

> Retouradres Postbus 43006 3540 AA Utrecht

**Aan de Inspecteur-Generaal van de Nederlandse
Voedsel- en Warenautoriteit**

**Advies van de directeur bureau Risicobeoordeling
& onderzoeksprogrammering**

**Advies over hepatitis E-virus in varkensbloed- en
andere producten**

**Bureau Risicobeoordeling &
onderzoeksprogrammering**

Catharijnesingel 59
3511 GG Utrecht
Postbus 43006
3540 AA Utrecht
www.nvwa.nl

Contactpersoon

T 088 223 33 33
risicobeoordeling@vwa.nl

Onze referentie

NVWA/BuRO/2016/156

Datum

3 augustus 2016

Aanleiding

In Nederland en ons omringende landen wordt sinds 2011 een mogelijk toegenomen incidentie van humane infecties met het hepatitis E-virus genotype 3 (HEV gt3) waargenomen. De belangrijkste bron (reservoir) van dit virus blijken varkens te zijn.

In 2015 heeft het Centrum Infectieziektebestrijding (CIb) van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) een deskundigenberaad georganiseerd, dat het vermoeden van een toegenomen HEV gt3-incidentie bij de mens in Nederland heeft bevestigd. De laboratorium surveillance van hepatitis E liet een stijging van de incidentie van 50 gevallen in 2012 naar 303 gevallen in 2015 zien. De stijging kan voor een deel door toegenomen diagnostiek verklaard worden. Het deskundigenberaad concludeerde wel dat de gevolgen voor de volksgezondheid van HEV in Nederland gering zijn, vanwege de beperkte ziektelast in de algemene bevolking. Toch heeft het beraad geadviseerd dat de NVWA onderzoek zou doen naar het voorkomen van HEV in verdachte varkensproducten¹.

In vervolg hierop heeft de NVWA een middel op basis van varkens fibrinogeen en thrombine, allebei bloedeiwitten, voor de koude binding van samengesteld vlees onderzocht. Aangezien de werkzaamheid van dit product als bindmiddel afhankelijk is van de functionele integriteit van de twee eiwitten, heeft het geen hittebehandeling ondergaan. Daardoor blijft de biologische activiteit weliswaar behouden, maar wordt mogelijk aanwezig HEV niet geïnactiveerd. Recent heeft het laboratorium van de NVWA in dit product HEV gt3 RNA aangetoond. In verband met deze bevinding heeft de Inspecteur-generaal van de NVWA (IG-NVWA) aan de directeur van bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering (BuRO) gevraagd nader onderzoek te doen naar HEV.

¹ http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:296723&type=org&disposition=inline&ns_nc=1

De onderzoeksvragen

De IG-NVWA heeft BuRO de volgende twee vragen gesteld:

- 1 Kunnen mensen hepatitis E krijgen van het eten van voedingsmiddelen waarin producten van varkensbloed zijn verwerkt?
- 2 Kunnen varkens geïnfecteerd worden met hepatitis E virus door het eten van veevoer dat is vervaardigd van varkensbloed?

Aanpak

BuRO heeft naar aanleiding van de vraag van de IG-NVWA een literatuurstudie uitgevoerd. Geraadpleegde bronnen waren Google, Google Scholar en Pubmed. Gebruikte zoektermen waren combinaties van de woorden pig blood products, hepatitis e virus, viremia, infectious dose of titer en primate model.

Daarnaast heeft BuRO mondeling en schriftelijk verstrekte informatie van bedrijf A, een producent van bloedproducten, bestudeerd. Dit bedrijf is daarna mondeling bevraagd om verdere toelichting over de productie en het gebruik van bloedproducten. Gedurende het onderzoek werd ook aan BuRO gevraagd of mensen hepatitis E kunnen krijgen door het eten van vleeswaren die afkomstig zijn van varkens. De reden voor de uitbreiding van de vraag was het gereedkomen van meetgegevens van de NVWA over HEV in leverworsten.

Samenvatting van de onderzoeksresultaten

Uit de literatuurstudie blijkt dat mensen een infectie met het genotype 3 van het hepatitis E virus (HEV) kunnen oplopen door de consumptie van onder andere onvoldoende gegaarde varkensproducten. Bij gezonde mensen verloopt een dergelijke infectie bijna altijd zonder ziekteverschijnselen. Ziekteverschijnselen treden vooral op bij personen met een verzwakte weerstand, zoals mensen die een orgaantransplantatie hebben ondergaan, maar ook bij personen met een onderliggend leverlijden.

Recent onderzoek van Sanquin en de NVWA heeft aangetoond dat erfelijk materiaal (RNA) van HEV in leverworst en bloedproducten veel voorkomt. Omstreeks 80% van de onderzochte leverworsten testte positief, waarvan enkele monsters werden getypeerd als HEV-gt3. Nederlandse consumenten worden dus aan HEV RNA blootgesteld door het nuttigen van deze producten. Omdat de test (een PCR) waarmee RNA wordt aangetoond geen onderscheid maakt tussen besmettelijke en niet besmettelijke virusdeeltjes en omdat het HEV niet eenvoudig te kweken is, is het op dit moment niet bekend of dit ook blootstelling aan infectieus HEV betekent.

Op dit moment bestaat er ook onduidelijkheid over de oorzaken van het toegenomen aantal HEV-infecties bij mensen in Nederland. De aanwezigheid van besmettelijk HEV in Nederlandse varkensproducten is waarschijnlijk, maar nog niet bewezen. Er is ook onduidelijkheid over wat het relatieve belang is van blootstelling aan HEV via levensmiddelen ten opzichte van andere blootstellingsroutes zoals via het milieu

HEV bij varkens is besmettelijk: één geïnfecteerd varken kan tot 8,8 andere varkens infecteren. Voor een succesvolle infectie via de orale route zijn grote aantallen virussen vereist. Daarom is het maar de vraag of blootstelling van varkens aan HEV via gesproeidroogd varkensplasma (SDPP) in veevoer een infectiebron van betekenis vormt. SDPP wordt tot 80°C verhit. Nog ongepubliceerde proeven die door een wetenschappelijk instituut in opdracht van bedrijf A werden verricht, duiden erop dat in batches SDPP voor humane consumptie een log 8 reductie van infectiviteit van een aantal varkensvirussen, waaronder het porcine sapelo virus dat net als HEV een RNA virus zonder envelop is, optreedt. Daardoor zijn virustiters in SDPP waarschijnlijk te laag om aanleiding tot een infectie bij varkens te kunnen geven.

Conclusies

In 2015 concludeerde het deskundigenberaad hepatitis E van het RIVM dat de gevolgen voor de volksgezondheid van HEV in Nederland gering zijn vanwege de beperkte ziektelast in de algemene bevolking. De resultaten van het onderzoek van de NVWA en Sanquin veranderen dit beeld niet. Wel kan het van belang zijn uit voorzorg de risicocommunicatie over HEV gericht op patiënten met een verzwakte weerstand, waaronder die een orgaantransplantatie hebben ondergaan, aan te scherpen.

Afgaande op deze conclusies luidt het antwoord op de onderzoeksvragen als volgt:

Ad 1. Kunnen mensen hepatitis E krijgen van het eten van voedingsmiddelen waarin producten van varkensbloed zijn verwerkt?

Uit het literatuuronderzoek blijkt dat het mogelijk is dat mensen via deze alimentaire route een hepatitis HEV gt3 infectie kunnen oplopen. Of mensen ook daadwerkelijk ziek worden, hangt af van gastheerfactoren en waarschijnlijk ook van de hoeveelheid virus waaraan men wordt blootgesteld.

Ad 2. Kunnen varkens geïnfecteerd worden met hepatitis E virus door het eten van veevoer dat is vervaardigd van varkensbloed?

Het is niet waarschijnlijk dat varkens met HEV worden geïnfecteerd door het eten van voer waarin bloedproducten zijn verwerkt.

Advies aan de inspecteur-generaal van de NVWA

BuRO adviseert het volgende:

1. Formuleer risicocommunicatie gericht op patiënten met een verzwakte weerstand, waaronder die een orgaantransplantatie hebben ondergaan, in samenwerking met de ketenpartners van de NVWA in de humane gezondheidszorg en, vanwege de mogelijke implicaties voor geneesmiddelen op basis van varkensproducten, informeer de IGZ over het NVWA-onderzoek naar HEV in bloedproducten en vleeswaren.
2. Faciliteer het opstellen van een onderzoekagenda. Belangrijk punt hierin is het bepalen van de infectiviteit van HEV in varkensproducten.
3. Evalueer het NVWA onderzoek naar HEV in levensmiddelen na twee jaar en bepaal of er vervolgonderzoek noodzakelijk is.

