

**Strategia nadzoru nad bezpieczeństwem żywności
w obszarze owoców miękkich**

**Przeprowadzenie badań laboratoryjnych w celu określenia
genotypów wirusów wirusowego zapalenia wątroby typu A
wywołującego zachorowania ludzi w Polsce**



Nr umowy 90/13/GIS/PZH/BŻ

Autorzy:

Zakład Bezpieczeństwa Żywności:

dr Jacek Postupolski

dr Halina Ścieżyńska

dr Elżbieta Maćkiw

mgr Magdalena Modzelewska

mgr Łukasz Mąka

Zakład Epidemiologii:

dr Małgorzata Sadkowska-Todys

mgr Anna Baumann-Popczyk

Zakład Wirusologii:

dr Magdalena Wieczorek

Warszawa, 2014

Streszczenie

Występowanie zatruc pokarmowych u ludzi może być związane z obecnością wirusów w żywności i wodzie. Żywność zarówno pochodzenia zwierzęcego jak i roślinnego może zostać zanieczyszczona przez kontakt z osobami chorymi, jak również przez skażoną wodę, glebę, urządzenia lub opakowania.

Środki spożywcze najczęściej mogą być zanieczyszczone norowirusami i wirusem zapalenia wątroby typu A. Inne wirusy takie jak: rotawirusy, wirus zapalenia wątroby typu E, wirus Aichi, astrowirusy, sapowirusy, enterowirusy, koronawirusy, parwovirusy oraz adenowirusy mogą być również przenoszone przez żywność. Wirusy te nie mogą namnażać się w środkach spożywczych, ale mogą przez długi czas pozostawać w środowisku i wywoływać zatrucia pokarmowe u ludzi.

Najczęściej do zachorowań dochodzi po spożyciu żywności pochodzenia morskogo, takiej jak ostrygi, małże oraz świeże owoce jagodowe (truskawki, porzeczki, maliny) i warzywa.

W większości krajów Unii Europejskiej stwierdzono w ostatnich latach wzrost zachorowań wywołanych spożyciem żywności zanieczyszczonej wirusami.

W opracowaniu oceniono sytuację epidemiologiczną chorób szerzących się drogą pokarmową przenoszonych przez żywność o etiologii wirusowej, ze szczególnym uwzględnieniem wirusowego zapalenia wątroby typu A w Polsce oraz dokonano analizy zagrożeń zanieczyszczenia żywności patogennymi wirusami w systemie RASFF jak również zaproponowano działania w zakresie nadzoru nad produkcją i przetwórstwem owoców miękkich w celu ograniczenia ryzyka zanieczyszczenia wirusami, ze szczególnym uwzględnieniem norowirusów oraz wirusa zapalenia wątroby typu A. Opracowano plan pobierania próbek środków

spożywczych do monitoringu zanieczyszczenia żywności pochodzenia roślinnego wirusami i bakteriami wskaźnikowymi jak również zasady monitoringu zmienności genetycznej WZW A występującego w kraju.

Dokonano również próby charakterystyki genetycznej szczepów wirusa WZW A izolowanych od chorych w Polsce.

OPRACOWANIE STRATEGII NADZORU NAD BEZPIECZEŃSTWEM ŻYWNOŚCI W OBSZARZE OWOCÓW MIĘKKICH.

WYSTĘPOWANIE PATOGENNYCH DLA CZŁOWIEKA WIRUSÓW W ŻYWNOŚCI, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM WIRUSOWEGO ZAPALENIA WĄTROBY TYPU A

W ostatnich latach obserwuje się wzrost znaczenia wirusów jako patogenów odpowiedzialnych za zakażenia ludzi przenoszone drogą pokarmową. Większość z nich wywołują takie wirusy jak: NoV (norowirus) oraz HAV (wirus zapalenia wątroby typu A), poza tym RV (rotawirus), HEV (wirus zapalenia wątroby typu E), hEV (enterowirusy), które należą do takich rodzin jak: *Calciviridae*, *Picornaviridae*, *Hepaviridae*, oraz *Reoviridae*. W tabeli 1 przedstawiono ogólną charakterystykę wybranych wirusów.

Tabela 1. Ogólna charakterystyka wybranych wirusów przenoszonych przez żywność

Nazwa	Rodzina	Okres inkubacji	Objawy	Okres trwania zakażenia/ choroby	Możliwy nośnik zakażenia
Wirus zapalenia wątroby typu A (HAV)	<i>Picornaviridae</i>	średnio 28 dni (15-50 dni)	Gorączka, zażółcenie powłok skórnych, ciemny mocz, odbarwiony stolec, bóle brzucha, objawy dyspeptyczne, osłabienie, bóle w prawym podżebrzu.	od 2 tyg. do 3 miesięcy	Świeże lub/ i mrożone owoce i warzywa. Owoce morza (małże, ostrygi). Woda.
Wirus zapalenia wątroby typu E (HEV)	<i>Hepeviridae</i>	średnio 40 dni (15-60 dni)	Gorączka, zażółcenie powłok skórnych, ciemny mocz, odbarwiony stolec, bóle brzucha, objawy dyspeptyczne, osłabienie, bóle w prawym podżebrzu.	od 2 tyg. do 3 miesięcy	Mięso, podroby zakażonych zwierząt oraz produkty je zawierające. Owoce morza (małże, ostrygi).
Norovirus	<i>Caliciviridae</i>	12-48 godzin	Nudności, wymioty, bóle brzucha, biegunka, gorączka, bóle głowy. Biegunka częściej występuje u dorosłych, natomiast u dzieci wymioty	12 – 60 godzin	Świeże lub/ i mrożone owoce i warzywa. Owoce morza (małże, ostrygi).
Rotawirus	<i>Reoviridae</i>	1-3 dni	Wymioty, wodnista biegunka, gorączka. Może wystąpić czasowa nietolerancja laktozy zwłaszcza w przypadku niemowląt, dzieci, osób starszych i z obniżoną odpornością	4-8 dni	Mięso zakażonych zwierząt oraz produkty je zawierające.

