



Epidemiologisches Bulletin

16. Februar 2017 / Nr. 7

AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN ZU INFektionsKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

Vermehrter Anstieg der Norovirus-Infektionen in der Winter-Saison 2016/2017

Nachweis einer neuen Norovirus-Variante

Hintergrund

Noroviren sind weltweit verbreitet und verursachen 18% der akuten Gastroenteritiden, sie werden in der nördlichen Hemisphäre vermehrt in den Wintermonaten (Oktober bis März) nachgewiesen.¹ Humanpathogene Noroviren werden in drei Genogruppen unterteilt (GI, GII und GIV) wobei die Genogruppen weiterhin in Genotypen differenziert werden. Zur Zeit unterscheidet man neun GI und 22 GII Genotypen.² Der weltweit dominante Genotyp GII.4 verursacht 70%–80% der akuten Gastroenteritiden.³ Dieser Genotyp verändert sich fortlaufend durch Anhäufung von Mutationen im Genom und bildet alle 3–4 Jahre eine neue Driftvariante aus, die die vorherige vollständig verdrängt. Neben genetischer Drift verändern sich Noroviren auch durch Rekombinationen. Dabei treten sowohl inter- als auch intragenotypische Rekombinanten auf. In den Saisons zirkulieren in der Regel mehrere Virusvarianten, wobei meist ein Genotyp dominant vorherrschend ist.

Verlauf des Saisonbeginns 2016/2017

Im Jahr 2016 begann die Norovirus-Saison mit einer unerwartet hohen Anzahl an Norovirus-Erkrankungen. Bereits für den Monat November wurden 14.935 labordiagnostisch bestätigte Norovirus-Erkrankungen an das Robert Koch-Institut (RKI) übermittelt, während für denselben Zeitraum der letzten fünf Jahre der Median bei 7.810 bestätigten Erkrankungen lag (s. Abb. 1). Es ist bekannt, dass ein starker Anstieg von Norovirus-Infektionen oft durch das Auftreten von neuen Virusvarianten verursacht werden kann, da diese veränderten Viren oft als *Escape*-Varianten der Herdenimmunität entkommen. So auch in der Saison

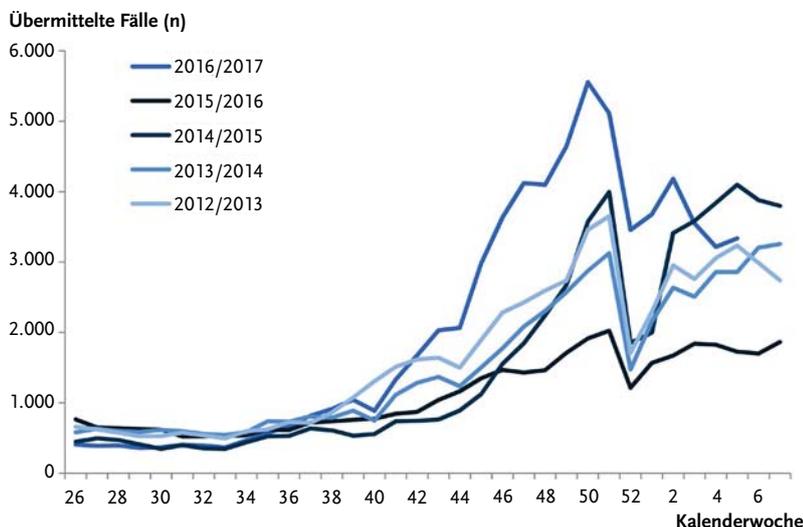


Abb. 1: Übermittelte Norovirus-Fälle nach RKI-Referenzdefinition (laborbestätigte Erkrankungen) pro Kalenderwoche in Deutschland in der Saison 2016/17 im Vergleich zu früheren Saisons, Stand 13.2.2017

Diese Woche 7/2017

Vermehrter Anstieg der Norovirus-Infektionen in der Winter-Saison 2016/2017 – Nachweis einer neuen Norovirus-Variante

