

Wyniki i omówienie

Wśród 1211 buhajków badanych w kierunku występowania mutacji 128 G nie stwierdzono nosicieli BLAD. Podobne dane przedstawili inni autorzy (6). Liczbę zwierząt badanych w poszczególnych latach przedstawia ryc. 2.

Badania buhajów w kierunku mutacji BLAD były przeprowadzane w USA już w latach 80., gdzie liczba nosicieli wahała się w granicach 5–23% (2). W latach 90., po szczegółowym opisanu jednostki chorobowej, rozpoczęto intensywne badania, głównie w USA oraz Europie Zachodniej w celu eliminacji nosicieli mutacji D 128G. Liczba nosicieli wynosiła średnio od kilku do kilkunastu procent, co przedstawia tabela 1 (1, 3, 7, 8). Dane odnośnie do liczby nosicieli z pozostałych krajów (Azja i Ameryka Południowa) ukazały się stosunkowo niedawno i ich liczba wynosiła średnio 2–3% lub mniej (6, 9, 10, 11, 12).

Wieloletnie badania w kierunku identyfikacji oraz eliminacji mutacji BLAD ze stad bydła mlecznego przyniosły wymierne rezultaty. Z danych publikowanych w dostępnym piśmiennictwie wynika, że aktualnie liczba nosicieli na całym świecie

systematycznie spada i aktualnie szacuje się już poniżej 1%, co przedstawia tabela 2 (6, 14, 15, 16). Na podstawie tych danych można stwierdzić, że problem BLAD jest już dzisiaj pod kontrolą.

Piśmiennictwo

- Lubieniecki K., Grzybowski G.: Diagnostyka molekularna wrodzonego niedoboru leukocytarnych cząsteczek adhezyjnych (BLAD) u bydła. *Medycyna Wet.* 1997, **53**, 214-217.
- Rehgun G., Kim C., Kehrli M., Shuster D., Ackermann M.: Clinical manifestation of leukocyte adhesion deficiency in cattle: 14 cases (1977-1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1993, **202**, 445-450.
- Nagahata H.: Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD): a review. *J. Vet. Med. Sci.* 2004, **66**, 1475-1482.
- Powell R.L., Norman H.D., Cowart C.M.: Relationship of bovine leukocyte adhesion deficiency with genetic merit for performance traits. *J. Dairy Sci.* 1996, **79**, 895-899.
- Wanner J. M., Rogers G. W., Kehrli M. E., Cooper J. B.: Clinical mastitis in primiparous Holsteins: Comparisons of bovine leukocyte adhesion deficiency carriers and non-carriers. *J. Dairy Sci.* 1999, **82**, 2517-2523.
- Li J., Wang H., Zhang Y., Hou M., Zhong J., Zhang Y.: Identification of BLAD and citrullinemia carriers in Chinese Holstein cattle. *Animal Science Papers and Reports* 2011, **29**, 37-42.
- Shuster D. E., Kehrli M. E. Jr., Ackermann M. R., Gilbert R. O.: Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1992, **89**, 9225-9229.
- Jorgensen, Agerholm J. S., Pedersen J., Thomsen P. D.: Bovine leukocyte adhesion deficiency in Danish Holstein-Friesian cattle. I. PCR screening and allele frequency estimation. *Acta Vet. Scand.* 1993, **34**, 231-236.
- Patel R.K., Singh K.M., Soni K.J., Chauhan J.B.: Low incidence of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD)

- carriers in Indian cattle and buffalo breeds. *J. Appl. Genet.* 2007, **48**, 153-155.
- Norouzy A., Nassiry M., Eftekhari Shahrody F., Javadmanesh A., Mohammad Abadi M., Sulimova G.E.: Identification of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) carriers in Holstein and Brown Swiss AI bulls in Iran. *Genetika.* 2005, **41**, 1697-1701.
 - Oner Y., Keskin A., Elmaci C.: Identification of BLAD, DUMPS, citrullinemia and factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. *Asian J. Animal Vet. Adv.* 2010, **5**, 60-65.
 - Nasreen F., Altaf M.N., Naeem R.M., Anver Q.J.: Detection and screening of bovine leukocyte adhesion deficiency in Pakistan using molecular methods. *Hereditas* 2009, **146**, 74-78.
 - Boujenane I., Ouhmama K.: Prevalence of Blad and cvm in Holstein dairy cattle introduced to morocco. *Egyptian J. Anim. Prod.* 2009, **46**, 19-26.
 - Nagahata H., Nochi H., Tamto K., Taniyama H., Noda H., Morita M., Kanamaki M., Kociba G. J.: Bovine leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Can. J. Vet. Res.* 1993, **55**, 40-48.
 - Natonek M.: Identification of BLAD mutation in cattle with PCR-RFLP method. *Biuletyn Informacyjny Instytutu Zootechniki* 2000, **38**, 29-33.
 - Czarnik U., Grzybowski G., Kamiński S., Pruski B., Zabołewicz T.: Effectiveness of a program aimed at the elimination of BLAD-carrier bulls from Polish Holstein-Friesian cattle. *J. Appl. Gen.* 2007, **48**, 375-377.

