

DOI: 10.7251/VETJ1701037D

UDK: 637.524.053

Mirjana Dimitrijević¹, Nevena Ilić¹, Nedeljko Karabasil¹, Vlado Teodorović¹,
Dragan Vasilev¹, Snežana Vučinić², Dejan Lausević²

Pregledni rad

VIRUSI - AKTUELNI ALIMENTARNI PATOGENI

Kratak sadržaj

Virusne infekcije prenosive hranom sve se češće javljaju u mnogim delovima sveta. Procena realne zastupljenosti virusnih bolesti koje se prenose putem hrane otežana je usled neprijavlivanja infekcija i nepostojanja sveobuhvatnih sistema za nadzor. Nekoliko grupa virusa može izazvati oboljenje ljudi nakon konzumacije kontaminirane hrane. Na osnovu simptoma infekcije, mogu se razvrstati na: one koji izazivaju gastroenteritis (*Norovirus-NoV*, *Rotavirus-HRV*, *Astrovirusi*, *Adenovirusi* i *Sapovirusi*), zatim one koji iz creva migriraju u jetru i uzrokuju hepatitis (*Hepatitis A-HAV* i *Hepatitis E-HEV*) i virusi koji se umnožavaju u crevima, a do bolesti dovode jedino ako migriraju u druge organe, na primer u centralni nervni sistem (*Enterovirusi*). Trenutno najznačajniji alimentarni patogeni su Norovirus (NoV) i Hepatitis A virus (HAV). Svi pomenuti virusi se šire fekalnom kontaminacijom, ali i direktnim kontaktom ili transmisijom virusnih čestica putem aerosola. Hrana može biti primarno kontaminirana virusom ili naknadno tokom čitavog lanca hrane. Virusi se u njoj ne razmnožavaju, ali mogu opstati duži vremenski period ili u samoj hrani, ili kao infektivne čestice u okruženju. Danas dostupna Real Time RT-PCR metoda je glavna tehnika detekcije virusa u hrani, vodi i drugim uzorcima. Kao preventivne i kontrolne mere u sprečavanju virusnih infekcija preko hrane preporučuju se: podizanje svesti rukovaoca hranom; standardizacija metoda za detekciju virusa u hrani; razvoj laboratorijski baziranog nadzora za otkrivanje izvora epidemije u ranoj fazi, kao i naglašavanje značaja razmatranja virusa u integrisanim sistemima za bezbednost hrane (GHP, GMP, HACCP). Osim toga, naglašava se i značaj uvođenja monitoringa virusa u hrani, u cilju poboljšanja zaštite javnog zdravlja.

Ključne reči: virusi, bezbednost hrane, kontrolne mere

-
- 1 Mirjana Dimitrijević, vanredni profesor; Nevena Ilić, asistent; Nedeljko Karabasil, vanredni profesor; Vlado Teodorović, redovni profesor; Dragan Vasilev, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Srbija
Kontakt: Mirjana Dimitrijevic, e-mail: mirjana@vet.bg.ac.rs
 - 2 Snežana Vučinić, specijalista higijene i tehnologije namirnica živ. porekla; Dejan Laušević, DVM, Specijalistička veterinarska laboratorija, Bul. Džordža Vašingtona, bb p.fah 69, 81000 Podgorica, Crna Gora
Kontakt: Mirjana Dimitrijevic, e-mail: mirjana@vet.bg.ac.rs

DOI: 10.7251/VETJ1701037D

UDK: 637.524.053

Mirjana Dimitrijević, Nevena Ilić, Neđeljko Karabasil, Vlado Teodorović,
Dragan Vasilev, Snežana Vučinić, Dejan Lausević*

Review paper

VIRUSES- CURRENT FOODBORNE PATHOGENS

Abstract:

Foodborne viruses are becoming more frequent, in many parts of the world. The presence of foodborne viruses is not real, because of the low number of reported infections, the lack of comprehensive system for monitoring. Several groups of viruses, after consumption of contaminated food, can cause human disease. Based on symptoms of an infection, viruses can be classified into: those that cause gastroenteritis (*Norovirus-NoV*, *Rotavirus-HRV*, *Astrovirus*, *Adenovirus* and *Sapovirus*), those that migrate from the intestine to the liver and cause hepatitis (*Hepatitis A-HAV* i *Hepatitis E-HEV*), and viruses which multiply in the intestine, migrate to other organs, for example in the central nervous system (*Enterovirus*) and cause disease. Currently, the most important foodborne pathogens are Norovirus and hepatitis A virus. All viruses are transmitted by fecal contamination, but also by direct contact or viral particles in aerosol. The food can be contaminated with virus directly, or throughout the food chain. Viruses can't reproduce in food, but can survive long time in food, or as infectious particles in the environment. Real Time RT-PCR method is the main technique for detection of norovirus in food. Preventive and control measures recommended: raising awareness of food handlers; standardization of methods for virus detection; development laboratories to discover the origin of the epidemic in the early stages, emphasizes the importance of the virus in integrated systems for food safety (GHP, GMP, HACCP). In addition, work on the introduction of monitoring of viruses in food, in order to improve the protection of public health.

Key words: viruses, food safety, control measures

UVOD

Namirnice koje se koriste u ishrani

ljudi mogu biti izvor širokog spektra
uzročnika bolesti prenosivih hranom i

* Mirjana Dimitrijević, Nevena Ilić, Neđeljko Karabasil, Vlado Teodorović, Dragan Vasilev, Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Belgrade, Serbia; Snežana Vučinić, Dejan Laušević, Specialist Veterinary Laboratory, Bul. Dzordza Vašingtona, bb p.fah 69, 81000 Podgorica, Montenegro

njihovom konzumacijom može doći do oboljenja. Iako su već poznati patogeni uglavnom pod kontrolom, epidemiološka situacija se stalno menja pojavom novih uzročnika oboljenja koji se prenose putem hrane. Nedavna istraživanja pokazuju da se virusne infekcije prenosive hranom javljaju u mnogim delovima sveta i da postaju vodeći alimentarni patogen. Na viruse naročito treba obratiti pažnju, jer se drugačije ponašaju od bakterija, pa su se kontrolne mere koje se koriste za uništavanje bakterija pokazale kao neefikasne. Neprijavlјivanje infekcija i nedostatak sistema za nadzor, kao i nemogućnost postojećih sistema da odrede proporciju između bolesti prenosivih hranom u odnosu na druge uobičajene puteve prenosa, otežavaju procenu realne zastupljenosti virusnih bolesti koje se prenose putem hrane (EFSA, 2015).

Nekoliko grupa virusa može izazvati oboljenje ljudi nakon konzumacije kontaminirane hrane. Na osnovu simptoma infekcije, mogu se razvrstati na:

- one koji izazivaju gastroenteritis (*Norovirus-NoV*, *Humani Rotavirus-HRV*, *Astrovirusi*, *Aichi virus*, *Adenovirusi* i *Sapovirusi*),

- oni koji iz creva migriraju u jetru i uzokuju hepatitis (*Hepatitis A-HAV* i *Hepatitis E-HEV*) i
- virusi koji se umnožavaju u crevima, a do bolesti dovode jedino ako migriraju u druge organe, na primer u respiratorni ili centralni nervni sistem (*Enterovirusi*).