Hinweis auf Veranstaltungen

Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten
4. Woche 2017

Zur Situation von Influenza-Erkrankungen für die
6. Kalenderwoche 2017



2007/2008, in der ein früher und starker Anstieg an labor-diagnostisch bestätigten Erkrankungen registriert wurde. Dieser Anstieg war bedingt durch das Auftreten der damals neuen Variante GII.4 2006b.^{4,5} Um zu überprüfen, ob es einen Zusammenhang zwischen dem außergewöhnlich starken Anstieg von Norovirus-Erkrankungen und dem Auftreten einer oder mehrerer Norovirus-Rekombinanten in der Saison 2016/2017 gibt, wurden am Konsiliarlabor für Noroviren molekularepidemiologische Untersuchungen der aktuell zirkulierenden Viren verstärkt durchgeführt.

Phylogenetische Untersuchung von Norovirus-positiven Proben

Zwischen September und Dezember 2016 wurden 240 Norovirus-positive Stuhlproben von Patienten mit Norovirus-bedingter akuter Gastroenteritis aus 13 Bundesländern untersucht. 175 Proben stammten aus insgesamt 69 Ausbrüchen, davon waren 39 Ausbrüche aus Kindertagesstätten sowie 12 Ausbrüche aus Pflegeeinrichtungen, diese Proben stammten aus insgesamt 11 Bundesländern (Baden-Württemberg, Bayern, Berlin, Hessen, Niedersachsen, Mecklenburg-Vorpommern, Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz, Sachsen, Schleswig-Holstein und Thüringen). Sporadischen Norovirus-Erkrankungen konnten 65 Proben zugeordnet werden. Diese Proben stammten aus sechs Bundesländern (Baden-Württemberg, Berlin, Brandenburg, Hamburg, Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen) und wurden von Krankenhäusern und Diagnostiklaboren

an das Konsiliarlabor für Noroviren zur weiteren Feintypisierung eingesandt. Alle Proben wurden molekularbiologisch charakterisiert. Genombereiche der offenen Leserahmen (*open reading frames*) ORF1 und ORF2 wurden sequenziert und mittels phylogenetischen Analysen entsprechenden Genotypen zugeordnet.

Norovirus-Rekombinante GII.P16-GII.2

In 240 untersuchten und genotypisierten Proben konnte eine neu auftauchende Norovirus-Variante nachgewiesen werden, die bisher nicht in Deutschland bei Ausbrüchen oder sporadischen Fällen beschrieben wurde (s. Tab. 1, S. 69). Die Untersuchungen zeigten, dass eine Rekombination von GII.P16 Viren (ORF1) und GII.2 Viren (ORF2) stattgefunden hat und dadurch die Rekombinante GII.P16-GII.2 entstanden ist (s. Abb. 2 a+b).

Zur Analyse des Rekombinationspunktes wurde von 14 Proben ein Genombereich mit 2.019 Nukleotiden amplifiziert und sequenziert, der sowohl einen Teil des ORF1 als auch einen großen Teil des ORF2 umfasst. Die Rekombinationsanalysen ergaben einen Rekombinationspunkt im Übergangsbereich des ORF1 und ORF2 in der *Junction*-Region gelegen (Nukleotid Position 732–734 des Norovirus-Genoms); s. Abb. 3, Seite 69.

Die neue Rekombinante konnte in 29 von 69 Ausbrüchen in neun Bundesländern identifiziert werden (Thüringen,