Dr n. wet Michał Kaczmarowski, Państwowy Instytut Weterynaryjny, Al. Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz

Zakażenia wirusowe przenoszone drogą pokarmową

Jerzy Molenda

Wirusy są najmniejszymi drobnoustrojami, których rozmiary mieszczą się w przedziale od 15 do 400 nm. Liczne ich gatunki powodują specyficzne choroby u roślin, zwierząt oraz ludzi. Wykazują tropizm do określonych komórek organizmu, np. komórek krwi, neurocytów, enterocytów itp. (1, 2). Wirusy są mikroorganizmami, których znaczenie jako potencjalnych patogenów żywnościowych człowieka w ostatnim dwudziestolecu zdecydowanie wzrosło. Stosunkowo niedawno, bo dopiero z początkiem lat siedemdziesiątych, stwierdzono, że żywność może być źródłem różnych chorobotwórczych wirusów, które za jej pośrednictwem mogą być przenoszone do organizmu człowieka (2, 3). Przed 1940 r. takie właściwości przypisywano tylko wirusom *polio*, przenoszonym przez surowe mleko. Akceptowany wcześniej pogląd o znikomym zagrożeniu oparty był na niemożności ich rozwoju poza żywymi komórkami. Wirusy, w przeciwieństwie do bakterii, nie

mogą się namnażać w żywności, a niektóre z nich szybko giną pod wpływem zmieniających się warunków środowiskowych podczas jej przetwarzania. Niemniej jednak, głównie dzięki rozwojowi metod diagnostycznych, ujawniana jest u ludzi w różnych częściach świata, rosnąca liczba chorób wirusowych, których przyczyną jest spożywana żywność (3, 4, 5).

Powodem zakażeń jelitowych u ludzi są patogenne enterowirusy, wnikające do komórek nabłonka jelitowego i rozsiewane w środowisku za pośrednictwem kału lub wymiocin. Zaliczane są do grupy enterowirusów ze względu na receptory umożliwiające im wnikanie i replikację w komórkach nabłonka jelitowego. Są w wysokim stopniu zakaźne i często niewiele cząstek wirusa wystarcza do wywołania zakażenia, natomiast wielka ich liczba (10^{11} /g) jest wydalana z kałem chorych (8). Ponadto wirusy przenoszone przez żywność są na ogół stabilne w środowisku poza organizmem żywym i w niewielkim stopniu wrażliwe

na zmiany pH, wilgotności czy temperaturę (7, 8, 9). Wirusy wnikające do organizmu drogą pokarmową mogą być przyczyną chorób, takich jak:

- zapalenie żołądka i jelit (*gastroenteritis*), powodowane przez norowirusy i rotawirusy,
- zapalenie wątroby (*hepatitis*), wywołane przez wirus zapalenia wątroby typu A – (*hepatitis A virus* – HAV) – tendencja wzrostowa zachorowań i nowy typ: wirus zapalenia wątroby typu E (HEV),
- chorób różnych narządów, jeśli po replikacji w przewodzie pokarmowym wirusy przedostają się do krwiobiegu i z krwią docierają do wrażliwych komórek.

Żywność jako czynnik ryzyka – źródło zakażenia

W szerszeniu się zakażeń wirusowych czynnikiem ryzyka jest zawierająca wirusy żywność. Do jej skażenia dochodzi najczęściej za sprawą siewców zatrudnionych przy jej produkcji, dystrybucji, a także przygotowywaniu do konsumpcji (3, 6, 8, 10). Tą drogą patogenne wirusy przenoszone są do różnych produktów żywności, zarówno pochodzenia zwierzęcego, jak i roślinnego. Wykazano, że obecność około 1×10^3

cząstek HAV na zanieczyszczonych kałem palcach wystarcza do skutecznego skażenia dotykanych produktów (5). Jest to tym bardziej istotne, że siewstwo u chorych rozpoczyna się już z początkiem okresu inkubacji i utrzymuje się od 2 do 3 tygodni u ozdrowieńców. Podobne relacje występują w przypadkach zakażeń bezobjawowych (1, 6, 8, 12). Często obecność enterowirusów w populacji ludzi potwierdzają wyniki badań monitoringowych wód ściekowych w USA (19).