Najważniejsze cechy wirusów wpływające na szerzenie się zakażeń pokarmowych:

- wirusy w celu replikacji muszą wniknąć do komórek gospodarza. Dlatego w przeciwieństwie do bakterii nie mogą namnażać się w żywności. W związku z tym skażenie żywności wirusami nie ma wpływu na właściwości organoleptyczne,
- do zakażenia i wywołania objawów chorobowych wystarczy tylko kilka cząstek wirusowych (od 1 do 100),
- wydalenie dużej ilości cząstek wirusa z kałem przez osoby chore i zakażone bezobjawowo. Cząstki wirusa mogą być również wydalone podczas wymiotów wraz z treścią żołądkową,
- wirusy przenoszone drogą fekalno-oralną charakteryzują się dużą odpornością na warunki środowiskowe. Większość wirusów pokarmowych nie posiada osłonki (HAV, NoV) dlatego są one stosunkowo stabilne poza komórkami gospodarza i wykazują dużą odporność na ekstremalne warunki pH, wysuszenie, promieniowanie itp.,
- W stosunku do wielu bakterii patogennych np. *Salmonella* i *Campylobacter* spp., zoonotyczny charakter infekcji jest rzadkością, wyjątkiem jest HEV i pAdV (porcie Adenovirus),
- Wirusy takie jak NoV i HAV charakteryzują się wysoką zakaźnością i najczęściej szerzą się drogą kontaktową człowiek-człowiek. Dlatego w ich przypadku bardzo często obserwuje się wtórne szerzenie się zakażeń np. w ognisku, do którego dochodzi po spożyciu skażonej żywności, nawet po jej eliminacji, w dalszym ciągu mogą występować kolejne zachorowania.

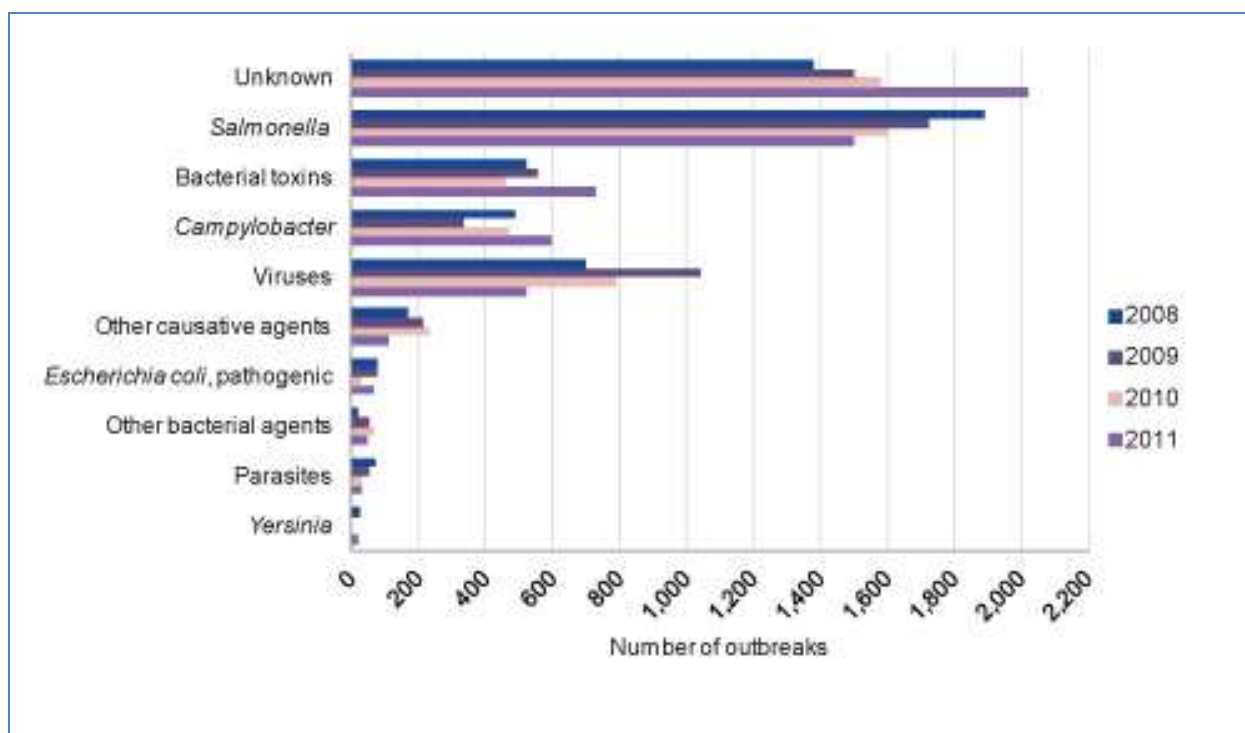
Do zakażenia produktów żywnościowych może dojść na każdym etapie pozyskania i przetwórstwa żywności: uprawy, zbioru, przetwarzania, dystrybucji oraz przygotowywania posiłków.

Dokładne ustalenie produktu żywnościowego będącego źródłem zakażenia dla osób chorych natrafia na trudności mogące być spowodowane:

- długim okresem inkubacji takich wirusów jak HAV lub HEV. Trudność w identyfikacji produktów, które były spożywane pomiędzy 2 a 6 tygodniem przed zachorowaniem,
- skażenie tylko niewielkiej części produktu, nawet w tym samym magazynie lub przetwórni,
- brakiem objawów chorobowych u osób zakażonych z powodu uodpornienia naturalnego (objawowe lub bezobjawowe zakażenie) lub szczepienia,
- trudnościami w ustaleniu w identyfikacji zachorowania, do którego doszło po spożyciu zakażonej żywności od tego, do którego doszło w inny sposób np. po kontakcie z osobą chorą,
- dystrybucja produktów zakażonych może wpłynąć na brak możliwości ustalenia wspólnego źródła dla zachorowań rozproszonych terytorialnie i występujących w różnych jednostkach administracyjnych lub państwach,
- niewystarczające zgłoszenie części zachorowań.

Według danych EFSA, w Europie w 2011r. zgłoszono ogółem 5648 ognisk zatruc/zakażeń pokarmowych. Najczęstszymi czynnikami etiologicznymi w tych ogniskach były kolejno *Salmonella*, toksyny bakteryjne, *Campylobacter* oraz wirusy. Ogółem kraje UE zgłosiły 521 ognisk zakażeń pokarmowych, w których czynnikiem etiologicznym były wirusy, co stanowi 9,2 % wszystkich

zgłoszonych ognisk. Pomimo, że obserwuje się spadek liczby ognisk wywołanych przez wirusy, to nadal pozostają one jednym z dominujących czynników etiologicznych (Ryc. 1). Tylko w przypadku 16,9% z zgłoszonych ognisk spowodowanych przez wirusy udało się potwierdzić związek pomiędzy spożywanym produktem żywnościowym a zachorowaniami. W 2011 roku w przypadku tych 88 ognisk tylko jedno zostało spowodowane przez HAV. W pozostałych czynnikiem etiologicznym był norowirus. Ognisko wywołane przez HAV zostało zgłoszone przez Wielką Brytanię. Ogółem zachorowało w nim 7 osób. Nośnikiem zakażenia w tym ognisku były suszone pomidory. Na rycinie 2 przedstawiono udział poszczególnych produktów żywnościowych będących nośnikiem zakażenia w ogniskach wywołanych przez norowirusy.