Takođe, mora se razmotriti i potencijalan prenos preko hrane takozvanih „emerging” virusa (*Nipah virus*, *Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) virus*, *SARS-causing Coronavirus*). Iako je fekalno-oralni način prenosa malo verovatan, ipak je zabeležen kod primarno respiratornih patogena, kao što su *Nipah virus*, *HPAI virus* i *SARS-CoV*. Virus *Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI)* je izolovan iz zamrznutog mesa, što govori o mogućem širenju ovog virusa u lancu hrane. Različite grupe virusa, većinom iz familija virusa životinja, može biti prisutno u ljudskom i životinjskom fecesu i urinu (Tabela 1). Važno je istaći da oni mogu dospeti u životnu sredinu, kontaminirati hranu, vodu za piće i kupališta i da se dalje prenose ponovo na prijemčive osobe i tako nastavljaju ciklus infekcije (WHO, 2015).

Tabela 1. Virusi koji izazivaju oboljenja ljudi a potencijalno se mogu preneti putem životne sredine (Sagar, 2006).

ROD	POPULARAN NAZIV	BOLEST
Enterovirus	Polio	Paraliza, meningitis, groznica
	Coxsackie A, B	Herpangina, Meningitis, groznica, Respiratorne bolesti, bolesti prljavih ruku, miokarditis, srčane anomalije, osip, pleurodinija, dijabetes
	Echo	Meningitis, groznica, respiratorne bolesti, osip, gastroenteritis
Hepatovirus	Hepatitis A	Hepatitis
Reovirus	Human reovirus	Nepoznata
Rotavirus	Human rotavirus	Gastroenteritis
Mastadenovirus	Human adenovirus	Gastroenteritis, respiratorne bolesti, konjunktivitis
Norovirus	Norwalk-like virus	Gastroenteritis
Sapovirus	Sapporo-like virus	Gastroenteritis
Hepervirus	Hepatitis E	Hepatitis
Mamastrovirus	Human astrovirus	Gastroenteritis, respiratorne bolesti,
Parvovirus	Human parvovirus	Gastroenteritis
Coronavirus	Human coronavirus	Gastroenteritis,
Torovirus	Human torovirus	Gastroenteritis

VIRUSI PRENOSIVI HRANOM

Karakteristike virusa koji putem hrane dovode do oboljenja ljudi predstavljaju nove izazove za upravljanje rizikom. Između ovih virusa i bakterija postoje jasne razlike u morfologiji, infektivnosti i epidemiologiji. Trenutno najznačajniji alimentarni patogeni, s obzirom na broj obolelih i izazvanih epidemija, naročito u razvijenim zemljama sveta su *Norovirus (NoV)* i *Hepatitis A virus (HAV)*. *Rotavirusi*, *Enterovirusi* i *Astrovirusi* su takođe zastupljeni, ali u manjoj meri (Smits, 2017). Virusi

koji se prenose hranom i uzrokuju bolesti poreklom su od ljudskog fekalnog materijala. Hrana može biti kontaminirana virusom primarno, ili naknadno tokom čitavog lanca hrane, pri čemu se virusi u njoj ne razmnožavaju, ali mogu opstati duži vremenski period, ili kao infektivne čestice u okruženju. Zbog sve veće globalizacije i veće potrebe tržišta, izvor i kvalitet svežih proizvoda često se ne može uvek prepoznati i kontrolisati. Iako se pretpostavlja da je sveža hrana „čista i zdrava“, to ne mora biti uvek slučaj, posebno kada se uvozi iz zemalja gde kriterijumi op-

šte higijene ne ispunjavaju međunarodne standarde. Ovaj podatak, u kombinaciji sa velikim brojem epidemija povezanih sa kontaminacijom svežih proizvoda, doveo je zabrinutosti potrošača za bezbednost hrane uvezene iz drugih zemalja sveta. Prenos zoonotskih virusnih infekcija preko hrane retko se spominje, međutim u nekim zemljama identifikovan je rizik od zoonotskih virusnih bolesti preko mesnih proizvoda, kontaminiranih virusima i to za virus hepatitisa E (HEV) i tick-borne virus encefalitisa (TBE). HEV je verovatno prvi virus za koji je ustanovljeno da se kao zoonoza može preneti putem hrane (Ricci i sar., 2017).

U Republici Srbiji, usled nedovoljnih i neujednačenih laboratorijskih mogućnosti, epidemiološka situacija virusnih bolesti prenosivih hranom je još uvek nedovoljno poznata. Epidemije se registruju na području Beograda od 2010. godine, od kada su u Centru za mikrobiologiju Gradskog zavoda za javno zdravlje (GZZJZ) uvedene laboratorijske metode za detekciju ovih uzročnika u uzorcima fecesa. U periodu od 2011. do 2015. godine u Beogradu je registrovano 8248 osoba obolelih od 17 crevnih zaraznih bolesti i zoonoza koje se dominantno prenose hranom. U posmatranom petogodišnjem periodu u Beogradu, samo od crevnih zaraznih bolesti su registrovane 172 epidemije sa 2072 obolele osobe. Među njima prijavljeno je 17 epidemija bolesti virusne etiologije, od kojih su 9 opisane kao najverovatnije alimentarne i 8 sa kontaktnim načinom prenošenja infekcije. Međutim, naglašava se da je najverovatnije jedan deo dece sa registrovanom dijare-

jom i gastroenteritisom u Beogradu u posmatranom periodu, imao neku od opisanih infekcija virusne etiologije sa blažom kliničkom slikom, te je izostalo upućivanje na laboratorijsku dijagnostiku, ili su podaci o obavljenim analizama urađeni van laboratorije GZZJZ i ostali neprijavljeni (Pavlović, 2016). Ustanovljeno je da se poslednjih godina, zahvaljujući primeni vakcine protiv *Rotavirusa*, on polako povlači sa vodećeg mesta izazivača dijareja kod dece i ustupa ga *Norovirusima* (Ramani i sar., 2014).

VIRUSI KOJI UZROKUJU GASTROENTERITIS

Norovirus (NoV)

Norovirus (NoV, ranije nazivan „*Norwalk-like virus*“) spada u porodicu *Caliciviridae* i čini jedan od pet rodova (Jiang i sar., 1990.). Ostali rodovi pripadnici porodice *Caliciviridae* su: *Lagovirus*, *Nebovirus*, *Vesivirus* i *Sapovirus* (Thorn i Goodfellow, 2014.). NoV je mali okrugli virion, sa jednodlančanim pozitivno orijentisanim RNK genomom. Karakteristika ove grupe virusa je udubljenje na površini u obliku čašice (calix-a), nazvano „Davidova zvezda“ (Lees, 2000). Prvobitno nazvan Norwalk virus, kasnije preimenovan u „virus male okrugle strukture“, a 2002. prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTVdB, 2004.) nazvan Norovirus (NoV), otkrili su Kapić i sar. (1972.). Genom virusa dugačak je 7,5 do 7,7 kilobaza, a organizovan je u tri glavna, konzervativna Open Reading Frame (ORF) regiona (Atmar, 2010; Thorn i Goodfellow, 2014.). Sekvencira-

njem regije gena za sintezu kapsida i u nekim slučajevima spoja ORF1 i ORF2, identifikovano je nekoliko rekombinantnih sojeva NoV. Genotipizacija bazirana samo na kapsidnoj regiji ne bi bila dosledna zbog rekombinacije NoV, naročito jer je mesto rekombinacije u samoj blizini te regije (Bull i sar., 2007.). U poslednjoj deceniji sojevi koji pripadaju genogrupu NoV GI.4 odgovorni su za većinu velikih epidemija, kao i za sporadične slučajeve gastroenteritisa (van Beek i sar., 2013.).