Przyczyną zakażeń są także produkty pierwotnie skażone patogennymi wirusami. Należą do nich przede wszystkim tzw. owoce morza, których tkanki zawierają zarazki przenikające do ich organizmów podczas filtracji wód, w których bytują (1, 4, 5, 13, 14). Udokumentowano masowe zachorowania ludzi w USA spowodowane spożyciem ostryg pochodzących z jednej z farm hodowlanych (5, 13, 15). Przyczyną skażenia produktów może być także woda. Przykładem mogą być zachorowania ponad tysiąca ludzi w Danii, których powodem było spożycie surowych malin skażonych norowirusami w wyniku spryskiwania ich wodą zawierającą norowirusy (13).

O ryzyku związanym z konsumpcją skażonej żywności decyduje wielkość zanieczyszczenia oraz stabilność i wrażliwość zarazków na zmiany czynników środowiskowych, zachodzących podczas procesu jej przetwarzania i dystrybucji. Wrażliwość wirusów przenoszonych za pośrednictwem żywności i wody (food-borne, water-borne) jest mało poznana. Uważa się, że u większości z nich jest ona mniejsza niż bakterii. Dotyczy to działania temperatury, środków dezynfekcyjnych oraz zmian pH. Wykazano przeżywanie wirusa *hepatitis A* w wysuszonym kale przez 30 dni, w temperaturze 25°C i 45% wilgotności. Znacznie dłużej, bo nawet ponad rok, wirusy zachowują zakaźność w wodzie (4). Należy jednak pamiętać, że występują znaczące różnice w ich przeżywaniu, zależne od rodzaju żywności i oddziałujących czynników środowiskowych.

Zapalenia żołądka i jelit

Przyczyną wirusowych zakażeń jelitowych są wirusy sklasyfikowane w grupie enterowirusów. Wirusowe zapalenie żołądka i jelit, nazywane też ostrym niebakteryjnym zapaleniem żołądka i jelit (acute infectious nonbacterial gastroenteritis – AING), jest nie tylko częstym schorzeniem u dzieci (niemowląt), ale występuje także u dorosłych. Objawia się zwykłą temperaturą ciała, mdłościami, wymiotami i biegunką. Efektem zakażenia jest odwodnienie organizmu, szczególnie niebezpieczne dla małych dzieci. Biegunki te są główną przyczyną śmiertelności niemowląt w krajach,

w których zarówno opieka medyczna, jak i standardy higieny są na niskim poziomie. Głównymi przyczynami AING są wirusy z grupy Norwalk i rotawirusy.

Wirus Norwalk (Norwalk virus – NoV)

Po raz pierwszy opisano w 1968 r jako przyczynę biegunek w domu opieki w Norwalk, w stanie Ohio (16). Jest kulistym, należącym do najmniejszych (średnica 20–30 nm) wirusów RNA. Dotychczas nie udało się namnożyć go na hodowlach komórkowych (2, 8, 10). Przy szczegółowej identyfikacji czynnika zakaźnego wykryto kilka kolejnych, podobnych wielkością i kształtem wirusów (*Sapovirus*, *Vesivirus*, *Lagovirus*), także powodujących AING. Obecnie zarazki te określane są mianem małych wirusów o budowie kulistej (small, round, structured-viruses – SRSV) oraz jako podobne do wirusów Norwalk (Norwalk-like viruses), powszechnie nazywane norowirusami. Zaklasyfikowane zostały do rodziny *Caliciviridae* (2, 8).