Rycina 1. Liczba ognisk zgłoszonych do EFSA przez kraje UE, według czynnika etiologicznego w latach 2008-2011.

NOROWIRUSY

Systematyka i charakterystyka wirusa

Norowirus należy do rodziny *Calciviridae*, w obrębie której wyróżniono 5 rodzajów. Dwa z nich NoV (norowirus) i saporivirus są patogenne dla ludzi, wywołują ostry nieżyt żołądkowo-jelitowy. Norowirus był izolowany od zwierząt: świń, bydła, myszy, kotów, psów oraz owiec, natomiast saporivirus tylko u świń. Jednak pomimo istnienia rezerwuaru zwierzęcego NoV, do tej pory nie potwierdzono transmisji zoonotycznej na człowieka. Materiałem genetycznym jest dodatnio spolaryzowana, pojedyncza nić RNA. W obrębie norowirusów można wyróżnić 5 genogrup (GI-GV), do których zakwalifikowano wiele genotypów wywołujących zakażenia u ludzi.

Norowirusy pozbawione są osłonki lipoproteinowej, a tym samym są odporne na rozpuszczalniki lipidów i łagodne detergenty. Ulegają one inaktywacji w środowisku kwaśnym o pH 3 - 5 oraz w temperaturze 60°C w ciągu 30 minut. Temperatura pokojowa, warunki chłodnicze, a nawet zamrożenie nie inaktywuje, ani nawet nie zmienia aktywności wirusów. Oporność na temperaturę uzależniona jest od wilgotności względnej otoczenia - obniża się ona ze wzrostem wilgotności. Dobre rezultaty można osiągnąć również stosując związki chloru oraz wodę utlenioną.

Zakażenia ludzi i zwierząt

Wirus szerzy się drogą pokarmową, wskutek bezpośrednich kontaktów z człowiekiem zakażonym bezobjawowo lub człowiekiem chorym lub po kontakcie z skażonymi przedmiotami i środkami spożywczymi. Do rozwoju choroby dochodzi w ciągu jednego do dwóch dni od zakażenia. Objawy w postaci wymiotów i/lub biegunki pojawiają się nagle i mogą im towarzyszyć gorączka, bóle głowy lub stawów. U zdrowych osób dorosłych objawy ustępują zazwyczaj po 24-60 godzinach. U ok. 30% zakażonych z tej grupy występują zakażenia bezobjawowe

lub o lekkim przebiegu. U małych dzieci i osób starszych biegunka trwa dłużej, do około tygodnia. W obu tych grupach oraz u osób osłabionych choroba może być groźna dla życia, a okres wydalania wirusa może być przedłużony do jednego miesiąca od wystąpienia zachorowania.

Norowirus jest bardzo zakaźny – stwierdzono, że już spożycie 10 cząstek wirusa może spowodować infekcję.

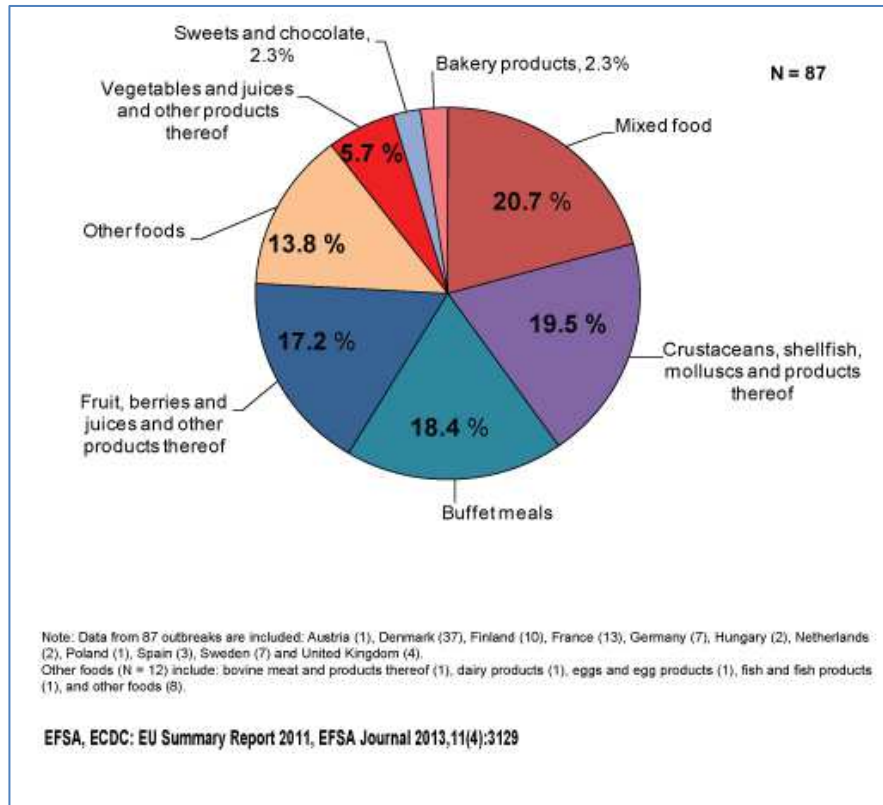
W krajach rozwiniętych norowirusy coraz częściej stanowią główną lub jedną z głównych przyczyn ognisk chorób przenoszonych drogą pokarmową. W USA norowirusy uważane są za główną przyczynę ognisk zakażeń pokarmowych (ok. 66%), a w krajach europejskich, takich jak Hiszpania czy Belgia w 2007 r. stanowiły drugi, po pałeczkach *Salmonella*, czynnik etiologiczny odpowiedzialny za powstawanie ognisk zakażeń pokarmowych. Z kolei w Austrii w 2007 r. norowirusy były trzecią w kolejności, po pałeczkach *Salmonella* i *Campylobacter*, przyczyną ognisk zakażeń pokarmowych.

Występowanie w żywności

Najczęstszymi miejscami zbiorowych zatruc pokarmowych spowodowanych norowirusami są zakłady żywienia zbiorowego, np. stołówki, restauracje, bary, a także przyjęcia rodzinne, gdzie dochodzi do bezpośredniego lub pośredniego zanieczyszczenia żywności. Źródłem zakażenia, poza zanieczyszczoną żywnością, może być również nieprzestrzeganie zasad higieny w czasie kontaktów z chorą osobą lub zanieczyszczonymi przedmiotami, powierzchniami, toaletą.