Hoogachtend,



prof. dr. Antoon Opperhuizen
directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

Onderbouwing advies

Hepatitis E-virus

Van het hepatitis E virus (HEV) zijn 4 genotypes bekend, die humane infecties kunnen veroorzaken. De genotypes kunnen verder in subtypes worden onderverdeeld. Die onderverdeling is gebaseerd op verschillen in het erfelijk materiaal, RNA in het geval van HEV. Van het in Nederland voorkomende genotype 3 bij voorbeeld zijn er 10 subtypen, die met de letters a tot en met j worden aangeduid. Het subtype 3c wordt in Nederland bij varkens en mensen het vaakst gezien. HEV heeft geen envelop, dat is een vethoudend vliesje dat sommige virussen omhult.

Het virus kan niet eenvoudig worden gekweekt, daarom vindt onderzoek naar het virus meestal plaats door het erfelijk materiaal aan te tonen. Met de hiervoor gebruikte test, de polymerase chain reaction (PCR), kan echter geen onderscheid worden gemaakt tussen besmettelijk (infectieus) en niet besmettelijk virus. Als HEV RNA in een bepaald product wordt aangetoond, is het dus de vraag of het om de aanwezigheid van besmettelijk virus gaat of om nog aanwezig dood erfelijk materiaal. Het niet kunnen kweken van HEV betekent ook dat het niet eenvoudig geteld kan worden. Om toch uitspraken te kunnen doen over hoeveel virus in een bepaald monster aanwezig is, worden verdunningsreeksen met een bekende RNA concentratie vergeleken met verdunningsreeksen van het te onderzoeken monster. Vervolgens kan de hoeveelheid virus RNA worden aangeduid als genoom equivalenten, genoom kopieën of internationale eenheden (international units, IU).

Genotype 1 komt vooral voor in Azië en genotype 2 vooral in Mexico en Afrika. Beide genotypes hebben de mens als reservoir en worden geassocieerd met slechte sanitaire voorzieningen. Genotypes 3 en 4 zijn zoönotische ziekteverwekkers, dat wil zeggen ziekteverwekkers die van dier op mens kunnen worden overgebracht en vooral in ontwikkelde landen onderkend als verwekker van humane ziekte.

Varkens en wilde zwijnen zijn natuurlijke gastheren van HEV gt3 en worden als belangrijkste dierlijke reservoir voor menselijke infecties gezien (Scobie and Dalton 2013). Een HEV infectie bij varkens is in de regel van korte duur en bovendien zonder ziekteverschijnselen. Varkens krijgen HEV zeer waarschijnlijk via de mond naar binnen. Eenmaal in het varken vermeerdert het zich vermoedelijk eerst in de cellen van de darmen en daarna komt het in de bloedbaan terecht. Dan is er sprake van een zogenaamde viremie. Als gevolg van de infectie maakt het dier antistoffen aan die na verloop van tijd vooral van het type IgG zijn en als indirecte marker voor een (doorgemaakte) infectie kunnen dienen.

HEV infecties bij mensen in ontwikkelde landen worden in het algemeen geassocieerd met stammen die genetisch op varkensstammen lijken (Pavio al 2014). In de meeste gevallen van autochtoon opgelopen HEV in deze landen is de

bron of transmissieroute niet bekend. Aangenomen wordt dat meerdere transmissieroutes van belang zijn, er ontbreekt bewijs voor één hoofdzakelijke transmissieroute of risicofactor (Lewis et al 2010). Mensen raken vermoedelijk met HEV geïnfecteerd als ze HEV via de mond binnen krijgen, bij voorbeeld door varkensproducten waarin het virus aanwezig is. Er is dan sprake van een zogenaamde alimentaire infectie, die, als ze in Nederland wordt opgelopen, ook als autochtone infectie wordt aangeduid. Bij gezonden mensen verloopt een infectie met HEV bijna altijd onopgemerkt. Als er wel ziekteverschijnselen zijn, zijn dat in het begin koorts en misselijkheid en later geelzucht, leververgroting, verminderde eetlust, buikpijn en jeuk (LCI richtlijn hepatitis E). Bij personen met een verzwakte weerstand kan een HEV infectie zonder tijdig medisch ingrijpen chronisch worden en leiden tot leverfalen.

Ziekteelast hepatitis E bij mensen

De door hepatitis E veroorzaakte ziekteelast was volgens het RIVM in 2012 maar 2 DALY's (Bouwknegt et al. 2015). Dit houdt verband met het gegeven dat de meeste autochtoon opgelopen HEV infecties asymptomatisch zijn, volgens Scobie en Dalton (2013) is dit het geval bij 67 – 98 % van de infecties. In 2016 werden in Nederland van januari tot en met half juni 133 ziektegevallen gemeld, in 2015 303 gevallen, 205 in 2014, 67 in 2013 en 50 in 2012. Voor een deel speelt toegenomen diagnostiek hierbij ook een rol (Verslag signaleringsoverleg d.d. 23 juni 2016). Tevens wordt bij het testen van bloeddonoren in toenemende mate HEV RNA in het bloed aangetoond: in 2011 en 2012 was dat 1 op 2671 geteste donoren (Slot et al. 2013) en in 2013 en 2014 1 op 762 geteste donoren (Hogema et al. 2016). De afgelopen jaren laten dus een toename van het aantal humane HEV gt 3 infecties zien.

Ook in andere Europese landen wordt een toename van de hepatitis E incidentie gezien, overigens zonder dat dit, net zoals in Nederland, met een toename van de ziekteelast gepaard gaat.

Het onderzoek

Voor het beantwoorden van de eerste vraag of mensen hepatitis E kunnen krijgen van het eten van voedingsmiddelen waarin varkensbloedproducten verwerkt zijn, is nagegaan of HEV in varkens voorkomt, vervolgens of het in bloedproducten voorkomt die verwerkt worden in varkensvleesproducten en of dit tot infecties bij de mens kan leiden.

HEV in de Nederlandse varkensstapel

In Nederland werd HEV RNA in 2005 bij meer dan 50% van de varkenshouderijen in de mest van de dieren aangetoond, een stijging ten opzichte van de in 1999 gevonden 33% (Rutjes et al. 2007) en werden HEV specifieke antistoffen bij 67% van onderzochte slachtvarkens en 12% van onderzochte wilde zwijnen aangetroffen (Rutjes et al, 2010). Op biologische varkenshouderijen was de HEV seroprevalentie significant hoger dan op gangbare bedrijven (89% vs. 72%;

Rutjes et al. 2014; gebaseerd op serummonsters genomen in 2004). Recente informatie over de prevalentie van HEV in mest of serum van de Nederlandse varkensstapel is niet beschikbaar.

Bloedproducten

In 2001 werd geschat dat 30% van de bloedproductie uit slachthuizen door de levensmiddelenindustrie werd gebruikt (Gatnau et al 2001). Tegenwoordig zal dat meer zijn maar er ontbreken cijfers om dit te onderbouwen (Ofori en Hsieh 2012). Binnen de levensmiddelenindustrie is de vleesverwerkende industrie de grootste afnemer van bloed en bloedproducten. Naast direct gebruik voor producten zoals bloedworst, kunnen bloed en eiwitten uit bloed als bindmiddel, kleurverbeteraar, emulgator, vetvervanger of pekelhulpstof worden gebruikt (Ofori en Hsieh 2012). Ook het gebruik als ijzersupplement of eiwitbron in bijzondere eet- en drinkwaren, zoals repen of eiwitdrankjes, is beschreven (Bah et al 2013, Ofori en Hsieh 2012). Behalve als bron van ingrediënten voor levensmiddelen kan dierlijk bloed ook als bron van bioactieve peptides dienen (Bah et al 2013). Omdat dit geen toepassing in levensmiddelen betreft, wordt op dit aspect hier niet nader ingegaan. Tabel 1 geeft een indruk van de diversiteit en de toepassingen van bloedproducten.