Iako se norovirusi ne razmnožavaju u hrani, različiti faktori doprinose nastanku bolesti: niska infektivna doza, odsustvo dugotrajnog imuniteta, stabilnost virusa u okolini i mogućnost različitih načina prenošenja (Rizzo i sar., 2007.). Infektivna doza je niska, a fecesom se izlučuje čak $10^8 - 10^{12}$ kopija virusa po gramu (Atmar i sar., 2008.). Replikacija virusa uglavnom se odvija u mukoznom endotelu tankog creva, što rezultira skraćivanjem crevnih resica, a patološke promene se odlikuju hiperplazijom ćelijskih kripti. (Caul, 1996.). Genetska predispozicija izloženih potrošača takođe je bitan faktor u razvoju bolesti (Le Guyader i sar., 2009.). Dokazano je da se NoV veže za antigene tkivno-krvnih ćelija (HBGAs) i da preko njih ispoljava svoje dejstvo (Hutson i sar., 2002.). Skorašnja istraživanja ukazuju da infektivna doza virusa i prijemčivost domaćina mogu varirati, zavisno od soja norovirusa (Moe i sar., 2004).

Od početka simptoma infekcije veliki broj norovirusa se izlučuje fecesom i to izlučivanje može da traje i do dve nedelje nakon infekcije. Životinje inficira-

ne sa agentom Nevburi, goveđim Calici-viruses koji pripada Norovirus genotipskoj grupi III, pokazuju slične simptome, patološke promene i procese kao kod ljudi (Appleton, 2001). Simptomi NoV infekcije uglavnom su blagi, a karakterišu se naglom pojavom povraćanja i vodenastim dijarejama, dok je smrtnost izuzetno retka (Atmar, 2010.). Tok infekcije je brz i traje 24 do 48 sati, sa razvojem simptoma od 12 do maksimalnih 72 sata. Norovirus je glavni uzročnik virusnih enteritisa širom sveta. Precizno određivanje izvora infekcije je otežano jer postoji više puteva prenosa infekcije. Iako je inicijalni put prenosa putem kontaminirane hrane, sekundarni prenos direktnom kontaminacijom hrane od strane zaražene osobe, ili kontaktom između osoba je takođe moguć. Usled toga dolazi do brzog širenja infekcije u institucijama, školama, restoranima, odmaralištima, brodovima, gde morbiditet može da bude i do 50%. Infekcije norovirusom putem hrane nastajale su nakon konzumacije hrane kontaminirane tokom uzgoja (školjke) ili naknadno tokom rukovanja hranom. Epidemije su zabeležene nakon konzumacije školjki (Berg i sar., 2000; Simmons i sar., 2001), peciva (Kuritsky i sar., 1984), delikatesnih proizvoda od mesa (Schwab i sar., 2000), sendviča (Daniels i sar., 2000), malina (Ponka i sar., 1999), vode i leda (Beuret i sar., 2002). Radnici sa asimptomatskim infekcijama, koji su rukovali hranom, takođe su prouzrokovali neke od epidemija norovirusom (Vivancos i sar., 2009).

Humani Rotavirus (HRV)

Infekcija rotavirusom je naročito ozbiljan problem u zemljama u razvoju, gde dovodi i do 600.000 smrtnih slučajeva godišnje, najčešće među decom. U Sjedinjenim Američkim Državama procenjuje se da rotavirusi izazivaju oko 4 miliona infekcija godišnje dovode, do skoro 70.000 hospitalizacija i više od 100 smrti godišnje (Kapikian i sar., 2001; Sattar i sar., 2001). Po izveštaju Tate i saradnika iz 2016. godine, rotavirus je glavni uzrok akutnog gastroenteritisa kod dece uzrasta do 5 godina i odojčadi i prouzrokuje oko 215 000 smrtnih slučajeva godišnje. Bolest se javlja u svim starosnim dobima, obično je kod odraslih blagog toka, pa pravi obim infekcija kod njih nije poznat. Infekcija nije generalno okarakterisana kao alimentarna, ali u jednom broju zemalja prijavljene su epidemije u vezi sa hranom i vodom. Iako se sojevi virusa kod životinja i ljudi uglavnom razlikuju, neki sojevi su usko povezani, a javljaju se i unakrsne infekcije među vrstama (Sattar i sar., 2001).

Astrovirusi

Malobrojni su epidemiološki dokazi o prenosu astrovirusa putem hrane, ali su prijavljene infekcije nakon konzumiranja kontaminiranih školjki i vode (Oishi i sar., 1994; Kitahashi i sar., 1999; Appleton, 2001). Velika epidemija akutnog gastroenteritisa u Japanu bila je 1991, kada je obolelo hiljade dece i odraslih iz 14 različitih škola (Oishi i sar., 1994). Velike epidemije zabeležene su u Holandiji. 2005. godine (Svraka, 2005), kao i u SAD 2016. god (van der Doef, 2016).

Sapovirusi

Postoji nekoliko izveštaja o infekcijama nakon konzumiranja hrane kontaminirane Sapovirusima. Epidemija virusnog gastroenteritisa je prijavljena u 23 škole u Parkville, Mariland, 1997. Utvrđeno je da je hrana bila izvor, a Sapovirus kasnije je označen kao virus Parkville (Noel i sar., 1997). U skorije vreme zabeležene su dve velike epidemije izazvane sapovirusom, uglavnom u pedijatrijskoj starosnoj grupi, u periodu između 2002. i 2012. godine (Svraka, 2010; Lee, 2012).

Adenovirusi

Entero-adenovirusi su drugi najvažniji uzročnik, nakon rotavirusa, akutnog gastroenteritisa kod dece do 4 godine starosti (Bresee i sar., 2002). Adenovirusi su rasprostranjeni u prirodi i zaražavaju ptice i sisare, uključujući i čoveka. Identifikovani su u različitim uzorcima životne sredine, uključujući otpadne vode, mulj, školjke, morsku vodu, površine i vodu za piće. Prijavljene su epidemije gde je hrana bila put prenosa, ali i gde nije, a takođe su negde izvori ostali neprepoznati (Hidalgo, 2016).

VIRUSI KOJI UZROKUJU HEPATITIS

Virusi hepatitisa su tako nazvani jer inficiraju jetru, a ne po filogenetskim ili morfološkim sličnostima, jer svaki od pet različitih virusa hepatitisa pripada različitim familijama virusa. Od nekoliko različitih virusa koji uzrokuju hepatitis, samo dva–*HAV* (hepatitis A virus) i *HEV* (hepatitis E virus) se prenose fekalno-oralnim putem i navedeni su kao „ozbiljni hazard

di” u Prilogu V, U.S. Food and Drug Administration’s Food Code (Cliver,1997).