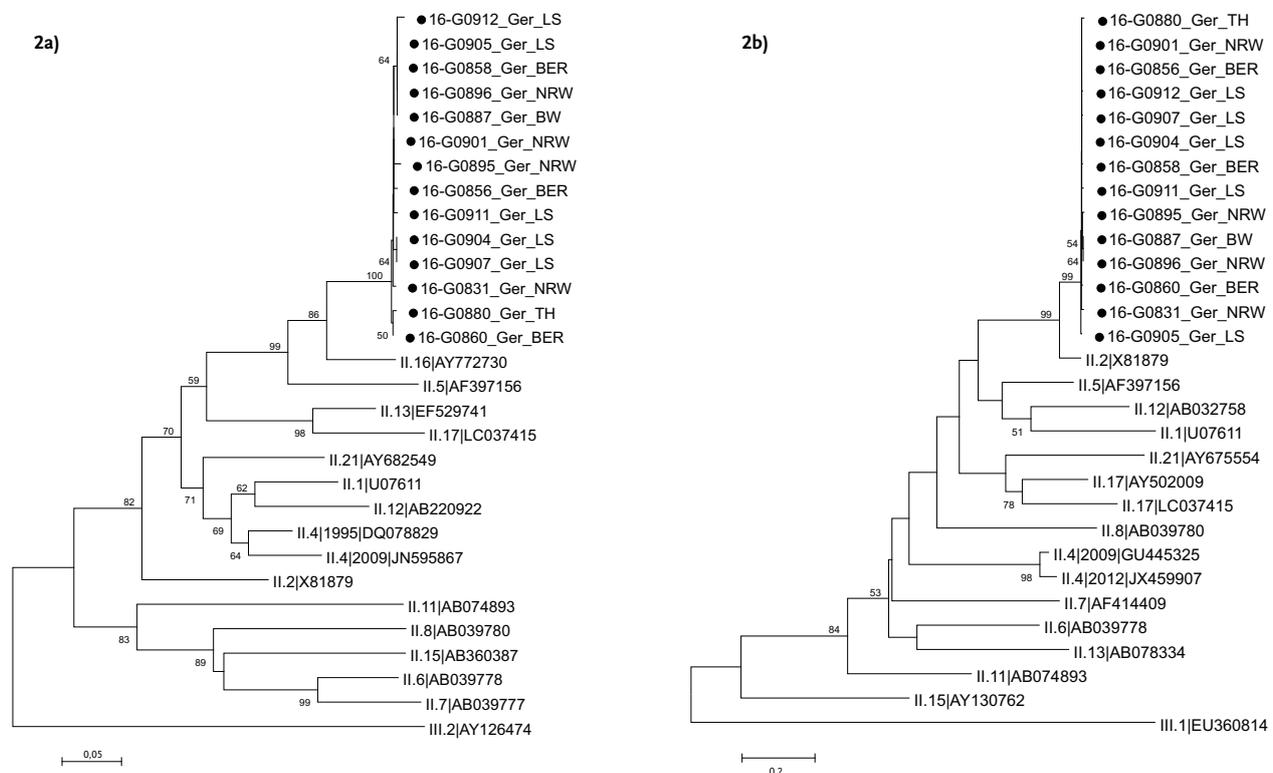


Abb. 2: Phylogenetische Analyse a) eines 357 bp großen Genombereiches des ORF1 und b) eines 628 bp großen Genombereiches der P2 Region im ORF2. Dargestellt sind 14 repräsentative Proben, gekennzeichnet mit schwarzem Punkt. Die Zuordnung der Genotypen erfolgt mit Hilfe von Referenzsequenzen. Sequenz-Alignments wurden mittels ClustalW und der *Neighbor-Joining*-Stammbäume mit dem Programm MEGA7 errechnet. Die *Bootstrap*-Analyse wurde mit 1.000 Wiederholungen durchgeführt und Werte größer als 50 wurden dargestellt. Verwendete Abkürzungen im Probenamen: GER: Deutschland, NRW: Nordrhein-Westfalen; LS: Niedersachsen; BW: Baden-Württemberg; BER: Berlin; TH: Thüringen