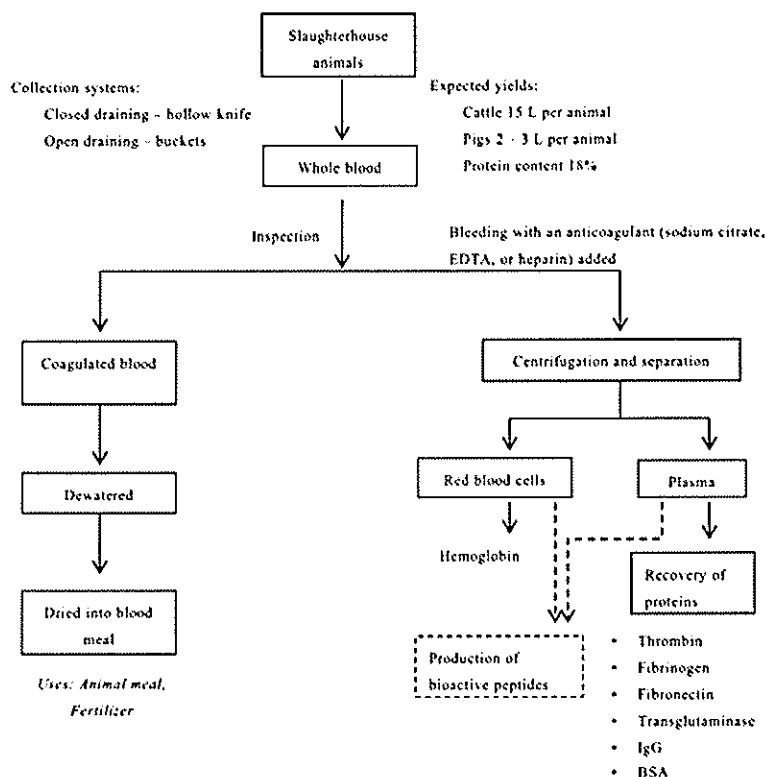
Product	Company	Source of blood	Description	Usage
Fibrinex®	Sonac BV, Netherlands	Porcine or bovine	Thrombin and fibrinogen protein isolate	Cold set binder for meat products
Plasma Powder FC	Sonac BV, Netherlands	Porcine or bovine	Plasma with increased fibrinogen concentration	Cold set binder for meat products
Harimix (C, P or P*)	Sonac BV, Netherlands	Porcine or bovine	Stabilized hemoglobin	Coloring for meat products
Hemoglobin	Sonac BV, Netherlands	Porcine or bovine	Frozen or powder hemoglobin	Natural coloring for meat products
PP	Sonac BV, Netherlands	Porcine or bovine	Frozen or powder plasma	Heat set binder for meat products
Prolican 70	Lican Functional Protein Source, Chile	Bovine	Spray-dried bovine plasma concentrate	Emulsifier, gelling and binding agent in meat-based products, fish-based products, pasta and bakery products
Prietin	Lican Functional Protein Source, Chile	Porcine	Spray-dried porcine whole blood	Emulsifier, gelling, binding and coloring agent in blood sausages, cured meats and pates
Myoned	Lican Functional Protein Source, Chile	Porcine or bovine	Natural colorant obtained from the red pigments of blood	Enhance meat color and increase contrast between fat and meat
ImmunoLin®	Proliant, USA	Bovine	Bovine serum concentrate	Immune system supplement
B7301	Proliant, USA	Bovine	Spray-dried bovine red blood cells	Enhance color and iron supplementation for meat products
AproRed	Proliant, USA	Porcine	Stabilized hemoglobin	Coloring for meat products
Aprofer 1000®	APC Europe, Spain	Porcine or bovine	Heme iron polypeptide	Iron supplementation
Proferrin®	Colorado Biolabs Inc., USA	Bovine	Heme iron polypeptide	Iron supplementation
Vepro 95 HV	Veas NV, Belgium	Bovine	Globin (hemoglobin with the heme group removed)	Emulsifier in meat products
Plasma	Veas NV, Belgium	Bovine or porcine	Liquid, powder, frozen or flaked plasma	Gelling and binding agent in meat products

Tabel 1: Bloedproducten (bron: Ofori en Hsieh 2012)

Bloed van slachtdieren wordt gewonnen door het direct uit het karkas met een op een vacuümsysteem aangesloten holle naald op te vangen. Na toevoeging van een antistolmiddel en centrifugatie wordt het bloed in cel- en plasmafractie gescheiden (afbeelding 1). Over de verdere verwerking wordt in de literatuur slechts in beperkte mate gerapporteerd. Voor de meeste in de

levensmiddelenindustrie gebruikte bloedproducten zijn de exacte fabricage procedés daarom op dit moment niet bij de NVWA bekend. In een email aan de NVWA geeft bedrijf A, een producent van onder andere varkensbloedproducten, aan dat vloeibare of bevroren bloedproducten geen en poedervormige bloedproducten wél een hittebehandeling hebben ondergaan. Het productieproces van thrombine en fibrinogeen ('vleeslijm') zijn kort in twee EFSA opinies beschreven (EFSA 2005, EFSA 2015). Thrombine wordt uit plasma door middel van ionenwisselingschromatografie en fibrinogeen door middel van koude precipitatie gewonnen. Deze producten zijn dus niet verhit.

Tijdens een informeel gesprek met vertegenwoordigers van bedrijf A is aan de NVWA mondeling informatie verstrekt over de verwerking van plasma. Ongeacht de verdere verwerking wordt door nanofiltratie aan het plasma water onttrokken. Na invriezen kan het dusdanig behandelde plasma op de markt worden gebracht. Plasma dat in poedervorm verhandeld wordt, wordt gesproeidroogd (spray dried porcine plasma, SDPP). Vóór het sproeidrogen wordt plasma gealkaliseerd tot een pH van 9,8. Het proces van sproeidrogen vindt plaats door het plasma in een droogkamer waarin lucht van 180°C wordt geblazen te verstuiven. Daarbij zou de temperatuur in de afzonderlijke druppels gedurende 30 tot 90 seconden oplopen tot 80°C. Het SDPP wordt vervolgens minstens 2 weken opgeslagen. Bedrijf A heeft onderzoek laten doen naar de overleving van verschillende varkensvirussen in dit proces. Voor het porcine sapelo virus, dat als RNA virus zonder envelop het meest op HEV leek, werd daarbij een meer dan log 8 reductie van de infectiviteit waargenomen. Heem, het ijzerhoudende onderdeel van hemoglobine, wordt uit hemoglobine door middel van sterke zuren gewonnen waardoor HEV waarschijnlijk niet overleeft (niet geverifieerde mededeling bedrijf A). Uit cijfers van bedrijf A blijkt dat zij in 2015 ruim 2000 ton varkensbloed en varkensbloedproducten als levensmiddel werden afgezet. Hiervan werden ruim 565 ton in bevroren of vloeibare toestand afgezet. Dit zijn volgens de producent producten die geen hittebehandeling hebben ondergaan.



Afbeelding 1: Winning en verwerking van dierlijk bloed (bron: Bah et al 2013)

Vanwege zijn neutrale smaak en kleur wordt plasma het vaakst als ingrediënt voor levensmiddelen gebruikt. De voornaamste toepassing van plasma is, vanwege zijn vermogen om bij verhitting gels te vormen, als bindmiddel in vleesproducten (hitte binding; Ofori en Hsieh 2012). In Nederland worden bevroren, vloeibaar of gedroogd poedervormig varkensplasma toegepast bij de productie van smac en diverse soorten worstjes. Het aanwenden van de plasma eiwitten thrombine en fibrinogeen (vleeslijm) als bindmiddel is gebaseerd op het natuurlijk vermogen van bloed stolsels te vormen. Daarbij zet het enzym thrombine fibrinogeen om in fibrine. Fibrine bindt vervolgens aan collageen waardoor de binding in samengesteld vlees wordt bewerkstelligd. Thrombine en fibrinogeen lenen zich niet voor een hittebehandeling aangezien de werkzaamheid als bindmiddel afhankelijk is van de structurele integriteit van de twee eiwitten. Koude binding van samengesteld vlees wordt toegepast omdat het gekoeld of bevroren verhandeld kan worden en qua textuur vergelijkbaar is met natuurlijk spiervlees. Ook speelt de vraag van consumenten naar uniforme portiegroottes een rol bij gebruik van deze toepassing (Ofori en Hsieh 2012). Plasma eiwitten van varkens en kippen werden ook gebruikt als protease inhibitor bij de productie van surimi (Bah et al 2013). Gedroogd of vloeibaar hemoglobine kan als kleurverbeteraar worden gebruikt bij de productie van gekookte ham en schouderham, worstjes, hamburgers en gehakt en droge, gefermenteerde worstjes. Voor de laatste productgroep noemt bedrijf A overigens het gebruik van

vloeibaar hemoglobine dat voor zover bekend geen hittebehandeling heeft ondergaan (zie boven).