Hepatitis A je ozbiljna infekcija koja se prenosi hranom i obavezna je da se prijavi u većini razvijenih zemalja. Virus se prvenstveno prenosi fekalno-oralnim putem, ali se takođe može preneti kontaktom sa osobe na osobu. Poslednjih nekoliko godina, učestalost infekcija hepatitisa A u mnogim zemljama je smanjena nakon uvođenja tretmana otpadnih voda i dobre higijenske prakse, ali je ovo dovelo i do opšteg smanjenja imuniteta populacije, sa posledičnim povećanjem podložnosti bolesti. Stoga, postoji povećanje rizik od dobijanja hepatitisa A infekcija od svežih namirnica uvezenih iz regiona sveta gde je HAV endemska bolest i gde su loši standardi opšte higijene. U SAD, hepatitis A je vodeći uzročnik hepatitisa, sa mortalitetom od 0,3%. Međutim, pretpostavlja se da je stvarna incidenca deset puta veća od broja prijavljenih slučajeva. Između 1980. i 2001. godine, CDC je registrovao prosek od oko 25.000 slučajeva godišnje, ali kada su podaci korigovani, prosečan broj je iznosio oko 260.000 godišnje (Fiore, 2004). Hepatitis A infekcija se javlja širom sveta, a posebno u zemljama u razvoju, gde je zaraženo više od 90% dece starosti od 6 godina, pri čemu je infekcija kod njih često asimptomatska (Cromeans i sar., 2001). Kontaminacija Hepatitis A virusom se obično javlja u toku proizvodnje ili rukovanja hranom. Veliki je broj dokumentovanih epidemija nakon konzumacije HAV kontaminiranih školjki, a najveća se dogodila u Kini 1988. godine, kada je oko 300.000 ljudi zaraženo nakon konzumacije delimično skuvanih školjki

(Haliday i sar., 1991). Epidemije su takođe uzrokovale ostrige u Australiji, kamenice u Brazilu, dagnje u Italiji i školjke u Španiji i kod većine je kanalizacija uglavnom bila izvor zagađenja (Bosch i sar., 2001; Hata i sar., 2014; Rodriguez i sar., 2012, WHO, 2012). Kontaminacija školjki sa HAV je još uvek uobičajena u Italiji, Španiji, i drugim evropskim zemljama (Suffredin i sar. 2017, Bella i sar., 2017). Hepatitis E virus naročito je rasprostranjen u Aziji, severnoj Africi i Latinskoj Americi, uključujući Meksiko. Iako se prvobitno verovalo da se HEV ne javlja u industrijski razvijenim zemljama, u poslednjih nekoliko godina je identifikovan u Evropi, Australiji i Sjedinjenim Američkim Državama (Emerson i Purcell, 2003). Prenos infekcije je generalno preko fekalno zagađene vode, a dokaz za prenos hranom nije definitivno dokumentovan. Epidemije i sporadični slučajevi akutnog hepatitisa izazvanog HEV se javljaju uglavnom u regionima u kojima je ovaj virus endemski. Antitela na HEV su otkrivena u mnogim životinjskim vrstama, što je dovelo do diskusije o njegovom mogućem zoonotskom aspektu. Nedavni izveštaji iz Japana pokazuju da se virus može preneti na ljude bliskim kontaktom sa zaraženim svinjama ili konzumacijom kontaminiranog sirovog ili nedovoljno termički obrađenog svinjskog i jelenskog mesa, kao i jetre divljih svinja (Tei i sar, 2003; Yazaki i sar., 2003). Najubedljiviji dokaz je nedavni izveštaj o porodici u Japanu, koja je nakon konzumacije sirovog jelenskog mesa obolela od hepatitisa (Tei i sar, 2003), a velike epidemije su se javljale i u Kini (Ren i sar., 2017).

ENTEROVIRUSI

Enterovirusi čine grupu virusa koji se umnožavaju u crevima, a do bolesti dovede jedino ako migriraju u druge organe, na primer u respiratorni ili centralni nervni sistem, ali generalno ne uzrokuju gastroenteritis. Uključuju polioviruse, Cocksackie A i B virus i Echoviruse. Prenose se fekalno-oralnim putem. Poliovirusi se prenose hranom, ali usled imunizacije ljudi sada se veoma retko javljaju. Uvođenje pasterizovanog mleka pedesetih godina prošlog veka, smanjilo je prenos ovom namirnicom. I pored prisustva enterovirusa u životnoj sredini, prijavljen je vrlo mali broj epidemija povezanih sa hranom. Enterovirusi, uključujući ehoviruse i koksaki A i B virus, izolovani su iz kanalizacije, mulja, morske i sveže vode, kao i iz školjki. U dve zabeležene epidemije putem hrane povezane sa Cocksacki i ehovirusima u Sjedinjenim Američkim Državama, izvor virusa nije identifikovan. Drugi virusi koji se mogu potencijalno preneti fekalno-oralnim putem i naći u fecesu ljudi i životinja uključuju Parvoviruse, korona viruse, toroviruse, picobirnaviruses, i tik-borne virus encefalitisa (TBE). Sposobnost mnogih od ovih virusa da izazove gastroenteritis kod ljudi i životinja je još uvek nedokazana, a takođe postoji malo dokaza da mogu putem hrane dovesti do oboljenja (Bresee i sar.2002, Greening, 2016).

KORELACIJA IZMEĐU BAKTERIJA–INDIKATORA I VIRUSA U HRANI I VODI

Kako se crevni virusi obično prenose fekalno-oralnim putem, komponente fe-

cesa su korišćene za detekciju prisustva fekalnog zagađenja u hrani i vodi. Razvijeni su takođe i testovi za hemijske i mikrobiološke indikatore. Kao hemijski indikator koristio se koprostanol, ali su testiranja zahtevala specijalizovanu opremu i imala ograničenu osetljivost (Isobe i sar., 2004). Generalno osetljiviji od hemijskih su mikrobiološki testovi jer mogu otkriti jedan ili nekoliko vrsta mikroorganizama, te se stoga u većini ispitivanja bakterije koriste kao indikatori virusa. Bakterije namenjene za tu upotrebu treba da poseduju određene karakteristike, od kojih su najvažnije (Kinzelman i sar., 2011) :

- u datom okruženju prisustvo bakterija treba da je bude u korelaciji sa prisustvom crevnih virusa;
- kada je bakterija indikator odsutna ili je prisutna u malim koncentracijama, virusi ne treba da se detektuju i obratno–kada je broj indikatora visok, virusi treba da se učestalije detektuju i
- bakterije indikatori ne bi trebalo da budu patogene, što pojednostavljuje procedure za njihovu identifikaciju i smanjuje rizik slučajnog zaražavanja laboratorijskih radnika.

Indikator bakterija treba da preživi u datom okruženju približno onoliko dugo koliko i virus, jer ako se brže inaktiviraju od virusa, ne bi se otkrile, iako su virusi i dalje prisutni. Da bi bile korisne kao indikatori, opstanak bakterija u okruženju takođe ne treba da se razlikuje u velikoj meri od opstanka virusa (Sagar, 2006).