Objawy zakażeń powodowanych przez norowirusy pojawiają się zwykle po krótkim okresie inkubacji, od 15 godzin do 2–3 dni, i są typowe dla tego rodzaju chorób (nudności, wymioty, wodnista kał i ból brzucha). Biegunce mogą towarzyszyć wymioty, ale częściej występuje ona samodzielnie. Objawy ograniczone tylko do wymiotów stwierdzono u 8% chorych (4). W przebiegu choroby występuje osłabienie, bóle brzucha, gorączka i nudności. Choroba zwykle trwa krótko i objawy kliniczne mijają z reguły po 1 do 3 dniach, jakkolwiek złe wchłanianie cukrów (ksylozy) i tłuszczów może utrzymywać się jeszcze przez kilka dni po ustąpieniu biegunki. Zakażenia rzadko przebiegają wśród cięższych objawów i dotyczy to zwykle pacjentów z niedoborami immunologicznymi, albo cierpiących na choroby wyniszczające (9, 4, 5, 16). Choroba u dorosłych ma przebieg dokuczliwy, ale ustępuje samoistnie. Dawniej była nazywana „zimową chorobą wymiotną” (winter vomiting disease) w związku z sezonowością i typem objawów. Może występować u ludzi w każdym wieku, gdyż nabyta odporność nie trwa długo. Do grupy ryzyka należą ludzie starsi i z niedoborami immunologicznymi. Dawka zakaźna wirusa nie jest znana. Norowirusy replikują w błonie śluzowej jelita cienkiego i są wydalane w dużej liczbie w kale.

Bezpośrednia kontaminacja żywności dokonuje się zwykle bezpośrednio przez nosicieli uczestniczących w procesie jej produkcji i dystrybucji, a także przez wody ściekowe zanieczyszczające wody morskie, skąd zarazki wnikają do bytujących tam skorupiaków, jednego z głównych źródeł tych zakażeń (5, 8, 13). Stosowane przy

Viral infections transmitted with food

Molenda J.

The aim of this paper was to present a problem of contamination of food with different viruses. Several groups of viruses may infect people with food and infected individuals usually shed infectious agents in feces. Of these, the noroviruses (NoV) and hepatitis A virus (HAV) are currently considered as a most important foodborne viral pathogens. They are highly infectious and small doses may provoke outbreak. The clinical symptoms of NoV infection are usually mild, being more serious in neonates and young children. Rotaviruses are of extreme danger for very young children. Hepatitis A is an increasing problem in countries with high standards of hygiene, because contrary to the developing countries, lack of antigenic stimulation has resulted in less experienced immune system and it is considered to be the reason of decreased immunity in population. Hepatitis E virus is a potential emerging foodborne pathogen and probability of its global approach for humans also in developed countries is still increasing. Other foodborne viruses, causing systemic infections, are less frequently found in food, so they generate fewer risks for public health. Molecular-based methods can be applied to detect viruses in food. These methods however are difficult in standardization so they are not in routine use. GMT and HACCP procedures are obligatory to control most foodborne viral diseases.

Keywords: viruses, foodborne, control measures.

otwieraniu ich skorup techniki termiczne mogą nie być wystarczające dla zabicia wirusów (12). Znacznie bardziej efektywne są stosowane w tym celu wysokie ciśnienia hydrostatyczne (300Mpa).

Rotawirusy

Rotawirusy są dwuniciowymi wirusami RNA z rodziny *Reoviridae*, powodującymi u ludzi wirusowe zapalenie żołądka i jelit. Wyodrębniono trzy typy rotawirusów, oznaczone literami A, B i C. Wirusy odpowiedzialne za zakażenia jelitowe u ludzi, szczególnie u dzieci, zaliczane są do rotawirusów z grupy A. Niemniej jednak pozostałe, antygenowo i genetycznie od nich odmienne, również są przyczyną zachorowań (11). Wiriony o podwójnym kapsydie stanowią zakaźną formę wirusa. Zakaźność wirionów zwiększa się pod wpływem enzymów proteolitycznych, np. trypsyny. Zakażenia szerzą się drogą fekalno-oralną i rzadko ich pierwotną przyczyną jest żywność. Częściej wektorem zakażenia jest woda. Rotawirusy są najczęściej stwierdzaną przyczyną wirusowego zapalenia żołądka i jelit u dzieci poniżej drugiego roku życia; każdego roku powodują na świecie około 1 mld zachorowań.