Norovirus-Genotyp	Detektiert in sporadischen Erkrankungen (n/%)	Detektiert in Ausbrüchen (n/%)
GI.P1-GI.1	0/0	1/1,4
GI.P3-GI.3	3/4,6	2/2,9
GI.P4-GI.4	1/1,5	3/4,3
GI.P5-GI.5	0/0	1/1,4
GI.Pb-GI.6	0/0	2/2,9
GII.P2-GII.2	1/1,5	0/0
GII.P4 2009-GII.4 2012	5/7,7	7/10,1
GII.P7-GII.6	1/1,5	4/5,8
GII.P7-GII.7	0/0	3/4,3
GII.P8-GII.8	0/0	1/1,4
GII.P16-GII.2	31/47,7	29/42,0
GII.P16-GII.4 2012	7/10,8	7/10,1
GII.P17-GII.17	0/0	6/8,7
GII.P21-GII.3	2/3,1	1/1,4
GII.P21-GII.13	1/1,5	0/0
GII.Pe-GII.4 2012	12/18,5	2/2,9
GII.Pg-GII.1	1/1,5	0/0
Gesamt	65	69

Tab. 1: Verteilung der zirkulierenden Norovirus-Genotypen, die zwischen September und Dezember 2016 am Konsiliarlabor für Noroviren analysiert wurden

Nordrhein-Westfalen, Baden-Württemberg, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Rheinland-Pfalz, Hessen, Berlin, Bayern). In den 65 untersuchten Proben von sporadischen Norovirus-Infektionen konnte in 31 Proben die neue Rekombinante GII.P16-GII.2 als ätiologisches Agens detektiert werden. Diese Proben stammten aus vier Krankenhäusern in Berlin, Nordrhein-Westfalen, Baden-Württemberg und Niedersachsen (s. Tab. 1). Neben der neuen

GII.P16-GII.2 Virusvariante wurden weitere Norovirus-Genotypen detektiert, die jedoch im geringeren Maß vorherrschend waren als z. B. in der Saison 2015/2016. Diese waren im Einzelnen die Norovirus-Genotypen GI.P3-GI.3, GII.P17-GII.17 sowie die rekombinanten Viren GII.Pe-GII.4 2012 und GII.P4 2009-GII.4 2012 (s. Beitrag im *Epidemiologischen Bulletin* 23/2016).

Auswirkungen auf den labordiagnostischen Nachweis von Noroviren durch die Rekombinante GII.P16-GII.2

Der Nachweis von Norovirus aus Stuhlproben erfolgt meist durch Detektion der viralen RNA mittels RT-PCR, durch den Nachweis der viralen Antigene im ELISA oder mit Hilfe von immunochromatographischen Testmethoden erhältlich als kommerzielle Produkte oder durch *in-house* Methoden. In der Saison 2014/2015 ist der Genotyp GII.17 weltweit gehäuft aufgetreten. GII.17 ist jedoch in den Antikörper-basierten Testsystemen nur unzureichend detektierbar.^{6,7} Das Viruskapsid der neuen Rekombinante GII.P16-GII.2 wird von einem Genotyp gebildet (GII.2), der schon seit langem in Deutschland und Europa zirkuliert und bislang von allen gängigen kommerziellen Nachweismethoden zuverlässig detektiert werden konnte. Erste vorläufige Untersuchungen am Konsiliarlabor für Noroviren deuten darauf hin, dass die neue Virusrekombinante GII.P16-GII.2 von den Antikörper-basierten Testsystemen detektiert wird. Mit Hilfe der am Konsiliarlabor für Noroviren generierten Sequenzdaten, die in der GenBank unter der *Accession Nr.* KY357449 bis KY357462 abrufbar sind, können bestehende PCR-Systeme überprüft werden. Hierzu kann das Konsiliarlabor für Noroviren nach Rücksprache entsprechendes Referenzmaterial zur Prüfung der diagnostischen Nachweissysteme zur Verfügung stellen.