Na osnovu brojnih studija ukazano je da nivo bakterija indikatora može da

predvidi prisustvo humanih crevnih virusa u nekim, ali ne i u svim slučajevima (Schaper i sar., 2004., Oh i sar., 2015). Virusi se češće mogu naći u uzorcima životne sredine i u školjkama koje su visoko kontaminirani indikator bakterijama, međutim takođe se mogu izolovati i u uzorcima gde je nizak nivo bakterija indikatora i koje ispunjavaju zadate standarde. Stoga mnogi naučnici preporučuju korišćenje bakteriofaga kao virusnih indikatora. Bakteriofagi su virusi koji inficiraju i razmnožavaju se u bakterijama, a slični su virusima koji dovode do oboljenja ljudi. Uslovi koje bakteriofag treba da ispunjava su: da bude specifičan, da se isključivo javlja u ljudskom fecesu i kanalizaciji; da se ne razmnožava u okruženju; da se javlja u većem broju nego virusi; da bude dugovečan; da se detektuje jeftinim i jednostavnim metodama. Različiti genotipovi F+ bakteriofaga su predloženi kao indikatori fekalnog zagađenja, ljudskog ili životinjskog (Hodgson i sar., 2017).

DETEKCIJA I IZOLACIJA NOROVIRUSA IZ HRANE

Iako virusi u mnogim zemljama predstavljaju važan uzročnik bolesti prenosivih hranom, retko se dijagnostikuju, jer analitičke metode nisu još uvek široko dostupne. Hrana je vrlo složeni matriks, pa je potrebno razviti visoko osetljive metode, koje će omogućiti obnavljanje virusnih čestica i uklanjanje inhibitornih supstanci koje mogu da ometaju njegovu izolaciju (Bosch i sar., 1994; Sánchez i sar., 2002, Le Guyader i sar., 2006). Pored problema sa inhibitornim supstancama, detekcija virusa je otežana jer se u hrani

nalaze u niskim koncentracijama i često dolazi do varijacija sekvenci, odnosno do stvaranja novih sojeva. Metcalf i saradnici su 1979. dokazali da se virusi u školjkama koncentrišu u tkivu digestivne žlezde, što je bilo od velikog značaja za napredak metode ekstrakcije. Ovo je kasnije potvrđeno detekcijom HAV, adenovirusa i rotavirusa u eksperimentalno kontaminiranim ostrigama (Maalouf i sar., 2011).

Potencijal za brzu dijagnozu, veliki kapacitet, kao i osetljivost i kvantitativna priroda testa PCR u realnom vremenu, čine ga veoma pogodnim za zamenu izolacije virusa kako za nadzor, tako i za dijagnostiku i istraživanje (Koo i sar., 2010., Milić i sar., 2017). Za viruse koji ne mogu da se uzgajaju na kulturama ćelija, kao što su norovirus i HAV, danas su dostupni Real Time PCR testovi uz prethodnu reverznu transkripciju (RT), koji omogućavaju mnogo bržu procenu kliničkih uzoraka i glavna su tehnika detekcije NoV iz hrane, vode i drugih uzoraka (Lopman i sar., 2012). Ova metoda izvodi se po standardnom protokolu, korišćenjem seta hemikalija po uputstvima proizvođača (QIAamp ili RNeasy kit, QiagenR). RealTime PCR je modifikovni PCR koji omogućuje praćenje amplifikacije (akumulacije amplifikata) u „realnom vremenu“, tj. u/kroz svaki ciklus. Princip funkcionisanja Real Time RT-PCR je da se tokom reakcije meri količina akumuliranog PCR proizvoda i to tako što se u klasičnu reakcionu smešu dodaje fluorescentna boja koja se, po okončanju svakog ciklusa, interkalarno veže za novosintetisani DNK fragment. Kompjuterski kontrolisana CCD kamera potom snima in-

tenzitet svetlosti koju UV–pobuđena boja emituje iz reakcione smeše. Real Time PCR sistem upoređuje intenzitet fluorescencije u odnosu na svaki ciklus i prikazuje kinetiku procesa u obliku amplifikacione krive. U prvim ciklusima reakcije ne postoje merljive varijacije intenziteta fluorescencije, ali u tom periodu se definiše prvi značajni parametar–bazna linija amplifikacione krive. Povećanje fluorescencije iznad bazne linije predstavlja početak faze akumulacije DNK proizvoda. Drugi značajan parametar je linija praga. Ova linija je paralelna baznoj liniji, a preseca amplifikacionu krivu u fazi eksponencijalnog rasta intenziteta fluorescencije. Amplifikaciona kriva svakog ispitujućeg uzorka preseca liniju praga u određenom ciklusu reakcije. Taj ciklus naziva se ciklus praga (threshold cycle) i označava kao Ct. Linija praga tako predstavlja početnu količinu ispitujuće DNK. Postoje različite vrste Real Time PCR testova, ali se danas najčešće koristi TaqMan fluorescentna proba. Ova metoda zasniva se na detekciji fluorescentnog signala, koji se proizvodi proporcionalno sa amplifikacijom PCR proizvoda. Specifičnost testova može se utvrditi pomoću hibridizacionih proba ili sekvencioniranjem odnosno utvrđivanjem redosleda amplifikona, koje dalje mogu poslužiti za epidemiološke molekularne studije (Atmar, 2010).

PREVENTIVNE MERE

Alimentarni virusi su generalno otporni na faktore spoljašnje sredine, pa i na temperaturu i kiselost. Stabilni su u prisustvu lipidnih rastvarača, većina odoleva i zamrzavanju i sušenju. Još uvek nije

utvrđeno da li proces pasterizacije pri 60°C tokom 30 min inaktiviše sve crevne viruse. Mnogi su takođe otporni na dejstvo ultra–visokog hidrostatičkog pritiska, koji se koristi u procesima prečišćavanja školjki, džemova, želea i mlečnih proizvoda (Wilkinson i sar., 2001; Kingsley i sar., 2002). Otpornost crevnih virusa na ekološke stresore im omogućava da se odupru, kako kiseloj sredini u crevima sisara, tako i proteolitičkoj i alkalnoj aktivnosti duodenuma, tako da su u stanju da prođu ove barijere i kolonizuju donji digestivni trakt. Ove osobine im takođe omogućavaju opstanak u kiselim, mariniranim proizvodima i turšiji, zamrznutoj i lagano kuvanoj hrani, kao što su školjke. Kod većine enteričnih virusa infektivna doza je niska (10–100 čestica i manje), pa iako se ne umnožavaju u hrani, dovoljno infektivni virioni mogu opstati u njoj i nakon konzumacije i izazvati oboljenje. U školjkama, i u svežoj i morskoj vodi zadržavaju infektivnost i po nekoliko nedelja pri temperaturi od oko 4°C (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2002). Richards (2012) je vršio eksperiment u kome, tokom 14 ciklusa zamrzavanja pri temperaturi od -80°C, a zatim zagrevanja pri +22°C GII.4 genotipa norovirusa, nije uočio promene integriteta virusnog kapsida i promene stabilnosti titra viralne RNK, što dokazuje njegovu stabilnost u okolini. Fotodinamska inaktivacija je korišćenje prirodnih fotosenzibilizatora (PS) i predstavlja obećavajuću strategiju za kontrolu različitih patogena uključujući bakterije, gljivice, kvasce, protozoe i viruse (Luksiene i Brovko, 2013).

