

Noroviruses – the most common cause non-bacterial foodborne infections in humans

Pakulska M., Jackowska-Tracz A., Tracz M.,
Department of Food Hygiene and Public Health
Protection, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw
University of Life Sciences – SGGW

This paper aims at the presentation of important viral foodborne infections in humans. Noroviruses (NoV) cause the majority of acute infectious non-bacterial gastroenteritis (AING) and is recognized as a prominent cause of foodborne outbreaks worldwide. NoVs detection is difficult as they are not cultivable in vivo. However, the recent improvement in norovirus-specific diagnostics, demonstrated that NoVs are among the top five pathogens causing foodborne illnesses. Norovirus-associated gastroenteritis outbreaks occur in schools, hospitals, nursing homes and cruise ships. Food contamination by NoV can occur during all stages of production, both in primary production and further processing. A common source of noroviral infection are bivalve molluscs, as they are able to accumulate norovirus particles by water filtration. Norovirus is very infectious and highly stable in the environment. Recently there are no microbial criteria for NoVs in food, what make it difficult to take noroviruses risk into HACCP consideration.

Keywords: norovirus, foodborne outbreaks, acute gastroenteritis.

Niewielu zdaje sobie sprawę z zagrożenia, jakie stanowią dla norowirusy (NoV), a przecież są one najczęstszym czynnikiem etiologicznym ostrego zakaźnego niebakteryjnego zapalenia żołądka i jelit u ludzi (acute infectious nonbacterial gastroenteritis – AING; 1, 2).

Obecnie najczęstsze zakażenia pokarmowe u ludzi stanowią powodowane przez czynniki bakteryjne (w szczególności *C. jejuni*, *S. Enteritidis* i *E. coli* O157:H7) oraz zakażenia powodowane przez norowirusy. Według danych Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (European Food Safety Authority – EFSA) wirusy izolowane z żywności są drugim, zaraz po salmonelach, najczęściej izolowanym czynnikiem będącym przyczyną zakażeń pokarmowych w krajach Unii Europejskiej (3). Według danych amerykańskiego Centrum Zwalczania i Zapobiegania Chorobom (Centers for Disease Control and Prevention-CDC) wśród patogenów powodujących najwięcej zachorowań w wyniku spożycia zanieczyszczonej mikrobiologicznie żywności na pierwszym miejscu w 2011 r. znalazły się norowirusy (58% zachorowań), a następnie *Salmonella* spp. (11%) i *Clostridium perfringens* (10%; 4). Szacuje się, że w Wielkiej Brytanii każdego roku na ostry niezbyt żołądka i jelit powodowany

Norowirusy w żywności – najczęstszy niebakteryjny czynnik zakażeń pokarmowych u ludzi

Małgorzata Pakulska*, Agnieszka Jackowska-Tracz, Michał Tracz

z Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

przez norowirusy zapada około 2 mln ludzi (5). Norowirus jest obecnie dominującym patogenem przewodu pokarmowego u dzieci, rozprzestrzaniąm wraz z żywnością, powodującym ostre zapalenie żołądka i jelit (food-borne gastroenteritis). Liczba zachorowań na tle norowirusowym u pacjentów pediatrycznych przewyższa liczbę zachorowań powodowanych przez rotawirusy (6).

Nazwa norowirusy pochodzi od nazwy wirusa *Norwalk*, który został po raz pierwszy wyizolowany z próbek kału z ogniska gastroenteritis (1968 r.) w szkole podstawowej w miejscowości Norwalk w Ohio, w Stanach Zjednoczonych (1), gdzie w ciągu 2 dni zachorowało 50% z 232 nauczycieli i uczniów szkoły podstawowej (7). Rodzaj *Norovirus* (dawna nazwa *Norwalk-like virus*), podobnie jak *Versivirus*, *Lagovirus* i *Sapovirus* należy do rodziny *Caliciviridae* (8). Norowirusy określane mianem małych okrągłych wirusów (small round structured viruses – SRSV) są jednymi z najmniejszych wirusów RNA (średnica 27–40 nm), mają symetrię kubiczną, nie mają otoczki i wypustek. Norowirusy są wysoce heterogenne – należą do 5 grup genetycznych (GI-GV), wśród których różni się kilkadziesiąt genotypów. Szczepy typu GI i GII odpowiedzialne są za większość epidemii u ludzi (9, 10, 11). Norowirusy nie namnażają się *in vitro* w hodowlach komórkowych (2). Cechuje je wysoka oporność na czynniki środowiskowe. W temperaturze 60°C do inaktywacji dochodzi dopiero po 30 min, w stanie zamrożenia mogą przetrwać nawet kilka lat. Ulegają inaktywacji w środowisku o pH od 3 do 5. Większość powszechnie stosowanych detergentów nie likwiduje tych drobnoustrojów – dobrze znoszą środowisko o pH 5–10 i wysokie stężenie chloru (12). Wszystkie wymienione cechy i ogromna zmienność genetyczna oraz łatwość przenoszenia się norowirusów czynią z nich groźnego przeciwnika dla organizmu ludzi. Często jedynym skutecznym sposobem eliminacji kolejnych zachorowań jest czasowe zamknięcie instytucji, w której doszło do wybuchu epidemii (13).