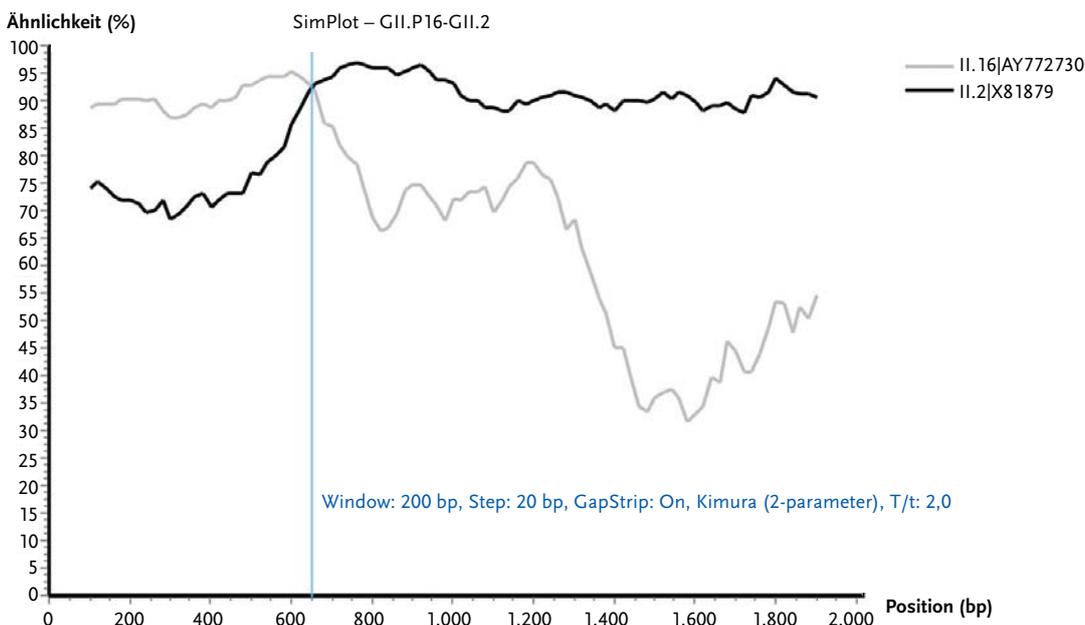


Abb. 3: SimPlot Analyse eines 2.019 bp Fragments vom ORF1 bis zum ORF2 der GII.P16-GII.2 Rekombinante. Die Y-Achse zeigt die Ähnlichkeit der Sequenzen mit den Referenzsequenzen (GI.16|AY772730 und GII.2|X81879). Die X-Achse zeigt die Nukleotidposition, entsprechend der Nukleotid-Position 4.411–6.430 des GII.16 Genotyps (Accession Nr. AY772730)

Fazit

Unsere eingehenden Untersuchungen konnten belegen, dass die unerwartet hohe Anzahl an Norovirus-Erkrankungen der Saison 2016/2017 in Zusammenhang mit dem Auftreten eines neuen rekombinanten Norovirus-Typs GII.P16-GII.2 steht. Diese Rekombinante konnte sowohl in sporadischen Infektionen als auch in Norovirus-assoziierten Ausbrüchen nachgewiesen werden, die insgesamt neun Bundesländer betrafen. GII.P16-GII.2 wurde im letzten Jahr sporadisch in verschiedenen Ländern nachgewiesen und an das internationale Netzwerk NoroNet gemeldet. Sequenzdaten und Berichte gibt es aus Australien, Finnland, Frankreich und Russland. Des Weiteren wurde die neue Rekombinante auch in Japan und China sporadisch detektiert.^{8,9} Diese Berichte lassen den Schluss zu, dass es sich bei der neuen Rekombinanten um eine weltweit zirkulierende Virusvariante handelt. Ob sie den in Deutschland dominanten Genotyp GII.Pe-GII.4 2012 ersetzen kann, können nur weitergehende Untersuchungen klären. Auch der Einfluss auf Ausbruchsgeschehen, den Einfluss auf die Herdenimmunität und Schwere der Symptomatik muss in weiteren Studien geklärt werden.

Das Konsiliarlabor für Noroviren bedankt sich bei allen einsendenden Ärzten, Laboren und Gesundheitsämtern.