Ustanovljeno je da prisustvo i opstanak virusa zavisi od temperature i obrnuto je srazmerno njenom povećanju (Suffredini i sar., 2012; Bazzardi i sar., 2014). Niske temperature (hlađenje i zamrzavanje) nisu potpuno pouzdani načini smanjenja kontaminacije virusa u namirnicama. Visoka temperatura može biti efikasna u nekim slučajevima, ali treba razmotriti kombinaciju vremena i temperature za pojedine viruse, kao i vrstu hrane. Takođe, treba imati u vidu i RTE hranu, gde ne postoji naknadna termička obrada. Efikasnost drugih načina kontrole je takođe donekle ograničena i generalno, oni mogu smanjiti, ali ne i eliminisati viruse u hrani (Sagar, 2006). Među njima, oni koji se primenjuju na sirovim školjkama su prečišćavanje, prenos u čistu morsku vodu i jonizujuće zračenje. Za primenu visokog hidrostatičkog pritiska potrebno je više podataka da bi se dokazala efikasnost u deaktivaciji virusa (Ye i sar., 2015). Isto tako, pranje proizvoda svežom, čistom vodom, sa ili bez dodatka hemijskih dezinfekcionih sredstava, može takođe da smanji kontaminaciju virusa, ali je važno napomenuti da efikasnost takve dekontaminacije varira zavisno od i virusa i od namirnice (Koo i sar., 2010).

ZAKLJUČCI

Virusi koji se prenose hranom postaju sve veći javno-zdravstveni problem širom sveta. Koliko je stvarno opterećenje hrane virusima, još uvek nije poznato jer ne postoje tačni podaci o njihovoj prevalenciji u svim zemljama. Sistemi za epidemiološki nadzor ne mogu da zabeleže svaku pojavu virusa, jer se oni najčešće i nepri-

javljaju. I pored toga, podaci koji sada postoje ukazuju na to da su virusi vodeći patogeni koji se prenose hranom.

Uvođenje molekularnih metoda za detekciju i identifikaciju virusa koji se prenose hranom, značajno je doprinelo njihovoj kontroli, naročito onih virusa koji se ne mogu kultivisati na kulturama ćelija, kao što su norovirus i hepatitis A virus. Ove metode imaju i svojih ograničenja, s obzirom na to da se njihovom primenom ne može odrediti infektivna doza virusa, što je ključni faktor pri proceni rizika za zdravlje ljudi.

Ključni faktori koji utiču na rizik od kontaminacije svežih proizvoda su kvaliteta vode i higijene radnika u proizvodnji i u distribuciji hrane. Glavni uzroci kontaminacije su loša higijenska praksa u proizvodnim pogonima i kontaminacija kanalizacionim vodama koje imaju glavnu ulogu u procesu kontaminacije. Prvi korak u kontroli kontaminacije virusima je sprečavanje direktnog kontakta fekalnog materijala (u nekim slučajevima i izbljuvka) sa hranom. Takođe, prevencija izlivanja otpadnih voda u uzgajališta je od presudnog značaja u kontroli virusne kontaminacije školjki. Međutim, nedostatak korelacije između indeksa fekalnih koliforma i prisustva crevnih virusa može otežati prepoznavanje zagađenja, kada do njega dođe. U proizvodnim pogonima je neophodno poštovanje zahteva dobre higijenske i dobre proizvođačke pakse, s posebnim osvrtom na ličnu higijenu radnika. Isto tako, pravilno održavanje lične higijene, uključujući upotrebu zaštitnih barijera i dekontaminaciju ruku i radnih po-

vršina, predstavlja prvu liniju odbrane za sprečavanje virusne kontaminacije RTE hrane. Odgovarajuće kontinuirane edukacije radnika koji rukuju hranom su takođe jedan od uslova primene preventivnih mera.

Potrebna su dalja istraživanja da bi se ustanovio efektivni način dekontaminacije i strategije kontrole, kao i da se radi na poboljšanju monitoringa i metoda detekcije, razmotri mogućnost vakcinacije, te da se razviju uspešni edukativni programi.

LITERATURA

1. Appleton H. (2001): *Norwalk virus and the small round viruses causing foodborne gastroenteritis*, Foodborne Disease Handbook: Viruses, Parasites, Pathogens and HACCP 2: 77–97.
2. Atmar R. L. (2010): *Noroviruses – State of the Art*. Food Environ Virol. 2, 117–126.
3. Atmar R.L., Opekun A. R., Gilger M. A., Estes M. K., Crawford S. E., Neill F. H., Graham D. Y (2008): *Norwalk Virus Shedding after Experimental Human Infection*. Emerg. Infect. Dis: 14, 1553–1557.
4. Bazzardi R., Fattaccio M.C., Salza S., Canu A., Marongiu E., Pisanu M (2014): *Preliminary study on Norovirus, hepatitis A virus, Escherichia coli and their potential seasonality in shellfish from different growing and harvesting areas in Sardinia region*. Italian Journal of Food Safety 3: 1601.
5. Berg D. E., Kohn M. A., Farley T. A., McFarland, L. M (2000): *Multi-state out-breaks of acute gastroenteritis traced to fecal-contaminated oysters harvested in Louisiana*. J. Infect. Dis. 181: 381–386.
6. Beuret C., Kohler D., Baumgartner A., Luthi T. M (2002): *Norwalk-like virus sequences in mineral waters: one-year monitoring of three brands*. Appl. Environ. Microbiol. 68:1925–1931.
7. Bosch A., Sanchez G., Le Guyader F., Vanaclocha H., Haugarreau L., Pinto R. M (2001): *Human enteric viruses in Coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak*. Water Sci. Technol. 43:61–65.
8. Bull R. A., Hansman G. S., Clancy L. E., Tanaka M. M., Rawlinson W. D., White P. A (2005): *Norovirus recombination in ORF1/ ORF2 overlap*. Emerg. Infect. Dis. 11: 1079–1085.
9. Bresee J. S., Widdowson M. A., Monroe S. S., Glass R. I (2002): *Foodborne viral gastroenteritis: challenges and oportunities*. Clin. Infect. Dis 35: 748–753.
10. Caul O.W (1996): *Viral gastroenteritis; small round structured viruses, caliciviruses and astroviruses. Part I. The clinical and diagnostic perspective*. J. Clin. Pathol. 49:874–880.
11. Cliver D. O (1997): *Virus transmission via food*, World Health Stats. 50:90–101.
12. Croci L., De Medici D., Scalfaro C., Fiore A., Divizia M., Donia D., Costantino A. M., Moretti P., Costantini