Ofori en Hsieh (2012) noemen in hun overzicht het gebruik van globine en hemoglobine als emulgator, plasmaeiwitten als vetvervanger en 'cooked cured meat pigment', dat door behandeling van rode bloedcellen met een nitroserende en een of meerdere reducerende stoffen wordt gewonnen, als pekelhulpstof ter vervanging van nitriet. Daarnaast geven zij ook aan dat plasmaeiwitten als vervanger voor kippenei-eiwit in bakkerswaren gebruikt kunnen worden. Het is op dit moment bij de NVWA niet bekend of de laatst genoemde toepassingen van bloedproducten ook in Nederland aan de orde zijn.

Varkensproducten

Vleeswaren en orgaanvlees afkomstig van varkens lijken een belangrijke rol te spelen als bron van humane infecties. In de review van Lewis et al (2010) worden varkenspasteitjes, lever paté, zwijnenvlees, onvoldoende gegaard of rauw varkensvlees, eigen gemaakte worstjes, vlees in het algemeen, maar ook ongepasteuriseerde melk en schelpdieren als risicofactor voor het oplopen van een HEV infectie genoemd. Uit een Duitse case control studie kwam alleen het eten van orgaan- of zwijnenvlees als een belangrijke risicofactor naar voren (Wichmann et al 2008). Een case control studie in Engeland en Wales identificeerde de consumptie van ham, worstjes en 'pork pie' als risico factoren voor het oplopen van een autochtoon opgelopen HEV infectie (Said et al. 2014) Casuïstiek versterkt verder het vermoeden van een belangrijke rol voor alimentaire transmissie. In Australië konden 17 hepatitis E ziektegevallen die tussen 2013 en 2014 gedurende 9 maanden optraden, epidemiologisch aan het eten van varkenspaté in één restaurant gelinkt worden (Yapa et al 2016). In Japan werden identieke virussequenties in hertenvlees en patiënten gevonden die dat vlees hadden gegeten (Tei et al 2003, Takahashi et al 2004). Verder vertoonden sequenties in zwijnenvlees en een patiëntmonster een hoge mate van genetische gelijkheid (Li et al 2005). Identieke virussequenties werden ook gevonden in een serum monster afkomstig van de index patiënt van een HEV familie cluster en de verdachte rauwe varkensleverworst (figatellu) (Renou et al 2014).

Informatie over het voorkomen van HEV RNA in vlees of vleeswaren in Nederland was tot nu toe beperkt. In 2007 werd door Bouwknecht et al. geconstateerd dat 6,5% van de in retail bemonsterde varkenslevers HEV RNA bevatten. Verder waren 20 van 39 (51%) spiermonsters van experimenteel geïnfecteerde varkens HEV RNA positief (Bouwknecht et al 2009). Recent heeft Sanquin in een onderzoek naar de bronnen van hepatitis E virus infecties bij mensen 43 van 55 leverworsten (78%) en 12 van 15 varkenspaté monsters (80%) afkomstig van diverse producenten HEV RNA positief getest (bron: verslag van het signaleringsoverleg d.d. 23 juni 2016). In dezelfde periode heeft de NVWA een methode voor de detectie van HEV RNA voor vleesproducten opgezet, intern gevalideerd, en toegepast op varkenslevers die bemonsterd zijn in de detailhandel. Daarbij werden 11 van 79 levers (13,9%) positief bevonden voor HEV RNA, waarvan er 4 getypeerd konden worden met behulp van sequenties analyse als genotype 3c.

Daarnaast zijn variërende concentraties HEV RNA in 48 van 58 leverworsten (83%) aangetoond. Enkele monsters werden getypeerd als HEV gt3.

HEV RNA in varkenslevers, bemonsterd op verkoopplaatsen, werd behalve in Nederland ook in Japan, de VS en het VK in respectievelijk 1,9%, 14% en 1,3% van de onderzochte levers aangetoond (Berto et al 2012). Tien percent (6/63) van in het VK onderzochte varkens(braad)worstjes bleken HEV RNA positief (Berto et al 2012). Slechts 1% en geen van de in dit VK onderzoek bemonsterde levers en spierweefsel waren HEV positief. Mansuy et al (2016) rapporteerde dat bijna 50% van in Zuidwest-Frankrijk, waar HEV hoog endemisch is bij varkens, bemonsterde rauwe varkensleverworsten HEV RNA bevatten, sommige met 700.000 genoom kopieën/g. Van 394 verschillende op de aanwezigheid van HEV onderzochte andere varkensvlees producten, waaronder figatellu, waren 68 (17,3%) HEV RNA positief. In de betreffende producten werden HEV RNA concentraties tussen 10^2 en 10^6 genoom kopieën/g gevonden. Van 4 van deze in Zuid Frankrijk HEV RNA positief gevonden leverworsten bleek 1 levensvatbaar, infectieus virus te bevatten, aangetoond met een 3D celcultuur(celkweek in een bioreactor) (Berto et al 2013). Drieëndertig van de 68 HEV RNA sequenties hadden 98% of meer genetische overeenkomst met menselijke en/of varkenssequenties (Pavio et al 2014). In Canada onderzochten Leblanc et al (2010) verschillende organen en excreten van 43 slachtvarkens. Onder andere in 9 levers (20,9%) en 1 plasma monster (2,3%) werd HEV RNA aangetroffen. RNA concentraties in levermonsters werden geschat tussen de 3.2×10^3 tot 9.9×10^7 genoom kopieën/g. Szabo et al (2015) toonden in een Duits onderzoek HEV RNA aan in 14 van 70 (20%) rauwe varkensworsten (salami) en 11 van 50 (22%) leverworsten. Gevonden sequenties vertoonden nauw verwantschap met stammen afkomstig van Duitse hepatitis E patiënten.

Hepatitis E virus viremie in varkens

Aangezien informatie over de aanwezigheid van HEV in varkensbloedproducten beperkt lijkt, alleen Pujols et al (2014) rapporteerden over de aanwezigheid van HEV RNA in 11 van 49 (22,4%) onderzochte monsters gesproeidroogd varkensplasma, richtte het onderzoek voor de risicobeoordeling zich op het verloop van de HEV infecties bij varkens en daarbij vooral op het tijdstip van ontstaan van de viremie en de duur daarvan.

Onder natuurlijke condities verwerven biggen passieve immuniteit tegen HEV door maternale antistoffen. De concentratie van deze antistoffen neemt tegen de leeftijd van 8 tot 10 weken af, waarna bij blootstelling aan HEV op een leeftijd tussen 14 tot 17 weken seroconversie optreedt. De seroconversie correspondeert met een viremie piek op een leeftijd van 15 weken die geleidelijk tot aan de slachtleefijd afneemt (Pavio et al 2010). Dit beeld wordt door andere studies grosso modo bevestigd. Recent hebben Salines et al (2015) in een experimentele studie aangetoond dat co-infectie van varkens met het porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) van invloed is op het beloop van HEV infecties bij varkens. Onder andere werd aangetoond dat bij HEV en PRRSV geïnfecteerde varkens de duur van de uitscheiding van HEV significant verhoogd

is, namelijk 48.6 dagen versus 9.7 dagen bij alleen met HEV geïnfecteerde dieren. PRRSV waart ook in de Nederlandse varkensstapel rond en is geen humaan pathogeen.

In de eerste helft van 2013 werd in Groot Brittannië bij 629 slachtvarkens onderzoek gedaan naar HEV antilichamen en RNA in het bloed. De seroprevalentie was 92,8% (584/629). HEV RNA werd aangetoond in 15% (93/629) van de onderzochte ceca, 3% (22/629) van de plasma monsters en 2% (14/629) in beide matrices. De prevalentie van acute HEV infecties op het moment van de slacht werd geschat op 20,5%. Een hoog viremisch niveau werd bij 6 dieren gevonden. Hoewel zeldzaam, worden hoog viremische dieren als beste kandidaten voor alimentaire HEV overdracht door varkensvleesconsumptie beschouwd en postuleren de auteurs dat plasma viremie een goede marker is voor mogelijke alimentaire transmissie (Grierson et al 2015).