Głównym źródłem norowirusów w żywności może być żywność pochodzenia zwierzęcego np. małże, ostrygi, ale również żywność pochodzenia roślinnego np. maliny, sałata (głównie Lollo bionda). Może to być związane z brakiem zachowywania zasad higieny przez osoby mające kontakt z żywnością, np. przez

osoby sezonowo zbierające owoce, stosowanie wody o nieodpowiedniej jakości, która jest używana do mycia lub podlewania roślin, a także jako rezultat zanieczyszczenia fekaliami ludzkimi (Ryc. 2).



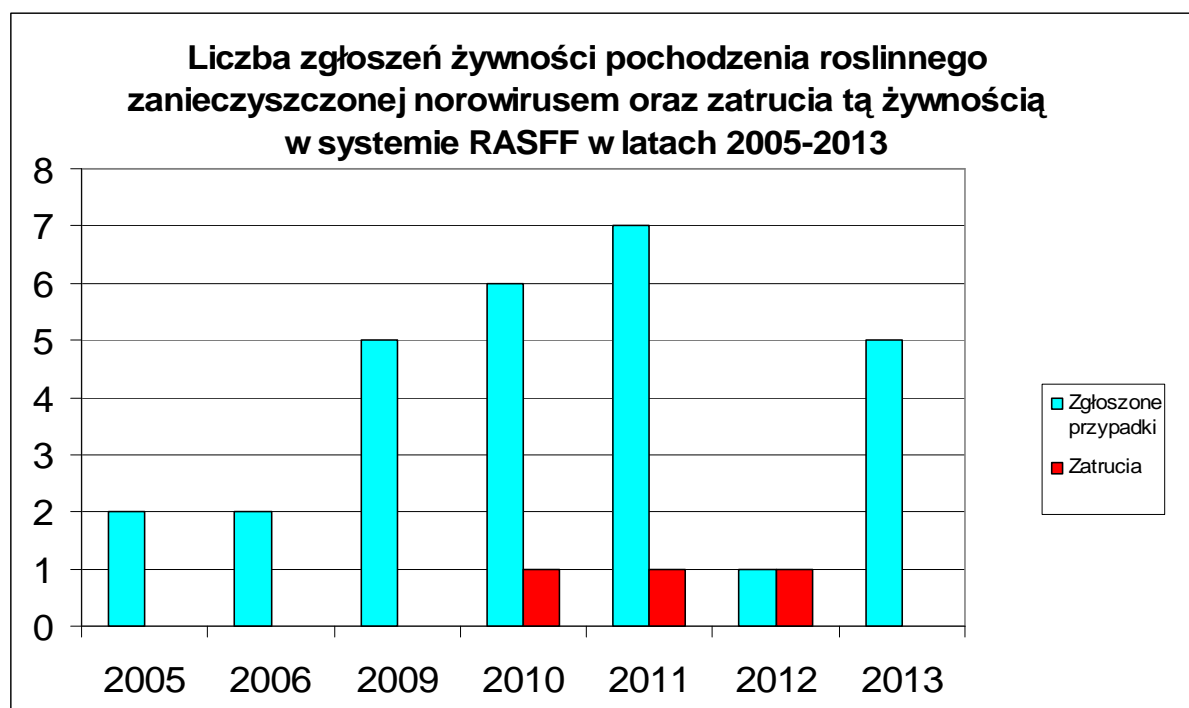
Rycina 2. Udział poszczególnych produktów spożywczych będących nośnikami zakażenia w ogniskach wywołanych przez norowirusy w UE, w 2011 roku.

W krajach skandynawskich na przestrzeni ostatnich dziesięciu lat zanotowano kilkakrotnie zatrucia norowirusami po spożyciu malin z Polski. Również inne owoce były przyczyną zachorowań. Na przełomie września i października 2012 roku we wschodnich rejonach Niemiec zatruciu uległo ponad 11 000 osób, głównie dzieci, po spożyciu żywności w stołówkach szkolnych. Było to największe masowe zatrucie pokarmowe w tym kraju w ostatnich latach. W zdecydowanej większości przypadków choroba miała łagodny przebieg, jednakże 32 osoby wymagały hospitalizacji. Czynnikiem odpowiedzialnym za to były norowirusy. Potrawy z truskawek były rozprowadzane przez firmę cateringową, dostarczającą posiłki do szkolnych stołówek. Przyczyną zachorowań były zamrożone truskawki, pochodzące z Chin,

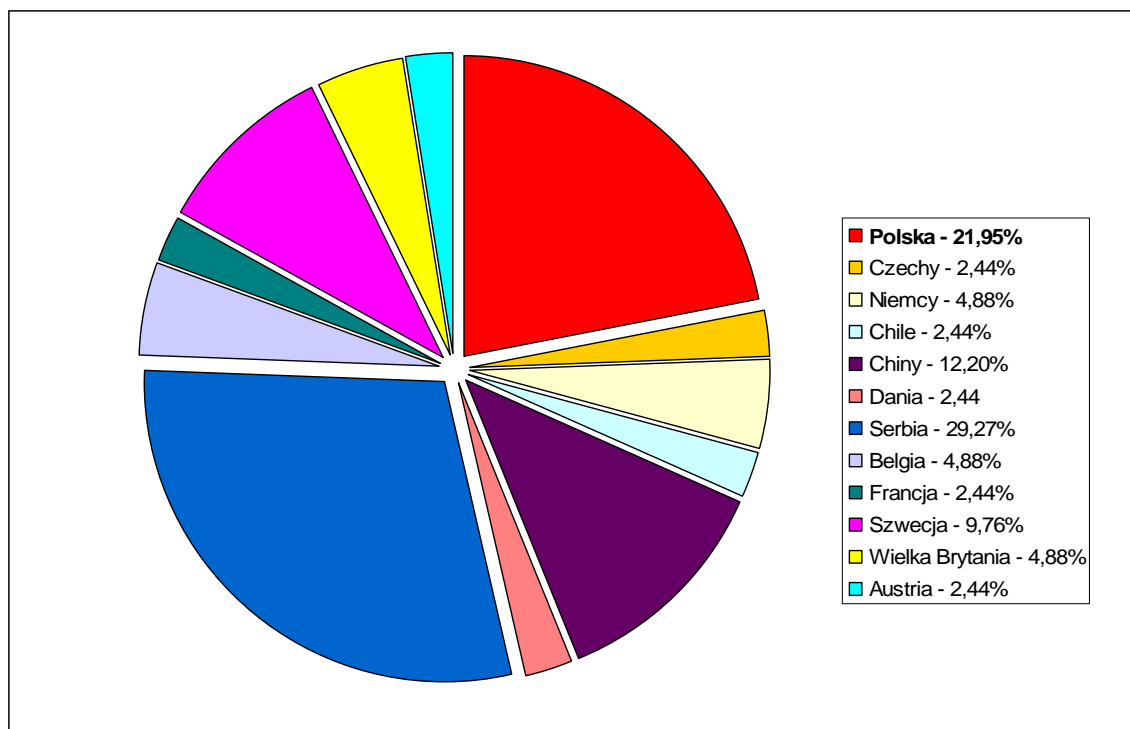
których nie zagotowano, a tylko lekko podgrzano. Zabiegi te nie pozwoliły na inaktywację norowirusów, które są wyjątkowo odporne na niskie temperatury (w tym zamrożenie).