- G (200): *Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages and Escherichia coli in Adriatic Sea mussels*. J. Appl. Microbiol. 88:293–298
13. Daniels N. A., Bergmire-Sweat D. A., Schwab K. J., Hendricks K. A., Reddy S., Rowe S. M., Fankhauser R. L., Monroe S. S., Atmar R. L., Glass R. I., Mead P (2000): *A foodborne outbreak of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses: first molecular traceback to deli sandwiches contaminated during preparation*. J. Infect. Dis. 181:1467–1470.
 14. ICTVdB. (2004): *Norovirus*. In ICTVdB- The universal Virus Database, ed. C. BuchenOsmond. New York; ICTVdB Management, Columbia University.
 15. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal, 2015, 13(12), 19
 16. Emerson S, Purcell R. (2003): *Hepatitis E virus*. Rev. Med.Virol 13:145–154.
 17. Fankhauser R. L., Monroe S. S., Noel J. S., Humphrey C. D., Bresee J. S., Parashar U. D., Ando T, Glass R (2002): *Epidemiologic and molecular trends of “Norwalk-like viruses” associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States*. J. Infect. Dis.186:1–7.
 18. Fiore A (2004): *Hepatitis A transmitted by food*.Clin. Infect. Dis. 38:705–715.
 19. Greening G., Cannon J (2016): *Human and Animal Viruses in Food (Including Taxonomy of Enteric Viruses)*, Part of the Food Microbiology and Food Safety book series (FMFS).
 20. Hata A., Katayama H., Kojima K., Sano S., Kasuga I., Kitajima M., Furumai H (2014): *Effects of rainfall events on the occurrence and detection efficiency of viruses in river water impacted by combined sewer overflows*. Sci Total Environ 468–469, 757–763.
 21. Halliday L. M, Kang L. Y, Zhou T. K, Hu M. D, Pan Q. C, Fu T. Y, Huang Y. S, Hu S. (1991): *An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China*. J. Infect. Dis. 164:852–859.
 22. Hidalgo P, Anzures L, Hernández-Mendoza A (2016): *Morphological, biochemical, and functional study of viral replication compartments isolated from adenovirus-infected cells*. J Virol 90(7):3411–3427.
 23. Hodgson K., Torok V., Turnbull A (2017): *Bacteriophages as enteric viral indicators in bivalve mollusc management*. Food Microbiology 65: 284–293
 24. Hutson A. M., Atmar R. L., Graham D. Y., Estes M. K. (2002): *Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type*. J. Infect. Dis. 185: 1335–1337.
 25. Isobe K, Tarao M., Chiem N., Minh L., Takada H. (2004). *Effect of en-*

- vironmental factors on the relationship between concentrations of coprostanol and faecal indicator bacteria in tropical (Mekong Delta) and temperate (Tokyo) freshwaters.* Appl. Environ. Microbiol., 70(2), 814–821.
26. Jiang X., Graham D. Y., Wang K. N., Estes M. K (1990): *Norwalk virus genome cloning and characterization.* Science 250: 1580–1583.
27. Kapikian A. Z., Hoshino, Y., Chanock R. M (2001): *Rotaviruses, in: Fields Virology, 4th ed., vol. 2 (D. M. Knipe and P. M. Howley, eds.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1787–1833.*
28. Kapikian A. Z., R. G. Wyatt R. Dolin, T. S. Tornhill A. R. Kalica R. M. Chanock (1972): *Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis.* J. Virol. 10: 1075–1081
29. Kingsley D. H., Hoover D. G., Papafraqkou E., Richards G. P (2002): *Inactivation of hepatitis A virus and a calicivirus by high hydrostatic pressure.* J. Food Prot. 65:1605–1609.
30. Kinzelman, J. (2011). *Comparative evaluation of molecular and culture methods for faecal*
31. *indicator bacteria.* Presented at Faecal Indicators: Problem or Solution (FIPS) Conference, Edinburgh, Scotland, 7 June 2011
32. Kitahashi T., Tanaka T., Utagawa E (1999): *Detection of HAV, SRSV and astro-virus genomes from native oysters in Chiba City, Japan.* Kanshogaku Zasshi 73:559–564.
33. Koopmans M., E. Duizer (2004): *Foodborne viruses: an emerging problem.* J. Food Microbiol. 90:23–41.
34. Koo H.L., Ajami N., Atmar R.L., and DuPont, H.L (2010): *Noroviruses: The Principal Cause of Foodborne Disease Worldwide.* Discov. Med. 10(50), 61–70.
35. Kuritsky J. N, Osterholm M. T, Greenberg H. B, Korlath J. A, Godes J. R, Hedberg C. W, Forfang J. C, Kapikian A. Z, McCullough J. C, White K,G.E. Greening E. (1984): *Norwalk gastroenteritis: a community outbreak associated with bakery product consumption.* Ann. Intern. Med. 100:519–521
36. La Bella G., Martella V. M., Basanisi G., Nobili V. Terio G., La Salandra (2017): *Food-Borne Viruses in Shellfish: Investigation on Norovirus and HAV Presence in Apulia (SE Italy),* Food and Environmental Virology 9, 2 :179–186.
37. Le Guyader F. S., Bon F., DeMedici D., Parnaudeau S., Bertome A. (2006): *Detection of noroviruses in an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption,* J Clin Microbiol. 44:3878–3882.
38. Le Guyader F. S., Pommepuy M., Atmar R. L. (2009): *Monitoring viral contamination in shellfish-growing areas. In: Burnell, G.; Allan, G., editors. New technologies in aquaculture.* New York: CRC Press. 542–579.

39. Lee L.E., Cebelinski E.A., Fuller C., Keene W.E., Smith K., Vinje J (2012): *Sapovirus outbreaks in long-term care facilities, Oregon and Minnesota, USA, 2002–2009*. Emerg Infect Dis. 18: 873–876.
40. Lees D. N (2000): *Viruses and bivalve shellfish*. Int. J. Food Microbiol. 59:81–116
41. Lopman B., P. Gastan G.Woo Park A. J. Hall U.D. Parashar J. Vinje (2012): *Environmental transmission of norovirus gastroenteritis*. Curr. Opin. Virol. 2:96–102.
42. Luksiene Z., & Brovko L (2013): *Antibacterial photosensitization-based treatment for food safety*. Food Engineering Reviews, 5:185–199.
43. Mariam T. W., Cliver D.O (2000): *Hepatitis A virus control in strawberry products*. Dairy Food Environ. Sanit. 20:612–616.
44. Maalouf H., J. Schaeffer S. Parnaudau J., Le Pendu R. L., Atmar S. E., Crawford F. S., Le Guyader (2011): *Strain-Dependent Norovirus Bioaccumulation in Oysters*. Appl. Environ. Microbiol. 77:3189–3196.
45. Metcalf T. G., B. Mullin D., Eckerson E. Moulton E. P. Larkin (1979): *Bioaccumulation and depuration of enteroviruses by the soft-shelled clam, Mya arenaria*. Appl. Environ. Microbiol. 38:275–282.
46. Milic N., Radalj A., Nisavic J. (2017): *Standard and molecular methods in the diagnostics of infections caused by equine herpesviruses 1 and 4*, Veterinarski Glasnik, OnLine-First Issue 00 : 2-2
47. Moe C., Teunis P., Lindesmith L., McNeal E.-J. C., LePendou J., Treanor J., Herrmann J., Blacklow N. R., Baric R. S. (2004): *Norovirus dose response*. Second International Calicivirus Conference, Dijon, France.
48. Noel J. S., Liu B. J., Humphrey C. D., Rodriguez E. M., Lambden P. R., Clarke I. N., Dwyer D. M., Ando T., Glass R. I., Monroe S. S. (1997): *Parkville virus: a novel genetic variant of human calicivirus in the Sapporo virus clade, associated with an outbreak of gastroenteritis in adults*. J. Med. Virol. 52:173–178.
49. Oh E.G., Ki Cheol Song, Sukyung Kim, Kunbawui Park, Hongsik Yu (2015): *Negative Correlation between the Prevalence of Norovirus and High Bacterial Loads of Escherichia coli in Oysters Crassostrea gigas*. Fish Aquat Sci 18(3), 235–240
50. Oishi I., Yamazaki K., Kimoto T., Minekawa Y., Utagawa E., Yamazaki S., Inouye S., Grohmann G. S., Monroe S. S., Stine S. E., Carcamo C., Ando T., Glass R. I. (1994): *A large outbreak of acute gastroenteritis associated with astrovirus among students and teachers in Osaka, Japan*. J. Infect. Dis. 170:439–443.
51. Pavlović N., Relić T. (2016): *Epidemiolški značaj virusnih bolesti koje se prenose hranom*, Zbornih radova 5. simpozijuma “Bezbednost i kvalitet namirnica animalnog porekla”, Beograd, 3–5.11.2016.
52. Ponka A., Maunula L., von Bonsdorff C., Lytikainen O. (1999): *An outbreak of calicivirus asso-*