Dawka zakaźna nie jest dokładnie oszacowana. Prawdopodobieństwo zakażenia zwiększa się wraz ze wzrostem przyjętej dawki wirusa i jest w znacznym stopniu uzależnione od właściwości żywności, w której wirus występuje oraz ogólnej kondycji konsumenta (3). Niemniej jednak cechą charakterystyczną norowirusów jest wysoka zakaźność. Według danych literaturowych nawet mniej niż 10 cząstek wirusa wystarcza do wywołania zakażenia u zdrowych dorosłych osób, średnio 10–100 cząstek wirusa (9, 14, 15). Osoby chore wydają olbrzymie ilości wirusa z kałem (nawet 10^{11} /g; 2). Zachorować mogą osoby w każdym wieku. Przebyte zachorowania nie chroni przed kolejnymi zachorowaniami. Nie dochodzi do długotrwałej odporności organizmu oraz występuje niska odporność krzyżowa na inne typy norowirusów (3).

Do zanieczyszczenia żywności norowirusami może dojść na wszystkich etapach produkcji żywności, zarówno podczas produkcji pierwotnej, jak i dalszego przetworstwa. Na etapie produkcji pierwotnej do zanieczyszczenia żywności dochodzi najczęściej na skutek użycia zanieczyszczonej wody, w której obecne są norowirusy, a także podczas zbioru ręcznego, pakowania i transportu. Zarejestrowano przypadki zachorowań po spożyciu, m.in. malin, truskawek i sałaty, jako wynik nawadniania i nawożenia pól wodą zanieczyszczonej norowirusami. Należy zwrócić uwagę na wody ściekowe trafiające do gleby, rzek i mórz. Szczególnym źródłem zagrożenia są organizmy wodne, głównie małże dwuskorupowe (w tym ostrygi), które poprzez filtrację zanieczyszczonej ściekami wody, kumulują norowirusy w swoim organizmie (3). Według danych Systemu Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznych Produktach Żywnościowych i Paszach (Rapid Alert System for Food and Feed – RASFF) w styczniu 2014 r. we Włoszech trakcie kontroli granicznej stwierdzono obecność norowirusów w małżach (*Ruditapes decussatus*) z Tunezji, co skutkowało odwołaniem przesyłki i niedopuszczeniem jej na rynek Unii Europejskiej (16). Możliwe jest także zanieczyszczenie surowca

* Studentka V roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie.

lub produktu przez osoby uczestniczące w produkcji i przetwarzaniu żywności, a także serwujące lub sprzedające daną żywność. Ryzyko zachorowania występuje także po spożyciu zanieczyszczonych produktów gotowych do spożycia (ready-to-eat – RTE), na przykład kanapek i sałatek (17). Produkty te przeznaczone są do bezpośredniego spożycia, co oznacza brak dodatkowej obróbki termicznej, która ewentualnie umożliwiłaby zniszczenie wirusów. Ryzyko dodatkowo podnoszą dodawane do potraw potencjalnie zanieczyszczone sosy. Przestrzeganie zasad Dobrej Praktyki Rolniczej (GAP), Dobrej Praktyki Higienicznej (GHP) i Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP) jest szczególnie istotne dla możliwości ograniczenia występowania norowirusów w żywności, a odpowiednio, systematyczne szkolenie pracowników branży spożywczej pozwala na znaczne ograniczenie liczby masowych zachorowań.