Okres inkubacji choroby wynosi 1–3 dni, po czym pojawia się wodnisty kał, wymioty i niewielki wzrost temperatury ciała. Choroba na ogół ma przebieg łagodny, ale zdarzają się też cięższe przypadki, zwłaszcza u niemowląt, kiedy pojawia się odwodnienie (1). Rotawirusy po wnikięciu do przewodu pokarmowego adsorbują się na enterocytach w rejonie szczytów kosmków jelitowych, a następnie wnikają do ich wnętrza, gdzie replikują w komórkach nabłonka jelit czczego i biodrowego, doprowadzając do ich uszkodzenia. Są wydalane z kałem w wielkich ilościach. Dawka zakaźna nie jest znana, ale najprawdopodobniej jest niewielka i wynosi od 10 do 100 cząsteczek wirusa. Woda jest częstym źródłem zakażenia, szczególnie w krajach o niskich standardach sanitarnych. Zapewne może nim być także zanieczyszczona żywność, do czego dochodzi w przypadku nieprzestrzegania rygorów higieny podczas jej przygotowywania. Zachorowania mają pewien związek z porami roku i występują częściej w okresie jesienno-zimowym niż latem.

Zapalenia wątroby

Wirus zapalenia wątroby typu A (HAV)

Należy on, podobnie jak norowirusy, do grupy enterowirusów. Jest jednoniciowym wirusem RNA z rodziny *Picornaviridae*. Udaje się go hodować na liniach komórkowych, co jak dotąd jest nieosiągalne w przypadku norowirusów i trudne u rotawirusów. Jego obecność w kale chorych, a także w próbkach żywności można wykrywać metodami immunoenzymatycznymi oraz sekwencjonowaniem RNA (15). Obecnie powszechnie stosowaną w tym celu metodą jest test odwrotnej transkrypcji PCR (RT-PCR). HAV jest wirusem wysoce inwazyjnym i, przeciwnie niż wirusy Norwalk czy rotawirusy, pokonuje barierę jelitową i wnika do komórek wątroby. Efektem jego replikacji w hepatocytach jest uszkodzenie wątroby (7, 17).

Okres inkubacji jest długi i wynosi od 2 do 9 tygodni. Wirus wnika do komórek nabłonka jelit, skąd z krwią przedostaje się do wątroby i adsorbuje na receptorach hepatocytów, a następnie penetruje do ich wnętrza. Replikacja uszkadza komórki i wirus wraz z żółcią przedostaje się do jelit, skąd jest wydalany z kałem (7, 17). Zatem przed wystąpieniem objawów choroby wirus jest już wydalany z kałem. Początkowe objawy są niespecyficzne, podobne do grypowych: złe samopoczucie, osłabienie i brak apetytu. Wraz z rozwojem choroby pojawiają się: gorączka, mdłości, wymioty, bóle brzucha oraz zapalenie wątroby. W zależności od nasilenia zakażenia pojawia się żółtaczka, jako wynik niezdolności

wątroby do wychwytywania z krwi barwników żółciowych. Przebieg bezżółtaczkowy znacznie częściej występuje u dzieci. Choroba zwykle trwa od 1 do 2 tygodni i ma tendencje do samoograniczenia. Jej przebieg nierzadko jest łagodny, przeciwnie do zakażeń wywołanych przez typy B i C wirusa.

Nie udało się wykryć wirusa w produktach żywnościowych (17). Długi okres inkubacji powoduje, że żywność badana po wystąpieniu objawów nie jest już tą, która mogła być źródłem zakażenia. Ponadto skażone produkty mogą, ale nie w każdym przypadku muszą być przyczyną choroby. Dawka zakaźna nie jest znana, niemniej przyjmuje się, że nawet małe dawki HAV w pożywieniu mogą spowodować zachorowanie. Przypuszcza się, że mogą one być niewielkie, rzędu od 10 do 100 cząstek wirusa. Zapalenie wątroby typu A przebiega ciężiej u dorosłych niż u dzieci, u których choroba nierzadko pozostaje niezauważona.

Wirus zapalenia wątroby typu E (HEV)

Jest uważany za nowo pojawiający się potencjalny czynnik zagrożeń dla zdrowia człowieka, którego globalny zasięg ma tendencję wzrostową (10, 12, 18). Jest to hepatotropowy wirus RNA, prawdopodobnie kaliciwirus, wielkości około 32 nm, przenoszony drogą fekalno-oralną. Wywołuje wirusowe zapalenie wątroby o ostrym przebiegu w krajach południowo-wschodniej Azji i w Afryce (12). Nie wiadomo, czy wektorem transmisji zarazka jest żywność, czy też woda. U większości pacjentów choroba ma raczej samoograniczający się przebieg, o umiarkowanym nasileniu objawów. Okres jej wylegania jest nieregularny i może znacznie się różnić, od 5 do 65 dni. Objawy są podobne jak w przypadku *hepatitis* typu A, ale częściej występuje uogólniona żółtaczka (12, 18, 19). Zwykle dochodzi do całkowitego wyleczenia i nie ma dowodów przechodzenia zakażenia w stan przewlekły. Choroba ma znacznie cięższy przebieg u kobiet ciężarnych (trzecie trymestr ciąży). Zakażenie HEV zwykle powoduje poronienia, przedwczesny poród, a nawet śmierć, wśród objawów śpiączki (ok. 20%). Ogólnie jednak śmiertelność w jej przebiegu nie przekracza 1%.