W związku z wystąpieniem zatrucia pokarmowego w Niemczech, Komisja Europejska podjęła decyzję, aby każdy kraj członkowski przebadał określoną liczbę partii truskawek chińskich w kierunku norowirusów i wirusa zapalenia wątroby typu A. Uzyskane dane mają pozwolić uzyskać realny poziom zagrożenia norowirusami w tych owocach.

Należy podkreślić, że według EFSA, w krajach Unii Europejskiej nieznana jest rzeczywista liczba zatruc pokarmowych wywołanych norowirusami, ale wstępne wyniki wskazują, że liczba ich jest znacząca (Ryc. 3, Ryc. 4).



Rycina 3. Liczba zgłoszeń żywności pochodzenia roślinnego zanieczyszczonej norowirusem oraz zatrucia tą żywnością w systemie RASFF w latach 2005-2013.



Rycina 4. Procentowy udział kraju pochodzenia w zgłoszeniach do systemu RASFF warzyw i owoców zanieczyszczonych norowirusem w latach 2001-2014.

WIRUS ZAPALENA WĄTROBY TYPU A

Systematyka i charakterystyka wirusa

Wirus zapalenia wątroby typu A (HAV) należy do rodziny Picornaviridae, rodzaj Hepatovirus. Materiałem genetycznym wirusa jest jednoniciowe, dodatnie spolaryzowane RNA. Cząsteczka wirusowa jest kulista, bezotoczkowa, o średnicy 27 nm. Klasyfikacja genotypów HAV opiera się na analizie molekularnej regionu VP1 -2A o długości 168 nukleotydów. Do tej pory zidentyfikowano sześć genotypów (I, II, III, IV, V, VI). Najczęściej izolowanymi genotypami u ludzi są I oraz III. Natomiast trzy kolejne genotypy (IV, V, VI) występują u małp z rodziny makakowatych (*Cercopithecidae*). Po mimo zróżnicowania genetycznego występuje 1 serotyp tego wirusa.

W obrębie genotypów I, II i III, wyróżnia się sub-genotypy A i B. Na świecie najbardziej rozpowszechniony jest genotyp I. Na obszarach charakteryzujących się niską endemicznością, takich jak Ameryka Północna oraz Europa najczęściej stwierdzany jest sub-genotyp IA. Poza tym w Europie izolowane są również inne genotypy i sub-genotypy takie jak IB, IIIA.

Wirus HAV jest odporny na czynniki zewnętrzne (temperatura, substancje chemiczne np. kwasy). Jest stabilny w środowisku o wysokim stopniu zakwaszenia (pH 3) przez ok. 4 godziny co warunkują jego odporność na działanie soków żołądkowych. Inaktywowany jest przez autoklawowanie, gotowanie, promieniowanie UV, środki dezynfekcyjne zawierające chlor, formalinę.

Zakażenia ludzi

Rezerwuarem tego wirusa jest przede wszystkim człowiek. Zakażenie szerzy się głównie drogą fekalno – oralną, a także przez zakażone produkty żywnościowe (zwłaszcza owoce morza, warzywa, owoce, nie poddane skutecznej obróbce termicznej). Źródłem zakażenia może być woda zanieczyszczona przez osoby wydalające wirus HAV z kałem, która nie została poddana skutecznym zabiegom dezynfekcyjnym. Do zakażenia dojść może również drogą kontaktów seksualnych. Istnieje potencjalne, choć niewielkie ryzyko zakażenia drogą naruszenia ciągłości tkanek (drogą krwi) w krótkim na ogół okresie wiremii HAV. W okresie wiremii wykryto HAV również w wymazach z jamy nosowo-gardłowej. W wyjątkowych sytuacjach może to być przyczyną szerzenia zakażenia drogą kontaktową. Okres wylegania wynosi od 15 do 50 dni, przeciętnie około 30 dni. Wirus jest wydalany w dużej ilości od 14-21 dni przed wystąpieniem żółtaczki i/lub zwiększenia aktywności enzymów wątrobowych oraz przeciwciała anty-HAV, które w klasie IgM utrzymują się przez kilka tygodni. Wirus może być obecny w kale od 1-8 dni

po wystąpieniu tych objawów. HAV jest wydalany z kałem 1-2 tygodni przed wystąpieniem objawów chorobowych do około 1 tygodnia po ich wystąpieniu. Wydalanie HAV z kałem ustaje z chwilą wystąpienia żółtaczki. W pojedynczych przypadkach zwłaszcza u małych dzieci wydalanie wirusa może się przedłużać. W okresie zdrowienia pojawiają się przeciwciała w klasie IgG, które prawdopodobnie, zwłaszcza w sytuacji stymulacji antygenowej, utrzymują się do końca życia, stanowiąc wskaźnik przebytego zakażenia i odporności.

Występowanie w żywności

Produkty żywnościowe będące głównym źródłem zakażenia HAV dla ludzi to małże, ostrygi, ale również żywność pochodzenia roślinnego np. owoce jagodowe, sałata, świeżo wyciskane soki owocowe. Produkty spożywcze mogą być skażone HAV na każdym etapie produkcji. W przypadku owoców do skażenia najczęściej dochodzi przed zbiorami np. podczas nawadniania owoców wodą zanieczyszczoną nawozem lub w czasie zbiorów np. w czasie zbioru ręcznego, przetwarzania, pakowania przez osoby chore. Według danych EFSA oraz ECDC, w latach 2007-2011 zgłoszono ogółem 11 ognisk wywołanych HAV, w których ustalono produkt żywnościowy będący nośnikiem zakażenia. Były to głównie: ryby i owoce morza (skorupiaki, mięczaki i skorupiaki oraz produkty zawierające je w swoim składzie), kanapki, warzywa, soki, suszone pomidory. Do wystąpienia ogniska często dochodzi po spożyciu niskoprzetworzonych produktów. W tabeli 2 przedstawiono wybrane ogniska, w których nośnikiem zakażenia były owoce jagodowe.

