Hitte | 80°C 2,5 min | Celcultuur medium | ≥ 6,5 |
| | 65°C 0,5 min | Frambozenpuree | 1,9 |
| | 75°C 0,25 min | Frambozenpuree | 2,8 |
| | 80°C 1 min, 90°C 1 min | Spinazie | ≥ 2,7; 2,7 |
| Water | 0,42 min | uien | 0,4 |
| | 2 min | Spinazie | 1,0 |
| | 5 min | Versneden ijsbergsla | 1,1 |
| Perazijnzuur | 80 mg/l 5 min | Versneden ijsbergsla | 0,8* |
| | 250 mg/l 5 min | Versneden ijsbergsla | 1,4* |
| | 20 mg/l 5 min | Drinkwater | 2,4 |
| | 150 mg/l 5 min | Drinkwater | 3,4 |
| Natrium-hypochloriet | 20 mg/l | Versneden ijsbergsla | 0,6* |
| | 200 mg/l | Versneden ijsbergsla | 1,0* |
| Diepvriezen | -21°C 6 maanden | Geblancheerde spinazie | Geen reductie |
| | -21°C 6 maanden | Versneden uien | Geen reductie |

*Additionele reductie t.o.v. water

Tabel 3: Het effect van alternatieve reductiestrategieën op modelvirussen

| Virus | | Reductiestrategieën | Matrix | Log ₁₀ reductie |
|---------------------------------|--------------------|-----------------------------|------------------|----------------------------|
| Hittebehandeling | | | | |
| <i>Picornaviridae</i> | Poliovirus | 72°C 0,5 min | Melk | > 5 |
| | Hepatitis A virus | 71,6°C 0,25 min | Melk | 2 |
| <i>Caliciviridae</i> | Feline calicivirus | 70°C 1 min | Celcultuurmedium | 3 |
| Hoge hydrostatische druk | | | | |
| <i>Picornaviridae</i> | Poliovirus | 600 MPa OT* 5 min | Celcultuurmedium | Geen reductie |
| | Hepatitis A virus | 375 MPa 21°C 5 min | Aardbeienpuree | 4,3 |
| <i>Caliciviridae</i> | Feline calicivirus | 275 MPa OT* 5 min | Celcultuurmedium | > 6 |
| Irradiatie | | | | |
| <i>Picornaviridae</i> | Hepatitis A virus | UV: 40 mW s/cm ² | Sla | 4,3 |
| <i>Caliciviridae</i> | Feline calicivirus | UV: 40 mW s/cm ² | Sla | 3,5 |
| <i>Leviviridae</i> | MS2 | UV: 65 mW s/cm ² | Virussuspensie | 3 |

*OT: omgevingstemperatuur

Bron: Baert, L., Debevere, J., Uyttendaele, M. (2009).