Dystrybucją środowiskowa zarazka, podobnie jak innych wirusów powodujących zakażenia jelitowe, odbywa się poprzez wody ściekowe, które trafiają do wód rzek i mórz, a także do gleby. Produkty żywnościowe uważane za wektory zakażenia to ostrygi, małże, a także owoce i warzywa (melony), mleko i jego przetwory oraz inne produkty po wtórnej ich kontaminacji. Zagrożenia te zwykle związane są

z określonymi miejscami (rejonami) ich pozyskiwania.

Interesujące jest, że obecność HEV stwierdzono również u świń oraz innych gatunków zwierząt domowych w różnych krajach świata. Badania genetyczne wykazały ich bliskie pokrewieństwo z wywołującymi zakażenia u człowieka (19, 20). Zauważono także, że zachorowania występują częściej u ludzi mających kontakty zawodowe ze świniami (20, 21). Dotychczasowe dowody wskazują, że potencjalne zagrożenie dla człowieka związane z transmisją HEV do jego łańcucha pokarmowego jest prawdopodobne, a konsumpcja wieprzowiny może stać się potencjalnym źródłem zakażenia

Zakażenia wielonarządowe

Poza wirusami powodującymi zakażenia przewodu pokarmowego i wątroby, żywność może także przenosić wirusy powodujące zakażenia systemowe. Do takich zarazków należy wysoce zjadliwy dla zwierząt parzystokopytnych wirus pryszczycy z rodziny *Picornaviridae*. Jakkolwiek jego droga transmisji do człowieka nie jest w pełni poznana, to uważa się, że powodem zakażenia są bliskie kontakty z chorymi zwierzętami. Zakażenie może także powodować konsumpcja surowego mleka krów, owiec i kóz chorych na pryszczycę. Głównym objawem choroby u ludzi są pęcherzyki pojawiające się na błonie śluzowej jamy ustnej. Choroba jednak ma przebieg łagodny i nie powoduje poważniejszych zagrożeń dla zdrowia.

W grupie enterowirusów charakteryzujących się wysokim powinowactwem do nabłonka przewodu pokarmowego, do szczególnie niebezpiecznych, ale obecnie będących problemem wyłącznie w krajach rozwijających się, należy wirus *poliomyelitis* oraz wirusy *Coxsackie*.

Do grupy nowych zagrożeń, poza HEV, zaliczane są wirusy, powodujące zapalenia mózgu u ludzi, przenoszone przez owady kłujące, tzw. kleszczowe zapalenie mózgu (22). Wyróżniane są dwie odmiany choroby. Występujące w krajach wschodnioeuropejskich *encephalitis*, przebiegające ze znaczną śmiertelnością sięgającą 22%, i druga, stwierdzana w centralnej Europie, o łagodniejszym przebiegu, zaczynająca się objawami grypowymi, przechodzący następnie w zapalenie mózgu o łagodnym przebiegu. Jakkolwiek choroby te szerzą się głównie przez ukłucia owadów (komarów) i kleszczy, wykazano, że wirusy te są przez długi czas wydalane z mlekiem zakażonych kóz i zakażeniu mogą ulegać ludzie pijący niepasteryzowane mleko kozie.

Do nowych patogenów żywnościowych zostały zaliczone też echowirusy – enterowirusy powodujące zapalenia żołądka i jelit

o łagodnym przebiegu. Jednak okazało się, że niektóre gatunki mogą powodować także zapalenie mózgu i opon mózgowych.

Wykrywanie zarazków w żywności i ich inaktywacja

W rozpoznaniu zakażeń enterowirusowych u ludzi decydujące znaczenie ma wykrycie zarazka w próbkach kału chorych lub specyficznych przeciwciał w ich surowicach. Pierwsze potwierdzenia uzyskano wykazując obecność wirusów w obrazie mikroskopu elektronowego (złoty standard). Aktualnie w diagnostyce różnicowej stosowane są testy immunoenzymatyczne (ELISA), umożliwiające wykrywanie rotawirusów z grupy A, adenowirusów, a także niektórych norowirusów. W wykrywaniu pozostałych grup rotawirusów oraz norowirusów wykorzystywany jest test odwrotnej transkrypcji PCR (RT-PCR), różniący ich kwasy nukleinowe (15, 23).