Tabela 2. Przegląd wybranych ognisk, w których zachorowania zostały spowodowane przez HAV.

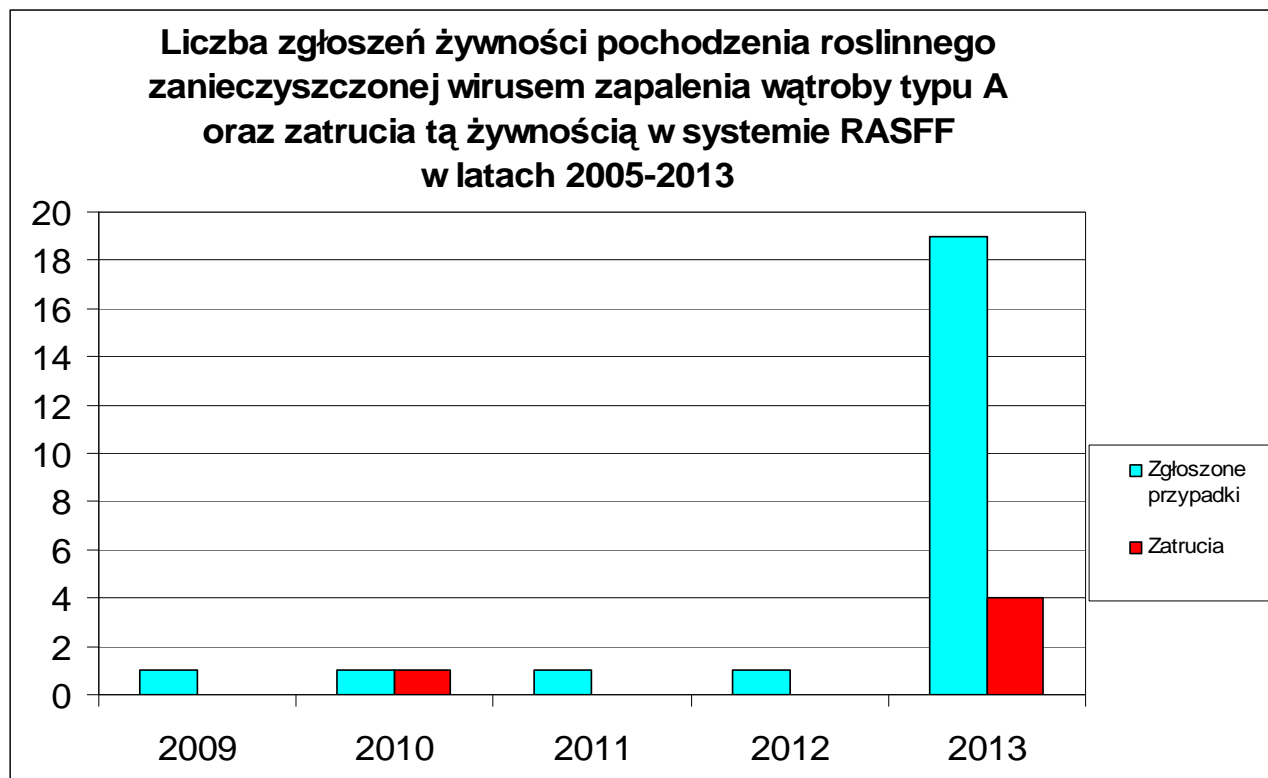
Lp.	Nośnik zakażenia	Rok	Kraj	Liczba chorych	Potwierdzenie laboratoryjne		Piśmiennictwo
					Chorzy	Żywność	
1.	Truskawki	1979	Czechosłowacja	28880	Bd	Bd	Vasickova P., Dvorska L, Lorencova A., Pavlik I. Viruses as a cause of foodborne diseases: a review of the literature. Vet. Med. – Czech, 50, 2005 (3): 89–104.
2.	Maliny	1983	Szkocja	24	Tak	Nie	Reid TM, Robinson HG. Frozen raspberries and hepatitis A. Epidemiol Infect. 1987;98(1):109-12.
3.	Mrożone truskawki		USA	28	Tak	Nie badano	Niu MT et al. Multistate outbreak of hepatitis A associated with frozen strawberries. J Infect Dis. 1992, 166(3): 518-24.
4.	Mrożone truskawki	1997	USA	213	Tak	Nie badano	Yvan J.F et al. for the National Hepatitis A Investigation Team. A Multistate, Foodborne Outbreak of Hepatitis A. N Engl J Med 1999; 340:595-602.
5.	Jagody	2002	Nowa Zelandia	43	Tak	Tak	L. Calder, G. Simmons, C. Thornley, P. Taylor, K. Pritchard, G. Greening, J. Bishop. An outbreak of hepatitis A associated with consumption of raw blueberries. Epidemiol Infect. 2003, 131(1): 745–751.
6.	Mrożone truskawki	2012/2013	Dania, Finlandia, Norwegia, Szwecja	103	Tak	Nie	Nordic Outbreak Investigation Team C. Joint analysis by the Nordic countries of a hepatitis A outbreak, October 2012 to June 2013: frozen strawberries suspected. Euro Surveill. 2013 Jul 4;18(27).

We Francji odnotowano ognisko wywołane przez HAV, w którym zachorowało 59 osób, po spożyciu mrożonych suszonych pomidorów. Z tym samym nośnikiem było związane ognisko, do którego doszło w 2011 roku, na terenie 2 krajów: Wielkiej Brytanii oraz Holandii. W przypadku kilku ognisk związanych jako źródło skażenia produktów spożywczych wskazano osoby pracujące przy zbiorach oraz związanych z produkcją żywności. W Belgii w 2004 roku zarejestrowano 269 przypadków zachorowań związanych ze spożyciem surowej wołowiny, która została skażona przez pracownika pracującego przy dystrybucji mięsa.