Takahashi et al (2014) voeren aan dat varkens in het algemeen op een leeftijd van 8 tot 16 weken HEV geïnfecteerd raken. Anti HEV IgG titers nemen toe met de leeftijd en pieken op een leeftijd van 16 weken en nemen daarna af, hetgeen een indicatie is voor een tijdelijke infectie. Op een leeftijd van 12 weken was de HEV RNA serum prevalentie het hoogst, 14% of 145 van 1060 varkens. Geen van de 386 24 weken oude varkens had detecteerbaar HEV RNA in het serum (Takahashi et al 2014). In 2007 werden in Zuid Frankrijk 215 sera, 207 feces monsters en 107 gal monsters van 12 of 24 weken oude varkens onderzocht. Honderdzeven 24 weken oude varkens waren afkomstig van één slachthuis en de 100 12 weken oude varkens waren afkomstig van één bedrijf. Daarnaast werden ook 8 12 weken oude varkens die als proefdier werden gebruikt onderzocht. HEV RNA werd in 65% (65/100) van de onderzochte 12 weken oude varkens afkomstig van één bedrijf aangetoond maar niet in de 24 weken oude varkens. HEV RNA werd significant vaker in feces dan in sera aangetoond (65% vs. 22%). De proefdieren waren HEV PCR negatief (Kaba et al 2009). De hier beschreven HEV RNA seroprevalentie van 65% is van alle gevonden onderzoeken het hoogst. Hoewel de dieren afkomstig waren van één bedrijf moet deze bevinding waarschijnlijk gezien worden in het licht van de hoge endemiciteit van HEV in Zuid Frankrijk.

In een Spaans onderzoek naar viremie bij varkens werden bij dieren op een leeftijd van 1, 3, 6, 9, 12, 15, 18, en 22 weken bloedmonsters genomen en op HEV RNA onderzocht. De hoogste prevalentie werd bij biggen van 15 weken oud gezien waarbij 42,3% (11/26) van de dieren HEV positief waren. Op het eind van de studie in week 22 waren nog twee dieren (12,5%) HEV RNA serum positief (De Deus et al 2008).

Om de natuurlijke transmissie van HEV op varkensbedrijven te onderzoeken werd in Canada de aanwezigheid van HEV in 51 varkens op een gesimuleerd varkensbedrijf vanaf een leeftijd van 2 weken tot aan de slacht onderzocht. Monsters werden op 4 momenten genomen, op een leeftijd van 2, 8, 18 en een leeftijd tussen 22 en 29 weken. Onderzocht werden anti HEV IgG en HEV RNA in

plasmamonsters en HEV RNA in feces. Op een leeftijd van twee weken werd HEV RNA in de feces van 6 dieren (11,8%) aangetoond maar niet in hun plasma. Op een leeftijd van 8 weken werd HEV RNA in de feces van 27 dieren (52,9%) en in het plasma van één van de dieren aangetoond. Op een leeftijd van 18 weken werd HEV RNA in de feces van 44 dieren (86,2%) en in het plasma van 27 dieren (47,1%) gedetecteerd. Op slachtleefijd was HEV RNA aanwezig in het plasma van 6 dieren (11,8%) en de feces van 24 dieren (47,1%) (Leblanc et al 2007).

In Japan had geen van de 218 4 weken oude en 136 24 weken oude varkens detecteerbaar HEV RNA in het serum. HEV RNA kon wel worden aangetoond in 11 (6%) 8 weken oude varkens, in 32 (10%) 12 weken oude varkens, 10 (6%) 16 weken oude varkens en 2 (0,5%) 20 weken oude varkens (Takahashi et al 2005).

Hepatitis E virus in varkensbloedproducten

De NVWA heeft recent HEV RNA in 30 van 38 (78,9%) verschillende soorten varkensbloedproducten aangetoond (ongepubliceerde data). Daarbij testten alle 23 onderzochte batches vloeibare (onverhitte) producten positief (varkensbloed 3 pos/3 getest, varkensplasma 5/5, varkenshemoglobine 5/5, varkensfibrinogeen 5/5, hemoglobine rund/varken 5/5). Van de 15 onderzochte batches poedervormige producten testten er 7 (46,6%) HEV RNA positief. Geen van de 5 batches varkenshemoglobine poeder testte HEV RNA positief. Vier van de 5 monsters varkensplasma poeder en drie van de 5 monsters hemoglobinepoeder rund/varken testten HEV RNA positief. Het in de bloedproducten gevonden HEV genotype was 3c.

Thermische stabiliteit van HEV

Barnaud et al (2012) onderzochten de resterende infectiviteit van HEV in hittebehandelde paté-achtige producten gemaakt van geïnfecteerde levers. Daarbij werden 9 verschillende tijd en temperatuur combinaties toegepast. De gekozen temperaturen, 62°C, 68°C en 71°C, kwamen overeen met temperaturen die bij de industriële vleeswerking worden toegepast. Residuale infectiviteit werd in specifiek pathogeen vrije (SPF) varkens onderzocht. Uit de resultaten bleek dat een kerntemperatuur van 71°C gedurende 20 min nodig is om HEV compleet te inactiveren in deze specifieke matrix. Een temperatuur van 62°C had nagenoeg geen effect op de inactivatie van het virus. Het onderzoek van Barnaud et al bevestigt dat temperaturen van 71°C nodig zijn om HEV te inactiveren. In tegenstelling tot wat Feagins et al hebben gevonden zijn daarvoor geen 5 minuten maar 20 minuten vereist. Barnaud et al schrijven dit verschil toe aan de aanwezigheid van vet (30%) in hun paté-achtige leverbereiding terwijl Feagins et al (2008) hun proef met onbewerkte lever hebben gedaan. Zij vermoeden dat het virus beschermt en bijdraagt aan zijn hittestabiliteit, een effect dat ook bij andere voedsel overdraagbare virussen is waargenomen. In de 20 minuten op 71°C behandelde monsters, waarmee varkens niet konden worden geïnfecteerd, werden met RT-PCR nog $4,6 \times 10^4$ genoom equivalenten/g HEV RNA aangetroffen. Dit is een algemeen probleem met de moleculaire detectie van HEV RNA met behulp van PCR, waarbij geen onderscheid gemaakt kan worden tussen RNA afkomstig van infectieus en non-infectieus virus (Richards, 1999). Hetgeen

aantoont dat in dit geval geen duidelijke correlatie was tussen het aantal HEV genoom kopieën en infectiviteit.

In een poging te bepalen wat het effect van gebruikelijke kookprocedures op de inactivatie van HEV is, werden de suspensies van gecentrifugeerde homogenaten van hittebehandelde levers van natuurlijk geïnfecteerde varkens in SPF varkens intraveneus geïnoculeerd. Wanneer homogenaten gedurende 1 uur op 56°C werden geïncubeerd, raakten 4 van 5 geïnoculeerde varkens geïnfecteerd. Wanneer leverblokjes (afmetingen 0,5 – 1 cm²) gedurende 5 minuten op 191°C in olie werden geroerbakken of in water werden gekookt, vertoonden geen van de varkens die met de vervolgens bereide suspensies werden geïnoculeerd tekenen van infectie. De bij de hittebehandeling bereikte interne temperatuur in de leverblokjes was 71°C (Feagins et al 2008).

Infectieuze dosis mens

De infectieuze dosis van HEV bij de mens is onbekend. Uit studies met non humane primaten is gebleken dat klinisch beeld, immuunrespons, ernst van de symptomen en klinisch-chemische markers van leverschade toenemen met de grootte van het inoculum (Teshale 2013). Kasorndorkbua (2004) stelt dat HEV infecties bij primaten afhankelijk van de dosis zijn. Geschat wordt dat de infectieuze dosis bij makaken bij intraveneuze inoculatie 1000 keer groter is dan bij orale (FSA 2014). Dat houdt in dat voor het ontstaan van een HEV infectie bij orale blootstelling waarschijnlijk hoge virustiters vereist zijn.

Discussie

Hoewel varkens in het algemeen op jonge leeftijd HEV geïnfecteerd raken, HEV viremie piekt omstreeks een leeftijd van 3 maanden en neemt met toenemende leeftijd steeds verder af, zijn er op het moment van de slacht nog steeds dieren die HEV in de bloedsomloop hebben. Volgens Bouwknecht et al (2009) is het tijdstip van infectie van varkens met HEV van invloed op de aanwezigheid van HEV in varkensvlees in de retail. Infecties laat in het leven van een vleesvarken kunnen tot HEV-positief vlees in de retail leiden. Bloed van varkens die op het moment van de slacht viremisch zijn kan, indien het voor humane consumptie wordt gewonnen, leiden tot blootstelling van consumenten aan HEV via producten waarin dit bloed verwerkt is. Recent hebben Salines et al (2015) gevonden dat co-infectie van varkens met HEV en PRRSV tot een geprolongeerde uitscheiding van HEV leidt en mogelijk ook tot een chronische infectie waardoor het risico op aanwezigheid van HEV in varkenslevers aanzienlijk toeneemt.