Objawy choroby są bardzo podobne do występujących po zakażeniach rotawirusowych, jednak przebieg choroby jest zwykle dużo łagodniejszy. Wirusy po wnikięciu do organizmu replikują się w błonie śluzowej jelita cienkiego i prowadzą do zaburzeń procesu wchłaniania (2, 10). Czas od zakażenia do chwili wystąpienia objawów jest krótki i wynosi 12–48 godzin (18). Najczęstsze objawy to wodnista biegunka typowa dla ostrego zapalenia żołądka i jelit (ok. 75%), fontannowe wymioty (ok. 45%) i bóle brzucha (ok. 35%). Gorączka występuje rzadko i zwykle w niskich zakresach. Wyzdrowienie następuje najczęściej w ciągu od jednego do trzech dni. U osób przebywających w szpitalach i dzieci poniżej 11 roku życia choroba może trwać nawet do tygodnia. Zachorowania zwykle przebiegają łagodnie, ale zdarzają się ciężkie. Rzadko dochodzi do zgonu, który jest możliwy szczególnie w grupie podwyższonego ryzyka, tj. u dzieci, osób starszych i z obniżoną odpornością (10). Bezpośrednią przyczyną zgonu jest zwykle bardzo silne i szybko postępujące odwodnienie.

Norowirusy najczęściej atakują zimą, stąd nazwa zimowa choroba wymiotna (winter vomiting disease), nazywana także „grypą żołądkową”, aczkolwiek do zakażenia może dojść o każdej porze roku. Norowirusy przenoszą się bezpośrednio poprzez kontakt z zakażoną osobą (droga fekalno-oralna) lub pośrednio przez kontakt z powierzchniami, lub przedmiotami skażonymi wirusem albo poprzez spożycie skażonej wody i żywności. Norowirusy są przyczyną większości masowych zakażeń powodujących ostre zapalenie żołądka i jelit. Wyniki badań przeprowadzonych w USA wykazały, że norowirusy były przyczyną 96% masowych zakażeń jelitowych. Charakterystyczne dla zakażeń norowirusami są zbiorowe zachorowania, szczególnie w miejscach

zamkniętego lub półzamkniętego cateringu, np. szkołach, stołówkach, szpitalach, domach opieki czy podczas rejsów statków (18). W trakcie noworocznego rejsu (22 grudnia 2012 r. – 3 stycznia 2013 r.) na pokładzie luksusowego statku Queen Mary II zachorowało 204 z ponad 2,6 tys. pasażerów oraz 16 z ponad 1,2 tys. członków załogi. Dominującymi objawami były wymioty i biegunka. Przeprowadzone badania próbek kału wykazały, że czynnikiem, który wywołał epidemię na statku był norowirus (19). W USA od października 2010 r. do stycznia 2013 r. zakażenia norowirusowe stanowiły 127 z 241 (52,7%) przypadków skarg na dolegliwości żołądkowo-jelitowe po spożyciu posiłków w restauracjach (20). W Holandii, Szwecji, Finlandii i Wielkiej Brytanii norowirusy są przyczyną około 60% masowych zakażeń jelitowych (10). W ostatnich latach kilkakrotnie wykrywano norowirusy w mrożonych malinach pochodzących z Polski, co zostało zgłoszone w ramach funkcjonowania systemu RASFF.

Centrum Zwalczenia i Zapobiegania Chorobom w USA stworzyło dwa systemy służące do śledzenia wybuchów zatruc pokarmowych na tle norowirusowym – NORS i CaliciNet. Systemy te zbierają i przetwarzają informacje o miejscu i czasie wystąpienia zachorowań oraz dane dotyczące liczby zachorowań. W ramach tych systemów prowadzone jest molekularne typowanie norowirusów. W Europie powstał program NoroNet, który jest kontynuacją sieci Pokarmowe Wirusy w Europie (Food-Borne Viruses in Europe – FBVE), skupiającej naukowców pracujących w dziedzinie zdrowia publicznego w instytutach i na uniwersytetach w 13 krajach europejskich. NoroNet udostępniania wirusologiczne, epidemiologiczne i molekularne dane dotyczące norowirusów (21). W Polsce po raz pierwszy badania chorych w ogniskach w kierunku zakażeń norowirusami przeprowadzono w 2004 r. Od tej pory obserwuje się systematyczny wzrost liczby zakażeń norowirusami. Wzrasta także odsetek ognisk o etiologii wirusowej, w których nie określono dokładnie czynnika etiologicznego, co może wskazywać na niedorejestrowanie ognisk o etiologii norowirusowej (22).