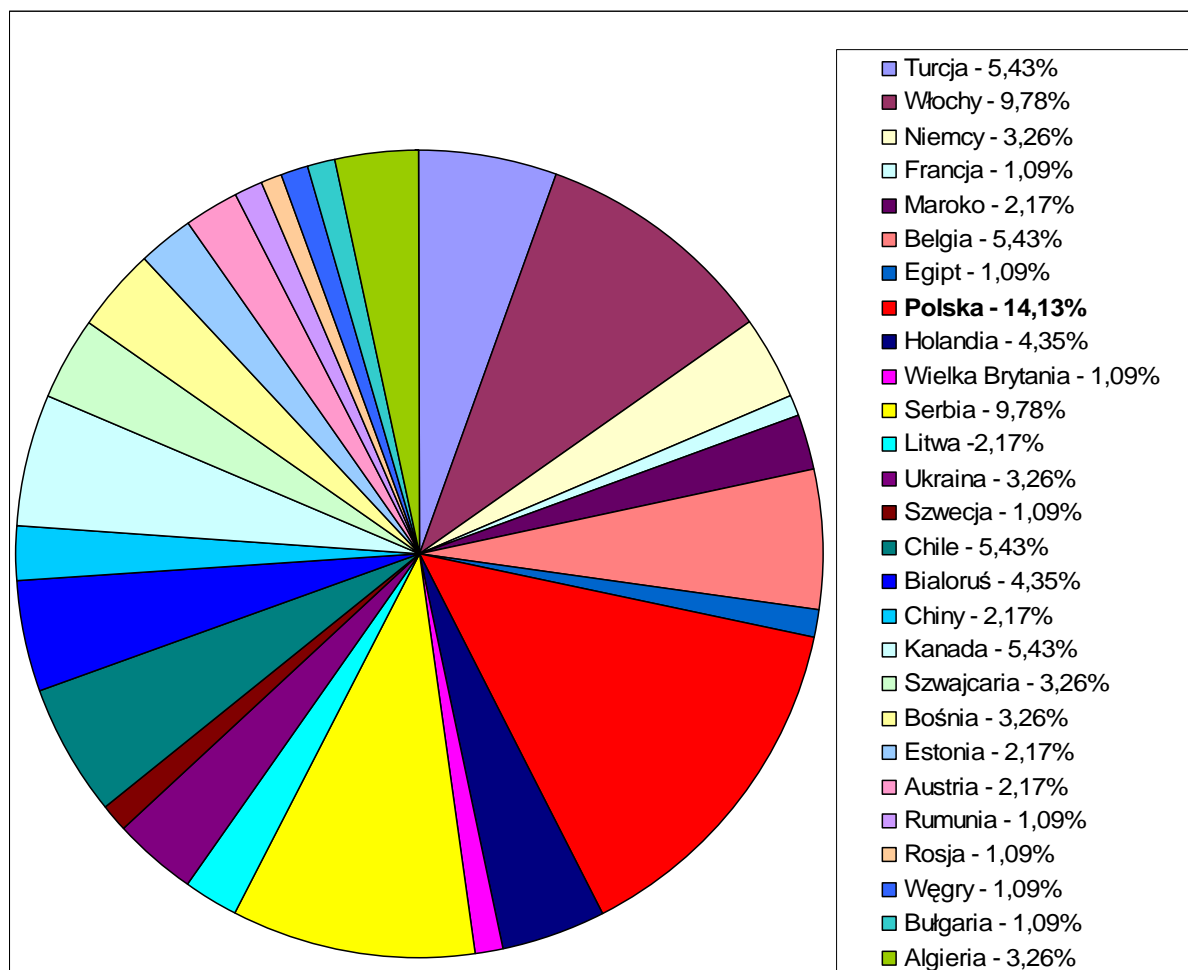
W roku 1997 w Szkocji odnotowano ognisko, do którego doszło po spożyciu mrożonych malin. Zachorowało w nim 24 osoby. W tym samym roku w USA wystąpiło ognisko, w którym zachorowało 153 osoby, po spożyciu mrożonych truskawek. W 2004 r. odnotowano 300 zachorowań wśród turystów powracających z Egiptu. Ognisko miało zasięg międzynarodowy, osoby chore pochodziły z 9 krajów europejskich. Nośnikiem zakażenia w tym ognisku był sok pomarańczowy. W roku 2012 w Holandii wystąpiły dwa ogniska wywołane przez HAV (sub-genotyp IA), w których do zakażenia doszło po spożyciu truskawek. Kolejne ognisko mogące mieć związek ze spożywaniem owoców jagodowych odnotowano w 2013 roku, na terenie Danii, Norwegii, Szwecji oraz Finlandii. W wyniku przeprowadzonych badaniach epidemiologicznych w tych krajach ustalono, że do zachorowań doszło po spożyciu mrożonych truskawek.

Według systemu wczesnego ostrzegania o niebezpiecznej żywności i paszach (RASFF), w latach 1999-2013 zgłoszono 21 próbek żywności skażonych wirusem HAV. Zgłoszenia pochodziły z 6 krajów UE tj. Belgii, Czech, Niemiec, Włoch, Holandii oraz Hiszpanii. Obecność materiału genetycznego wirusa potwierdzono

w następujących produktach spożywczych: skorupiaki (ostrygi, małże, przegrzebki), suszone pomidory, daktyle, mrożone truskawki, ciasto jogurtowe z truskawkami, mieszanka owoców jagodowych (Ryc. 5, Ryc.6).



Rycina 5. Liczba zgłoszeń żywności pochodzenia roślinnego zanieczyszczonej wirusem zapalenia wątroby typu A oraz zatrucia tą żywnością w systemie RASFF w latach 2005-2013.



Rycina 6. Procentowy udział kraju pochodzenia w zgłoszeniach do systemu RASFF warzyw i owoców zanieczyszczonych wirusem zapalenia wątroby typu A w latach 2000-2013.

ROTAWIRUSY

Systematyka i charakterystyka wirusa

Rotavirus należy do rodziny *Reoviridae*, materiałem genetycznym jest podwójna nić RNA, z czym związana jest duża zmienność genetyczna tego wirusa. Pojedyncza cząstka rotawirusa (wirion) składa się z 4 głównych białek strukturalnych: VP4, VP7, VP6 i VP2. Dwa pierwsze są białkami powierzchniowymi kapsydu zewnętrznego, dodatkowo VP4 jest wirusową hemaglutyniną, determinuje wirulencję i posiada na swojej powierzchni epitopy dla przeciwciał neutralizujących wirus. Białko VP7 zajmuje 90% powierzchni cząstki i jest głównym antygenem

stanowiącym o serotypie. Białko VP6 buduje kapsyd wewnętrzny, stanowiąc ok. 50% masy wirionu i jest antygenem odpowiadającym za przynależność do grupy i podgrupy antygenowej. Rotawirusy podzielone są na 7 głównych grup antygenowych, od A do G. Grupy A, B, C spotykane są zarówno u ludzi, jak i zwierząt, pozostałe zaś D-G wykrywane są tylko u zwierząt. Z pośród 7 grup największe znaczenie z punktu widzenia zdrowia publicznego oraz epizootycznego ma grupa A. Rotawirusy z grupy A poddają się dalszej klasyfikacji na serotypy i genotypy w oparciu o białka VP7 (G) oraz VP4 (G). Na podstawie testu neutralizacji wyodrębniono 14 serotypów (serotypy G) oraz 10 (serotypy P).