Het in de loop der jaren gerapporteerde percentage dieren met HEV viremie op slachtleefijd (6 maanden) loopt uiteen tussen de 0 en 12,5%. Informatie over het niveau van viremie op het moment van slachten is beperkt. De meest recente data zijn afkomstig van Grierson et al (2015). Zij detecteerden in het plasma van 36/629 (5,7%) slachtvarkens HEV RNA (22 alleen in plasma, 14 in plasma én ceca) daarbij varieerden RNA concentraties tussen detecteer- maar niet kwantificeerbaar en 10⁶ IU/ml. De detectielimiet in dit onderzoek was 22 IU/ml. Bij 6 dieren lagen HEV RNA niveaus in het plasma boven 10² IU/ml.

In Nederland werden in 2015 15.485.100 varkens geslacht. Als hiervan 12,5% viremisch zouden zijn geweest, zouden dus ruim 1,9 miljoen varkens op het moment van de slacht HEV in de bloedsomloop hebben gehad. Bij een conservatievere schatting van 5% viremische dieren zouden nog steeds 774.000 HEV-viremische varkens geslacht zijn. Volgens bedrijf A leveren tot 10.000 dieren bloed voor één batch. Ongeacht het niveau van viremie moet, gelet op het grote aantal dieren en het aantal verschillende bedrijven waar deze dieren worden afgemest, er vanwege een pooling effect van worden uitgegaan dat in principe elke batch varkensbloed HEV besmet is. Viremie tijdens het slachten betekent ook dat er in het vlees HEV aanwezig kan zijn. Slachtdieren bloeden immers niet helemaal uit waardoor vlees 1 tot 2% bloed kan bevatten (mondellinge mededeling bedrijf A).

De NVWA heeft in een verkennend onderzoek HEV RNA aangetoond in alle batches bevroren of vloeibare producten (23/23). Dit bevestigt wat in de vorige alinea over het pooling effect is gezegd. Of dit ook betekent dat er besmettelijk virus in de producten aanwezig is, is niet bekend. Op dit moment is bij de NVWA nog niet exact bekend in welke levensmiddelen varkensbloed-producten worden verwerkt en welke verhittingsstappen de betreffende vleeswaren ondergaan. Bedrijf A heeft informatie verstrekt over de dosering van varkensbloed-producten. Deze loopt uiteen van 0,75% hemoglobine poeder of 1% vloeibare hemoglobine in smac en diverse, ook gefermenteerde, worstsoorten, tot 15% bevroren/vloeibaar bloed in bloedworst en dergelijke. Gefermenteerde worstsoorten ondergaan geen hittebehandeling. Toevoeging van vloeibare varkenshemoglobine of een mengsel van vloeibare varkens- en runder-hemoglobine aan deze producten leidt, voor zover er infectieus virus in zit, daarom mogelijk tot blootstelling van consumenten aan HEV. Op leverworst na, zie volgende alinea, is er op dit moment nog geen zicht op de bij de productie van overige vleeswaren toegepaste tijd-temperatuur combinaties. Met betrekking tot het gebruik van varkens-thrombine en -fibrinogeen voor de productie van samengesteld varkensvlees is er waarschijnlijk geen verhoogd risico op blootstelling van consumenten aan HEV. Enerzijds omdat natuurlijk gegroeid varkensvlees ook HEV kan bevatten, anderzijds omdat varkensvlees in Nederland in het algemeen goed gegaard wordt geconsumeerd. Mocht varkens-thrombine en -fibrinogeen echter op een frauduleuze manier worden aangewend voor de productie van samengesteld vlees op basis van rundvlees, is er wel een aannemelijke additionele blootstelling omdat rundvlees niet altijd volledig gegaard wordt geconsumeerd.

Er is beperkt onderzoek gedaan naar de overleving van HEV in complexere matrices (lever, paté). De resultaten van deze onderzoeken duiden op een minimale temperatuur voor de thermische inactivatie van HEV van 71°C, waarbij de vereiste tijdcomponent in het ene onderzoek (lever) 5 minuten en in het andere (paté) 20 minuten was. De hittestabiliteit van HEV in samengestelde vleeswaren lijkt verhoogd te zijn. Recent onderzoek van Sanquin en NVWA laat niet eerder gerapporteerde hoge percentages HEV RNA, rond de 80%, in leverworst en paté zien. Terwijl tien jaar geleden nog 6,5% in de retail

bemonsterde varkenslevers HEV RNA bevatten, was dat blijktens onderzoek van de NVWA in 2016 13,9%. Pavio et al (2014) voeren aan dat tot 750 varkenslevers in één batch vleeswaar op basis van lever verwerkt kunnen worden. Bij een besmettingspercentage van 15,9% raakt de hele batch HEV besmet met een hoge prevalentie van HEV in de resulterende vleeswaren als gevolg. De bij de productie van leverworst gehanteerde temperatuur/tijd combinatie is ca. 75°C gedurende 2 minuten in de kern van het product. Dat is, gelet op de uitkomst van gedane inactiveringsproeven, waarschijnlijk niet voldoende om HEV te inactiveren.

De infectieuze dosis van HEV bij de mens is onbekend. Kwantificering van HEV is lastig omdat celkweek notoir moeilijk is. Reverse transcriptie-PCR, de gouden standaard voor de detectie van HEV, biedt maar in beperkte mate uitkomst omdat met de methode geen onderscheid gemaakt kan worden tussen infectieus en geïnactiveerd virus (Richards 1999). Een deel van het aangetoonde HEV RNA zal niet levend virusmateriaal betreffen, wat ook bleek uit onderzoek naar de infectiviteit van HEV na diverse hittebehandelingen van HEV door Barnaud et al. (Barnaud 2012). De gevonden prevalenties HEV RNA betreffen dus een bovenschatting van infectieus HEV.

De oorzaken van de toegenomen incidentie van autochtoon opgelopen HEV gt3 infecties in Nederland en andere landen zijn niet goed bekend. De consumptie van varkensvlees in Nederland is in ieder geval gedaald, tussen 2005 en 2014 met 7% van 40,2 kg per jaar per hoofd van de bevolking naar 37,4 kg in 2014 (Verhoog et al 2015). In dezelfde periode is de totale Nederlandse varkensstapel gegroeid van 11.311.558 naar 12.238.120 dieren, een stijging van 8%, waarbij het aantal bedrijven echter afnam (bron: CBS). Tussen 1999 en 2005 is de HEV prevalentie op basis van HEV RNA in mestmonsters op Nederlandse varkensbedrijven gestegen van 33 naar 55% (Rutjes et al, 2007). De actuele prevalentie is niet bekend. Een mogelijk doorgezette trend van een stijgende HEV prevalentie in de varkensstapel naar 2016 en een geregistreerde toegenomen grootte van de varkensstapel zouden op een verhoogde blootstelling van mensen aan HEV kunnen duiden.

Voor een gedegen schatting van de mate van blootstelling van de Nederlandse consument aan HEV via varkensbloedproducten of varkenslevers is informatie nodig over de per capita consumptie van die producten, de (infectieuze) HEV prevalentie in deze producten en de minimale infectieuze dosis bij de consument. Deze gegevens zijn op dit moment niet beschikbaar. Het is wel bekend dat door ten minste één bedrijf in Nederland 565 ton onverhitte varkensbloed(producten) als levensmiddelingrediënt in 2015 werden afgezet en dat alle door de NVWA onderzochte batches van onverhitte varkensbloedproducten HEV RNA bleken te bevatten.

Vleeswaren op basis van varkenslever zijn in Nederland HEV RNA positief getest met een hogere prevalentie dan ooit in de literatuur beschreven. De oorzaken hiervan zijn nog niet bekend maar zouden eventueel verband kunnen houden met co-infectie van Nederlandse varkens met HEV en PRRSV of de toegenomen

omvang van varkensbedrijven met een groter risico op binnenbedrijf verspreiding van HEV. De bij de productie van leverworst gehanteerde tijd/temperatuut combinatie is waarschijnlijk niet voldoende om HEV te inactiveren.

Ook varkensvlees kan mogelijk, vanwege de aanwezigheid van residuaal bloed HEV, bevatten. Vanwege het geringe volume bloed, 1 tot 2%, is de virusload in vlees waarschijnlijk laag.

Gelet op het bovenstaande is het niet uit te sluiten dat consumenten via varkensbloedproducten of varkenslevers aan infectieus HEV worden blootgesteld. Of dit ook tot klinische infecties leidt, is niet bekend. De incidentie van klinische HEV gt3 infecties in Nederland is in ieder geval laag maar neemt toe. Of mensen een klinische infectie met HEV krijgen hangt onder andere van de virale load in het inoculum af. Bij proeven met non-humane primaten is een dosis respons relatie voor hepatitis E waargenomen. Als dat ook bij de mens van toepassing is, zou dat betekenen dat kleine inocula gerelateerd zijn aan geen of milde ziekteverschijnselen en grote inocula aan ernstigere ziektebeelden. De huidige situatie van hepatitis E in Nederland met een groot aantal asymptomatische infecties en een zeer gering aantal klinische infecties duidt op blootstelling van de bevolking aan relatief kleine inocula via één of meerdere producten die door een groot aantal personen worden genuttigd. Wilhelm et al (2011) voeren in lijn hiermee aan dat onder andere de vereiste van een bepaalde minimale virale load een verklaring zou kunnen zijn voor het relatief geringe aantal autochtoon opgelopen gevallen van klinische hepatitis E.