Dieser Artikel ist im Original bei Eurosurveillance erschienen und wurde für das *Epidemiologische Bulletin* angepasst: Niendorf S, Jacobsen S, Faber M, Eis-Hübinger AM, Hofmann J, Zimmermann O, Höhne M, Bock CT: Steep rise in norovirus cases and emergence of a new recombinant strain GII.P16-GII.2, Germany, winter 2016. *Euro Surveill.* 2017;22(4):pii=30447. DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.4.30447>

Literatur

- Ahmed SM, et al.: Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2014;14(8):725–30
- Kroneman A, et al.: Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol* 2013;158(10):2059–68
- de Graaf M, et al.: Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era? *Euro Surveill* 2015;20(26)
- Bruggink L, Catton M, Marshall J: A norovirus intervariant GII.4 recombinant in Victoria, Australia, June 2016: the next epidemic variant? *Euro Surveill* 2016;21(39)
- Bernard H, et al.: Epidemiology of norovirus gastroenteritis in Germany 2001–2009: eight seasons of routine surveillance. *Epidemiol Infect* 2013;1–12
- Chan MC, et al.: Reduced Diagnostic Performance of Two Norovirus Antigen Enzyme Immunoassays for the Emergent Genogroup II Genotype 17 Kawasaki 2014 Variant. *J Clin Microbiol* 2016
- Thery L, et al.: Evaluation of immunochromatographic tests for the rapid detection of the emerging GII.17 norovirus in stool samples, January 2016. *Euro Surveill* 2016;21(4)
- Iritani N, et al.: Detection and genetic characterization of human enteric viruses in oyster-associated gastroenteritis outbreaks between 2001 and 2012 in Osaka City, Japan. *J Med Virol* 2014;86(12):2019–25
- Wang YH, et al.: Molecular epidemiology of noroviruses in children and adults with acute gastroenteritis in Wuhan, China 2007–2010. *Arch Virol* 2012;157(12):2417–24

■ ^{*}Dr. Sandra Niendorf, [†]Dr. Sonja Jacobsen und ^{**}Dr. Mirko Faber.
Robert Koch-Institut | ^{*}Abteilung für Infektionskrankheiten – FG 15 Virale Gastroenteritis- und Hepatitisserreger und Enteroviren | ^{**}Abteilung Infektionsepidemiologie – FG 35 Gastrointestinale Infektionen, Zoonosen und tropische Infektionen

Korrespondenz: NiendorfS@rki.de

■ Vorgeschlagene Zitierweise:
Niendorf S, Jacobsen S, Faber M: Vermehrter Anstieg der Norovirus-Infektionen in der Winter-Saison 2016/2017 – Nachweis einer neuen Norovirus-Variante
Epid Bull 2017;7:67–70

Konsiliarlabor für Noroviren

Institution: Robert Koch-Institut
Fachgebiet 15
Seestraße 10
13353 Berlin

Ansprechpartner: Dr. Sandra Niendorf
Dr. Sonja Jacobsen

Telefon: +49 (0)30 18754–2375

Telefax: +49 (0)30 18754–2617

E-Mail: KL-Noroviren@rki.de

Homepage: www.rki.de/kl-noroviren

Leistungsübersicht

- ▶ Molekularbiologischer Nachweis von Norovirus-RNA mittels qualitativer und quantitativer Nukleinsäureamplifikationstechniken aus Stuhlproben;
- ▶ Molekulare Feincharakterisierung im Rahmen von Ausbrüchen (Genotyppdifferenzierung) mittels Sequenzierung in verschiedenen Genomregionen, Infektketten-Aufklärung;
- ▶ Aufbau und Optimierung von molekularen Methoden zur Diagnostik viraler Gastroenteritis-Erreger;
- ▶ Beratung und Unterstützung zur Diagnostik weiterer viraler Gastroenteritis-Erreger;
- ▶ Molekularbiologischer Nachweis von Sapovirus-, Astrovirus- und Bocavirus aus Stuhlproben;
- ▶ Beratung zu Anforderungen an das Untersuchungsmaterial und Versandbedingungen;
- ▶ Bereitstellung von Referenzmaterial

Hinweis: Vor Einsendung von Untersuchungsmaterial wird um telefonische Absprache mit dem Labor gebeten.