Wykrywanie wirusów w żywności lub wodzie jest w wysokim stopniu utrudnione, nawet przy zastosowaniu testu RT-PCR. Wiele patogennych wirusów nie daje się hodować na liniach komórkowych (norowirusy, a także liczne rotawirusy). Można je więc wykrywać tylko bezpośrednio w produktach żywności. Środowisko to jednak utrudnia standaryzację metody powodowaną inhibicją enzymów użytych w RT-PCR, co prowadzić może do fałszywie dodatnich wyników i innych problemów technicznych (4, 14, 15). Ze względu na te ograniczenia, wynikające z oddziaływania środowisk różnych asortymentów żywności na czułość tych molekularnych metod, nie są one stosowane w rutynowych badaniach laboratoryjnych.

W środowiskowej dystrybucji enterowirusów znaczącą rolę odgrywają wody ściekowe, skąd przy niedostatecznej skuteczności dezynfekcji zarazki przedostają się do gleby i dalej do wód powierzchniowych, a z nimi do tkanek roślin, np. warzyw i owoców. Skażenie roślin jest często wynikiem sąsiedztwa pól uprawnych z irygacyjnymi lub używaniem do nawadniania upraw zanieczyszczonej wody. Skutecznymi środkami inaktywacji licznych wirusów są związki halogenowe. Pod wpływem działania chloru dochodzi do nieodwracalnego uszkodzenia RNA wielu wirusów, co wykorzystywane jest przy uzdatnianiu wody pitnej. Zabieg ten jednak nie zawsze może być skuteczny, ponieważ niektóre szczepy wirusa *polio*, a także wirus przyszczycy wykazują znaczną oporność na jego działanie. Wirusy transportowane z ciekami wodnymi do wód morskich są z kolei wychwytywane przez ryby, mięczaki oraz skorupiaki i kumulowane w ich tkankach. Jest to zatem droga, którą zarazki mogą być również przenoszone do

organizmu człowieka. Patogenne dla ludzi wirusy nie replikują w organizmach ryb i skorupiaków. Nie ma również dowodów, aby wirusy patogenne dla człowieka replikowały się w organizmach roślin (8). Zanieczyszczenie innych produktów żywnościowych pochodzi od nosicieli i jest rezultatem niskiego stanu higieny (brudne ręce).

Wrażliwość wirusów na działanie czynników fizykochemicznych jest mało poznana. Wysoką termooporność wykazuje wirus *hepatitis A*, którego inaktywacja wymaga ogrzania w temperaturze 100°C przez 5 min (24). Także nieliczne są dane odnośnie do wrażliwości wirusów na środki dezynfekcyjne. Poważnym utrudnieniem w doświadczeniach badaniach tego problemu jest ich niezdolność do wzrostu w hodowlach komórkowych. Skutecznym środkiem wydaje się inaktywacja radiacyjna, przy zastosowaniu promieni gamma (25). Dobre efekty uzyskuje się przy zastosowaniu dawki około 4 kGy /0,4 Mrad/. Ta procedura powinna eliminować około 90% wirusów obecnych w produktach. Zabieg jednak może negatywnie oddziaływać na właściwości sensoryczne niektórych produktów, szczególnie tych o dużej zawartości wody, takich jak owoce morza, powodując ich czernienie. Aktualnie nie są dostępne, poza sterylizacją, metody które redukowałyby liczbę wirusów o więcej niż o 3 cykle logarytmiczne. Należy więc brać za prawdopodobną ich obecność w różnych środkach żywności (15). W obecnej sytuacji skuteczność działań prewencyjnych zależy przede wszystkim od konsekwentnego przestrzegania rygorów sanitarnych, wdrożonych przez procedury GMP, GHP i HACCP. Rygory te powinny być przestrzegane podczas wszystkich etapów procesu produkcji i dystrybucji żywności. Ponadto, konsumenci, a także producenci żywności i kontrolerzy jej jakości powinni nieustannie doskonalić swą wiedzę z zakresu mikrobiologicznych zagrożeń żywności, z uwzględnieniem znaczenia wirusów dla jej bezpieczeństwa.