- ciated with consumption of frozen raspberries.* Epidemiol. Infect. 123:469–474.
53. Ramani P.G., Abraham G., Mathew M., Lesley N. (2014): *Nutritional Assessment of Renal Transplant Recipients Using DEXA and Biochemical.* Nutritional Disorders & Therapy 4:1.
54. Ren X., Wu P., Wang L., Geng M. (2017): *Changing Epidemiology of Hepatitis A and Hepatitis E Viruses in China, 1990–2014,* Emerg Infect Dis. 23(2):276–279.
55. Ricci A., Allende A., Bolton D., Chemaly M. (2017): *Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen,* EFSA Journal, Vol 15, Issue 7. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4886
56. Rizzo C., Di Bartolo I., Santantonio M., Coscia M. F., Monno R., De Vito D., Ruggeri F. M., Rizzo G. (2007): *Epidemiological and virological investigation of a Norovirus outbreak in a resort in Puglia, Italy.* BMC Infect. Dis. 7:1471–2334.
57. Richards G. P., Watson M. A., Meade G. K., Hovan G. L., Kingsley D. H. (2012): *Resilience of Norovirus GII.4 to freezing and thawing; Implication for virus infectivity.* Food Environ. Virol. 4:192–197.
58. Rodriguez R.A., Gundy P.M., Rijal G.K., Gerba C.P. (2012): *The impact of combined sewage overflows on the viral contamination of receiving waters.* Food Environ Virol 4:34–40.
59. Sagar M. Goyal (2006): *Viruses in food,* Food microbiology and food safety.
60. Sánchez G., Pintó R. M., Vanaclocha H., Bosch A. (2002): *Molecular characterization of hepatitis A virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak,* J Clin Microbiol, 40: 4148–4155.
61. Sattar S. A., Springthorpe V. S., Tetro, J. A. (2001): Rotavirus, in: *Food-borne Disease Handbook, Viruses, Parasites, Pathogens, and HACCP,* 2nd ed., vol. 2 (Y. H. Hui, S. A. Sattar, K. D. Murrell, W.-K. Nip, and P. S. Stanfield, eds.), Marcel Dekker, New York, 2001, 99–126.
62. Schaper M., Duran A., Jofre J. (2004): *Comparative resistance of phage isolates of four genotypes of F-specific RNA bacteriophages to various inactivation processes.* Applied and Environmental Microbiology, 68: 3702–3707.
63. Schwab K. J., Neill F. H., Fankhauser R. L., Daniels N. A., Monroe S. S., Bergmire-Sweat D A., Estes M. K., Atmar R. L. (2000): *Development of methods to detect “Norwalk-Like Viruses” (NLVs) and Hepatitis A virus in delicatessen foods: application to a food-Borne NLV outbreak,* Appl Environ Microbiol 66:213–218.
64. Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health, (2002), *Scientific opinion on Norwalk-like viruses,* European Commission—Health and Consumer Protection Directorate—General.

65. Smits L.S., Koopmans P. G. (2017): Genomics and Foodborne Viral Infections, Part of the Food Microbiology and Food Safety book series (FMFS) – Springer.
66. Suffredini E., Magnabosco C., Civettini M., Rossetti E., Arcangeli G., Croci L. (2012): *Norovirus contamination in different shellfish species harvested in the same production areas*. Journal of Applied Microbiology 113(3):686–692.
67. Suffredini E., Proroga Y.T., Pasquale S., Di Maro O., Losardo M., Cozzi L., Capuano F., De Medici D (2017): *Occurrence and trend of hepatitis a virus in bivalve molluscs production areas following a contamination event*. Food and Environmental Virology
68. Svraka S., Vennema H., van der Veer B., Hedlund K.O., Thorhagen M., Siebenga J (2010): *Epidemiology and genotype analysis of emerging sapovirus-associated infections across Europe*. J Clin Microbiol. 48: 2191–2198.
69. Tate J.E., Burton A.H., Boschi-Pinto C. (2016): *Global, regional, and national estimates of rotavirus mortality in children*. Clinical Infectious Disease 62: S96–S105.
70. Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mishiro S. (2003): *Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings*. Lancet 362:371–373.
71. Thorne L. G, I. G. Goodfellow (2014): *Norovirus gene expression and replication*. J. Gen. Virol. 95:278–291.
72. Van Beek J., K. Ambert-Balay N. Botteldoorn J. S. Eden J. Fonager J. Hewitt N. Iritani A. Kroneman H. Vennema J. Vinjé P. A. White M. Koopmans (2013): *Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012*. Eurosurveillance 18: 1–2.
73. Van der Doef, H.P.J.; Bathoorn, E.; van der Linden, M.P.M.; Wolfs, T.F.W.; Minderhoud, A.L.C.; Bierings, M.B.; Wensing, A.M.J.; Lindemans, C.A. (2016): *Astrovirus outbreak at a pediatric hematology and hematopoietic stem cell transplant unit despite strict hygiene rules*. Bone Marrow. Transpl. 2016, 51, 747–750.
74. Vivancos R., Shroufi A., Sillis M., Aird H., Gallimore C.I., Myers L., Mahgoub H., Nair P. (2009): *Food-related norovirus outbreak among people attending two barbecues: epidemiological, virological, and environmental investigation*. Int J Infect Dis. 13(5):629–35.
75. WHO, 2012. WHO position paper on hepatitis A vaccines - June 2012. Wkly Epidemiol Rec 569 87, 261–276.
76. WHO, 2015. WHO Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases: Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007–2015
77. Wilkinson N, Kurdziel A. S, Langton S, Needs E, Cook N. (2001):

- Resistance of poliovirus to inactivation by hydrostatic pressure.* Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 2:95–98.
78. Yazaki Y, Mizuo H., Takahashi M., Nishizawa K., Sasaki N., Gotanda Y., (2003): Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, maybe foodborne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. J. Gen. Virol. 84:2351–2357
79. Ye M., Lingham T., Huang Y., Ozbay G., Ji L., Karwe M., Chen H. (2015): Effects of High-Hydrostatic Pressure on Inactivation of Human Norovirus and Physical and Sensory Characteristics of Oysters. Journal of Food Science 80, (6), 1330–1335

Rad primljen: 18.06.2017.

Rad одобрен: 04.09.2017.