Podsumowanie

Inaktywacja norowirusów w środowisku, w którym odbywa się produkcja lub serwowanie żywności może okazać się bardzo trudna. Dlatego też procedury związane z kontrolą występowania wirusów w łańcuchu żywnościowym powinny w szczególności skupiać się na zapobieganiu zanieczyszczeniu i zanieczyszczeniu krzywemu żywności. Możliwe jest, że w niedalekiej przyszłości zostaną opracowane i wprowadzone kryteria mikrobiologiczne dla

norowirusów w żywności. Z uwagi na powagę zagrożenia, jakie stanowią norowirusy w małżach, rozważana jest klasyfikacja obszarów pozyskiwania małż w UE. Na takie kryteria i procedury z niecierpliwością oczekują nie tylko urzędowni lekarze weterynarii odpowiedzialni za sprawowanie nadzoru nad produkcją żywności pochodzenia zwierzęcego, ale przede wszystkim producenci żywności, na których spoczywa odpowiedzialność za bezpieczeństwo produkowanej żywności.

Piśmiennictwo

1. Salyers A., Whitt D.: Infekcje układu pokarmowego. W: Abigail A Salyers, Dixie D Whitt: *Mikrobiologia: różnorodność, chorobotwórczość i środowisko*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003, s. 349–380.
2. Molenda J.: Zakażenia wirusowe przenoszone drogą pokarmową. *Życie Wet.* 2012, **87**, 410–413.
3. EFSA Panel on Biological Hazards: Norovirus (NoV) in oysters: methods, limits and control options. *EFSA Journal*. 2012, **10**, 2500.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Division of Viral Diseases. National Center for Immunization and Respiratory Diseases: Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. *MMWR Recomm Rep*. 2011.
5. Richards G.: Critical Review of Norovirus Surrogates in Food Safety Research: Rationale for Considering Volunteer Studies. *Food Environ. Virol.* 2012, **4**, 6–12.
6. Ramani S., Atmar R.L., Estes M.K.: Epidemiology of human noroviruses and updates on vaccine development. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2014, **30**, 25–33.
7. Takagi H.: Possibilities and the assignments for infection control of norovirus: the verification and the limit of inactivation efficacy by surrogate viruses. *Nihon. Rinsho*. 2012, **70**, 1289–1292.
8. Green K.Y., Ando T., Balayan M.S., Berke T., Clarke I.N., Estes M.K., Matson D.O., Nakata S., Neill J.D., Studdert M.J., Thiel H.J.: Taxonomy of the caliciviruses. *J. Infect. Dis.* 2000, **181**, 322–330.
9. Hutson A.M., Atmar R. L., Estes M.K.: Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends Microbiol.* 2004, **12**, 279–287.
10. Gospodarek E., Zalas-Więcek P.: Norowirusy – taktyka rozprzestrzeniania się. *Przegl. Epidemiol.* 2009, **63**, 5–9.
11. Baert L., Uyttendaele M., Debevere J.: Foodborne Viruses: An Emerging Risk to Health. W: *Food Safety. A Practical And Case Study Approach*. Springer 2007, s. 202–217.
12. Cannon J.L.: Surrogates for the study of norovirus stability and inactivation in the environment: a comparison of murine norovirus and feline calicivirus. *J. Food Protect.* 2006, **11**, 2761–2765.
13. Patel A., Halla A., Vinjé J., Parashar U.: Noroviruses: A comprehensive review. *J. Clin. Virol.* 2009, **44**, 1–8.
14. Duizer E., Bijkerk P., Rockx B., de Groot A., Twisk E., Koopmans M.: Inactivation of caliciviruses. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004, **70**, 4538–4543.
15. Koopmans M., Duizer E.: Foodborne viruses: an emerging problem. *Int. J. Food Microbiol.* 2004, **90**, 23–41.
16. RASFF: Norovirus (present) in chilled clams (*Ruditapes decussatus*) from Tunisia. Notification detail – 2014.ADD
17. Li J.: Inactivation of a Human Norovirus Surrogate, Human Norovirus Virus-Like Particles, and Vesicular Stomatitis Virus by Gamma Irradiation. *Appl. Environ. Microb.* 2011, **77**, 1862–1877.
18. European Commission: Opinion Of The Scientific Committee On Veterinary Measures Relating To Public Health On Norwalk-Like Viruses. 2002. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out49_en.pdf
19. Centers for Disease Control and Prevention: Investigation Update on the Queen Mary 2. 2013. http://www.cdc.gov/nceh/vsp/surv/outbreak/2012/january3_queen_mary_2.htm
20. <http://www.cdc.gov/norovirus/trends-outbreaks.html>
21. <http://www.rivm.nl/en/Topics/IN/NoroNet>
22. Napiórkowska A., Sadkowska-Todys M.: Sytuacja epidemiologiczna zakażeń norowirusami ludzi w Polsce w latach 2004–2008. *Przegl. Epidemiol.* 2010, **64**, 27–33.

Dr Agnieszka Jackowska-Tracz,
e-mail: agnieszka_jackowska_tracz@sggw.pl