Risicogroepen

Naast de virale load zijn ook gastheerfactoren van belang voor de uitkomst van een HEV infectie. Klinische ziekte na een HEV gt3 infectie wordt voornamelijk bij mannen ouder dan 50 jaar gezien. Patiënten met een verzwakte weerstand, waaronder patiënten die een orgaantransplantatie hebben ondergaan, lopen het risico een chronische hepatitis na een HEV gt3 infectie te ontwikkelen (LCI richtlijn hepatitis E).

Conclusie

Uit het literatuuronderzoek blijkt dat mensen via de alimentaire route hepatitis E veroorzaakt door HEV gt3 kunnen krijgen. Het is evident dat ook in Nederland consumenten alimentair via varkensproducten aan HEV gt3 RNA worden blootgesteld. Of dit ook blootstelling aan infectieus virus betekent, staat nog niet vast maar is wel aannemelijk. Ziekte als gevolg van blootstelling aan HEV lijkt een consequentie van blootstelling aan een hoge virusload en/of blootstelling van een immuungecompromitteerde persoon.

Voor het beantwoorden van de tweede vraag of varkens geïnfecteerd kunnen worden met hepatitis E virus door het eten van veevoer dat is vervaardigd van varkensbloed, is nagegaan over welk voer het gaat en of dat mogelijk is geïnfecteerd met HEV.

Infectie van veevoer door HEV

Gesproeidroogd varkensplasma (spray dried porcine plasma, SDPP) wordt als ingrediënt voor biggenvoer gebruikt. Hierbij rijst de vraag of deze praktijk bijdraagt aan de verspreiding van HEV in de varkensstapel.

Wat de kans op aanwezigheid van HEV RNA in dit product betreft, geldt hetzelfde als voor varkensbloedproducten voor humane consumptie. Op slachtleeftijd hebben de meeste dieren geen virus meer in de bloedsomloop maar, gelet op de geraadpleegde literatuur, kan tot 12,5% van de slachtvarkens nog viremisch zijn.

Bij de productie van SDPP wordt het varkensplasma verneveld en aan hitte blootgesteld. Volgens Pujols et al (2014) wordt het vloeibare plasma daarbij door en door tot meer dan 80°C verhit. De auteurs zijn van mening dat dit theoretisch volstaat om HEV te inactiveren, ook al wordt niet aangegeven hoe lang de blootstelling aan hitte duurt. Dezelfde auteurs hebben SPDD onderzocht en vonden in 100% van de monsters HEV antistoffen en in 22% van de monsters HEV RNA. Ze deden ook onderzoek naar varkens die met SDPP werden gevoerd. Eén van de SPDD batches was daarbij HEV RNA positief. Geen van de varkens in de proef seroconverteerde. Pujols et al trekken vervolgens de conclusie dat SPDD geen risico vormt voor de transmissie van HEV in de varkensstapel.

Recent (2016) heeft de NVWA 4 van 5 batches plasmapoeder van één productiebedrijf HEV RNA positief getest.

Pavio et al. (2010) berichten dat voor een succesvolle infectie van varkens na orale blootstelling een groot aantal genoom equivalenten in het inoculum vereist is. Dat komt overeen met de observatie dat varkens in een onderzoeksetting oraal niet eenvoudig met HEV geïnfecteerd kunnen worden (Bouwknegt et al 2008).

In het onderzoek van Bouwknegt et al 2008 werd een R_0 van 8,8 bij voor HEV infecties onder contact-varkens van het initieel geïnfecteerde varken berekend. Dat houdt in dat één geïnfecteerd varken meer dan 8 andere varkens kan besmetten in een populatie van volledig vatbare varkens.

Gelet op de hoge R_0 van HEV bij varkens is het maar de vraag of blootstelling aan HEV via SDPP een bron van betekenis vormt voor de infectie van varkens op bedrijven. De beschreven verhitting van SDPP zal ongetwijfeld tot een reductie van infectiviteit leiden. Proeven van bedrijf A duiden erop dat in batches gedroogd varkensplasma voor humane consumptie een log 8 reductie optreedt van infectiviteit van een aantal varkensvirussen, waaronder het porcine sapelo virus dat net als HEV een RNA virus zonder envelop is. Hierdoor zullen varkens uiteindelijk wel door SDPP aan HEV blootgesteld kunnen worden maar zijn virustiters waarschijnlijk te laag om aanleiding tot een productieve infectie te kunnen geven.

Conclusie

Blootstelling van varkens aan HEV door SDPP is niet uitgesloten. In de meeste gevallen zal dit echter niet tot een infectie leiden. Contact tussen geïnfecteerde en immunologisch naïeve varkens is ongetwijfeld de meest belangrijke transmissie route van HEV bij varkens.

Onzekerheden

In het hepatitis E dossier bestaat onduidelijkheid over een aantal zaken. De oorzaken van de toegenomen HEV incidentie in Nederland zijn niet bekend, de vraag of consumenten door het eten van varkensproducten hepatitis E kunnen oplopen kan nog niet met zekerheid beantwoord worden en evenmin is er duidelijkheid over het relatieve belang van de alimentaire andere blootstellingsroutes van HEV, zoals via het milieu.

Het deskundigenberaad hepatitis E heeft in 2015 geconcludeerd dat de gevolgen voor de volksgezondheid van HEV vanwege de beperkte ziektelast in de algemene vooralsnog gering lijken. Het aantonen van HEV RNA in varkensbloedproducten en vleeswaren verandert dat beeld niet. Wel bieden deze bevindingen handvatten voor gerichte risicocommunicatie naar specifieke risicogroepen voor ernstige infectie, waarbij de consumptie van hoog risico levensmiddelen kan worden ontraden. Uit voorzorg is zo voor patiënten na een beenmerg- of orgaantransplantatie een voorlopig voedingsadvies geformuleerd dat gericht is op het vermijden van producten waar mogelijk infectieus HEV in aanwezig is. Dit advies is recent aan behandelaars van de betrokken patiënten meegedeeld (verslag signaleringsoverleg 23 juni 2016).

Literatuur

Bah, C. S.F., Bekhit, A. E.-D. A., Carne, A. and McConnell, M. A. (2013), Slaughterhouse Blood: An Emerging Source of Bioactive Compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12: 314–331. doi: 10.1111/1541-4337.12013,

Barnaud E, Rogée S, Garry P, Rose N, Pavio N. Thermal Inactivation of Infectious Hepatitis E Virus in Experimentally Contaminated Food. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012;78(15):5153-5159. doi:10.1128/AEM.00436-12.

Berto A, Martelli F, Grierson S, Banks M. Hepatitis E Virus in Pork Food Chain, United Kingdom, 2009–2010. *Emerging Infectious Diseases*. 2012;18(8):1358-1360. doi:10.3201/eid1808.111647.

Berto A, Grierson S, Hakze-van der Honing R, et al. Hepatitis E Virus in Pork Liver Sausage, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2013;19(2):264-266. doi:10.3201/eid1902.121255.

Bouwknegt M, Lodder-Verschoor F, van der Poel WH, Rutjes SA, de Roda Husman AM. Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. *J Food Prot*. 2007 Dec;70(12):2889-95

Bouwknegt M, Frankena K, Rutjes S, Wellenberg G, de Roda Husman A, van der Poel W, de Jong M. Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure. *Veterinary Research*. (2008) 39:40 DOI: 10.1051/vetres:2008017

Bouwknegt M, Friesema I, Mangen M, van Pelt W, Havelaar A. De ziektelast van voedselgerelateerde infecties in Nederland, 2009-2012. *Infectieziekten Bulletin* 2015; 26 (1) 10-13

Bouwknegt M, Rutjes S, Reusken C, et al. The course of hepatitis E virus infection in pigs after contact-infection and intravenous inoculation. *BMC Veterinary Research*. 2009;5:7. doi:10.1186/1746-6148-5-7.

de Deus N, Casas M, Peralta B, Nofrarías M, Pina S, Martín M, Segalés J. Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm. *Vet Microbiol*. 2008 Nov 25;132(1-2):19-28. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.04.036.