Piśmiennictwo

1. Cliver D.O.: Epidemiology of viral food borne disease. *J. Food Prot.* 1994, 57, 263-281.
2. Koopmans M., Duizer E.: Foodborne viruses; an emerging problem. *Int. J. Food Microbiol.* 2004, 90, 23-41.
3. Codex Alimentarius Committee on Food Hygiene, 1999. Discussion Paper on Viruses. FAO/WHO document CX/FH, 99/11. Rome, Italy: FAO/WHO.
4. Atmar R.L., Estes M.K.: Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001, 14, 15-37.
5. Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., Mc Caig L.F., Bresee J.S.: Food related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 1999, 5, 607-625.
6. Cliver D.O.: Virus transmission via food. *World Health Stat. Q.* 1997, 50, 90-101.
7. Bidawid S., Farber J.M., Sattar S.A., Hayward S.: Heat inactivation of foods by foodhandlers; experiments on hepatitis A virus transfer to food and its interruption. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 2759-2763.

8. CDC, MMWR: Updated noroviruses outbreak management and disease prevention guidelines. *Recommend. Reports* 2011, 60, /No 3/, 1-13.
9. Kurdziel A.S., Wilkinson N., Langton S., Cook N.: Survival of poliovirus on soft fruits and salad vegetables. *J. Food Prot.* 2001, 64, 706-709.
10. Rzeźutka A.: Czynniki wirusowe przenoszone z żywnością. *Życie Wet.* 2011, 86, 311-314.
11. Bigoraj E., Mizak B., Król J.: Struktura rotawirusów – czynnika etiologicznego infekcji pokarmowych u człowieka. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 1215-1218.
12. Clemente-Casares P., Pina S., Buti M., Jardi R., Martin M., Bofill-Mas S., Girones R.: Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerg. Infect. Dis.* 2003, 9, 448-454.
13. Berg D., Kohn M., Harley T., Mc farland L.: Multistate outbreaks of acute gastroenteritis traced to fecal-contaminated oysters harvested in Louisiana. *J. Infect. Dis.* 2000, 181, 381-386.
14. Lees D.: Viruses in bivalve shellfish. *Int. J. Food Microbiol.* 2000, 59, 81-116.
15. Schwab K.J., Neill F.H., Farkhauser R.L., Daniels N.A., Monroe S.S.: Development of methods to detect Norwalk-like viruses (NLVs) and hepatitis A in delicatessen foods: application to a foodborne NLV outbreak. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 213-222.
16. Rzeźutka A., Kozyra I., Chrobocińska M., Kaupke A., Mizak B.: Norowirusy w środowisku żywności. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 379-383.
17. Fiore A.E.: Hepatitis A transmitted by food. *Clin. Infect. Dis.* 2004, 38, 705-715.
18. Mechnik L., Bergman N., Attali M., Beergabel M., Mosenkis B., Sokolowski N., Malnick S.: Acute hepatitis E virus infection presenting as prolonged cholestatic jaundice. *J. Clin. Gastroenterol.* 2001, 33, 421-422.
19. Takahashi M., Nishizawa T., Miyajima H., Gotanda Y., Iita T., Tsuda E., Okamoto H.: Swine hepatitis E virus strain in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. *J. Gen. Virol.* 2003, 84, 1931-1940.
20. Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mishihiro S.: Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003, 362, 371-373.
21. Whithers, M.R., Correa, M.T., Morrow, M., Stebbins, M.E., Seriwatana, J., Webster, W.D., Boak, M.B., Vaughn, D.W.: Antibody level of hepatitis E virus in North Carolina swine workers, non-swine workers, swine and murids. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002, 66, 384-388.
22. Lundström J.O.: Mosquito-borne viruses in western Europe: a review. *J. Vector Ecol.* 1999, 24, 1-39.
23. Beuret C., Kohler D., Luthi D.: Norwalk-like virus detected by reverse transcription polymerase chain reaction in mineral water imported into or bottled in Switzerland. *J. Food. Prot.* 2000, 63, 1576-1582.
24. Croci L., Ciccozzi M., De Medici D.: Inactivation of hepatitis A virus in heat-treated mussels. *J. Appl. Microbiol.* 1999, 87, 884-888.
25. Farkas J.: Irradiation for better foods. *Trends Food Sci. Tech.* 2006, 17, 148-152.

Prof. dr hab. Jerzy Molenda, ul. Świnoujska 3, 54-313 Wrocław