EFSA. Use of an enzyme preparation based on thrombin/fibrinogen derived from cattle and or pigs as a food additive for reconstituting food. *EFSA Journal* (2005) 214, 1-8

EFSA. Scientific Opinion on thrombin from cattle (bovines) and pig's blood. *EFSA Journal* 2015;13(9):4018

Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *International journal of food microbiology*. 2008;123(1-2):32-37. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.068.

FSA. FSA Project FS101074. A critical review of the effect of heat, pH and water activity on the survival of Hepatitis A and E viruses. 2014

Gatnau R, Polo J, Robert E. 2001. Plasma protein antimicrobial substitution at negligible risk. *Cahiers Options Mediterraneennes* (2001) 54: 141-150

Grierson S, Heaney J, Cheney T, et al. Prevalence of Hepatitis E Virus Infection in Pigs at the Time of Slaughter, United Kingdom, 2013. *Emerging Infectious Diseases*. 2015;21(8):1396-1401. doi:10.3201/eid2108.141995.

Hogema B, Molier M, Sjerps M, de Waal M, van Swieten P, van de Laar T, Molenaar-de Backer M, Zaaijer H. Incidence and duration of hepatitis E virus infection in Dutch blood donors. *Transfusion*. 2016 Mar;56(3):722-8. doi: 10.1111/trf.13402.

Kaba M, Davoust B, Marié J, Barthet M, Henry M, Tamalet C, Raoult D, Colson P. Frequent transmission of hepatitis E virus among piglets in farms in Southern France. *J Med Virol*. 2009 Oct;81(10):1750-9. doi: 10.1002/jmv.21553.

Kasorndorkbua, C. Pathogenesis and transmission of hepatitis E virus (HEV) in pigs (2004). *Retrospective Theses and Dissertations*. Paper 1168.

LCI-richtlijn Hepatitis E, versie van 24 april 2016
http://www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/LCI_richtlijn_Hepatitis_E

Leblanc D, Ward P, Gagné M, Poitras E, Müller P, Trottier Y, Simard C, Houde A. Presence of hepatitis E virus in a naturally infected swine herd from nursery to slaughter. *Int J Food Microbiol*. 2007 Jun 30;117(2):160-6.

Leblanc D, Poitras E, Gagné M, Ward P, Houde A. Hepatitis E virus load in swine organs and tissues at slaughterhouse determined by real-time RT-PCR. *Int J Food Microbiol*. 2010 May 15;139(3):206-9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.016..

Lewis H, Wichmann O, Duizer E. Transmission routes and risk factors for autochthonous hepatitis E virus infection in Europe: a systematic review. *Epidemiol Infect*. 2010 Feb;138(2):145-66. doi: 10.1017/S0950268809990847.

Li T-C, Chijiwa K, Sera N, et al. Hepatitis E Virus Transmission from Wild Boar Meat. *Emerging Infectious Diseases*. 2005;11(12):1958-1960. doi:10.3201/eid1112.051041.

Mansuy J, Gallian P, Dimeglio C, Saune K, Arnaud C, Pelletier B, Morel P, Legrand D, Tiberghien P, Izopet J. A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors. *Hepatology*. 2016 Apr;63(4):1145-54. doi: 10.1002/hep.28436.

Ofori J, Hsieh Y. The Use of Blood and Derived Products as Food Additives, *Food Additive*, Yehia El-Samragy (Ed.). 2012. InTech, DOI: 10.5772/32374. Available from: <http://www.intechopen.com/books/food-additive/the-use-of-blood-and-derived-products-as-food-additives>

Pavio N, Meng X-J, Renou C. Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Veterinary Research*. 2010;41(6):46. doi:10.1051/vetres/2010018.

Pavio N, Merbah T, Thébault A. Frequent Hepatitis E Virus Contamination in Food Containing Raw Pork Liver, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2014;20(11):1925-1927. doi:10.3201/eid2011.140891.

Pujols J, Rodríguez C, Navarro N, et al. No transmission of hepatitis E virus in pigs fed diets containing commercial spray-dried porcine plasma: a retrospective study of samples from several swine trials. *Virology Journal*. 2014;11:232. doi:10.1186/s12985-014-0232-x.

Renou C, Afonso A-MR, Pavio N. Foodborne Transmission of Hepatitis E Virus from Raw Pork Liver Sausage, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2014;20(11):1945-1947. doi:10.3201/eid2011.140791.

Richards G. Limitations of Molecular Biological Techniques for Assessing the Virological Safety of Foods. *J Food Prot*. 1999 Jun;62(6):691-7.

Rutjes S, Lodder W, Bouwknecht M, de Roda Husman A. Increased hepatitis E virus prevalence on Dutch pig farms from 33 to 55% by using appropriate internal quality controls for RT-PCR. *J Virol Methods*. 2007 Jul;143(1):112-6.

Rutjes S, Lodder-Verschoor F, Lodder W, J van der Giessen J, Reesink H, Bouwknecht M, de Roda Husman A. 2010. Seroprevalence and molecular detection of hepatitis E virus in wild boar and red deer in The Netherlands. *J. Virol. Methods* 2010 168:197-206

Rutjes S, Bouwknecht M, van der Giessen J, de Roda Husman A, Reusken C. Seroprevalence of hepatitis E virus in pigs from different farming systems in The Netherlands. *J Food Prot*. 2014 Apr;77(4):640-2

Said B, Ijaz S, Chand M, Kafatos G, Tedder R, Morgan D. Hepatitis E virus in England and Wales: indigenous infection is associated with the consumption of processed pork products. *Epidemiol Infect*. 2014 Jul;142(7):1467-75. doi: 10.1017/S0950268813002318.

Salines M, Barnaud E, Andraud M, et al. Hepatitis E virus chronic infection of swine co-infected with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Veterinary Research*. 2015;46(1):55. doi:10.1186/s13567-015-0207-y.

Scobie L, Dalton H. Hepatitis E: source and route of infection, clinical manifestations and new developments. *Journal of Viral Hepatitis*. 2013 20: 1–11. doi: 10.1111/jvh.12024

Slot E, Hogema B, Riezebos-Brilman A, Kok T, Molier M, Zaaier H. Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012. *Euro Surveill*. 2013 Aug 1;18(31). pii: 20550.

Szabo K, Trojnar E, Anheyer-Behmenburg H, Binder A, Schotte U, Ellerbroek L, Klein G, John R. Detection of hepatitis E virus RNA in raw sausages and liver sausages from retail in Germany using an optimized method. *Int J Food Microbiol*. 2015 Dec 23;215:149-56. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.013..

Takahashi M, Okamoto H. Features of hepatitis E virus infection in humans and animals in Japan. *Hepato Res* 2014 44: 43–58. doi:10.1111/hepr.12175

Takahashi K, Kitajima N, Abe N, Mishiro S. Complete or near-complete nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology*. 2004 Dec 20;330(2):501-5.

Takahashi M, Nishizawa T, Tanaka T, Tsatsalt-Od B, Inoue J, Okamoto H. Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan. *J Gen Virol*. 2005 Jun;86(Pt 6):1807-13.

Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. 2003 Aug 2;362(9381):371-3.

Teshale E, Chapter 19 - Hepatitis E, In *Food Science and Technology*, edited by J. Glenn Morris and Morris E. Potter, Academic Press, San Diego, 2013, Pages 287-292, *Foodborne Infections and Intoxications (Fourth Edition)*, ISBN 9780124160415, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416041-5.00019-6>.

Verhoog D, Wijsman H, Terluin I. *Vleesconsumptie per hoofd van de bevolking in Nederland, 2005-2014*. Wageningen, LEI Wageningen UR (University & Research centre), LEI Report 2015-120.

Wichmann O, Schimanski S, Koch J, Kohler M, Rothe C, Plentz A, Jilg W, Stark K. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis*. 2008 Dec 15;198(12):1732-41. doi: 10.1086/593211.

Wilhelm B, Rajić A, Greig J, Waddell L, Trottier G, Houde A, Harris J, Borden L, Price C. A systematic review/meta-analysis of primary research investigating swine, pork or pork products as a source of zoonotic hepatitis E virus. *Epidemiol Infect.* 2011 Aug;139(8):1127-44. doi: 10.1017/S0950268811000677.

Yapa C, Furlong C, Rosewell A, Ward K, Adamson S, Shadbolt C, Kok J, Tracy S, Bowden S, Smedley E, Ferson M, Sheppard V, McAnulty J. First reported outbreak of locally acquired hepatitis E virus infection in Australia. *Med J Aust.* 2016 Apr 18;204(7):274.