Rotawirusy nie posiadają osłonki lipidowej dlatego nie ulegają zniszczeniu pod wpływem rozpuszczalników lipidów. Poza tym są stosunkowo odporne na kilkakrotne zamrażanie i odmrażanie oraz inkubację w temperaturze 56° C przez 1 godzinę. Chloroform nieznacznie redukuje zakaźność i znosi zdolność wirusa do hemaglutynacji. Rotawirus pozostaje zakaźny w przedziale pH 3-9. Poza tym jest względnie odporny na stosowane powszechnie środki dezynfekcyjne do mycia powierzchni oraz do mycia rąk. Zakaźność rotawirusów można zredukować przez działanie takich środków dezynfekcyjnych jak: alkohol etylowy, fenol, formalina, podchloryn czy lizol. W wyniku działania enzymów proteolitycznych (trypsyna, pankreatyna, elastaza) wzrasta zakaźność rotawirusów. Mogą one przetrwać kilka tygodni w wodzie do picia i wodach powierzchniowych, a także przez co najmniej 4 godziny na powierzchni rąk. Masowe wydalanie ($10^8 - 10^{11}$ cząsteczek wirusowych w gramie kału) rozpoczyna się już w pierwszym dniu biegunki w związku z tym ich wysoka koncentracja może znajdować się w ściekach.

Zakażenia ludzi i zwierząt

Rotawirusy są trzecim czynnikiem patogennym po norowirusach i pałeczkach *Campylobacter* odpowiedzialnym za zakażenia jelitowe w Europie. Zakażenia rotawirusami są główną przyczyną zakaźnego nieżytu żołądka i jelit u niemowląt i dzieci na całym świecie. Szacuje się że zakażenie rotawirusem przechodzi niemal każde dziecko do 5 roku życia. Zakażenie rotawirusowe może mieć charakter od bezobjawowego, poprzez lekki i umiarkowany, po ciężki; od kilku wolnych stolców do ostrej biegunki i strzelających wodnistych stolców oddawanych do 20 razy na dzień. Do zakażenia dochodzi drogą pokarmową, poprzez kontakt z wydaliniami osób chorych lub wtórnie skażoną żywnością. Możliwe jest także rozprzestrzenianie się drogą kropelkową. Do zakażenia może dojść zarówno poprzez bezpośredni kontakt z osobą chorą, jak również przez styczność z zanieczyszczoną powierzchnią czy przedmiotami.

W Europie najczęściej izolowanymi szczepami rotawirusów u ludzi są G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9[8]. U zwierząt w obrębie grupy A dominują odmienne genotypy, u świń G3-G5, G11 G9 oraz P [6], P [7], P [13], P [19], natomiast u bydła G6, G8 i G10 i P [1], P [5], P [11] i P [21]. Zarówno w przypadku świń oraz bydła izolowane szczepy wirusa występują w różnych kombinacjach G i P. Do tej pory nie odnotowano potwierdzonego przypadku bezpośredniej transmisji zakażenia z zwierzęcia na człowieka np. po spożyciu mięsa zakażonego zwierzęcia. Jednak dzięki dużemu zróżnicowaniu szczepów izolowanych od różnych gospodarzy, istnieje możliwość transmisji międzygatunkowej pomiędzy zwierzęciem a człowiekiem, a także pomiędzy różnymi gatunkami zwierząt. Dowodem na to są resortanty izolowane od osób chorych wirusa a charakterystyczne dla zwierząt.

Występowanie w żywności

Ze względu na brak czułych i wiarygodnych metod wykrywania rotawirusów w próbkach żywnościowych, w większość przypadków ustalenie nośnika zakażenia, którego spożycie było przyczyną wystąpienia zachorowania oparte jest na wynikach analizy epidemiologicznej. Z uwagi na obecność rotawirusów w ściekach stanowią one zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności w przypadku zanieczyszczenia nimi np. wody pitnej lub przemysłowej stosowanej do podlewania owoców i warzyw a także pojenia zwierząt. Do zakażenia rotawirusami bezpośrednio może dojść poprzez spożycie mięsa zakażonych zwierząt, natomiast pośrednio poprzez spożycie skażonych warzyw i owoców, które nie zostały poddane obróbce cieplnej. Poza tym źródłem zakażenia mogą być gotowe do spożycia potrawy zanieczyszczone przez osoby zatrudnione przy jej przygotowaniu.

METODY MONITORINGU ZANIECZYSZCZENIA ŻYWNOŚCI PATOGENNYMI WIRUSAMI

Poprawa stanu zdrowia publicznego, w tym sytuacji zdrowotnej ludzi przez usprawnienie funkcjonowania systemu bezpieczeństwa żywności to jedno z kluczowych zadań współczesnego systemu ochrony zdrowia. Opracowywanie monitoringu to jedno z bardziej znaczących rozwiązań służących poprawie stanu zdrowia publicznego w Polsce.

Opracowywanie monitoringu pozwala na tworzenie zintegrowanego naukowego wsparcia dla systemu bezpieczeństwa żywności na przestrzeni całego łańcucha żywnościowego.

Monitoring żywności stanowi system powtarzanych pomiarów, obserwacji i opracowań dla określonych celów przeprowadzanych na reprezentatywnych próbkach poszczególnych środków spożywczych. Systematyczny monitoring mikrobiologicznych zanieczyszczeń żywności jest niezbędny dla zagwarantowania bezpieczeństwa środków spożywczych.

Przepisy Unii Europejskiej nakładają na Państwa Członkowskie obowiązek wykonywania badań monitoringowych dotyczących bezpieczeństwa żywności, szczególnie w zakresie mikrobiologicznym.

Wyniki badań monitoringowych powinny być przekazywane między innymi do Urzędu Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), Komisji Europejskiej. Na tej podstawie opracowane dane mogą stanowić bazę przy wprowadzaniu do aktów prawnych krajowych i międzynarodowych odpowiednich wymagań mikrobiologicznych dla żywności. Na podstawie wyników badań monitoringowych dokonywana jest ocena ryzyka.

Umożliwiają one również dokonywanie oceny narażenia danej populacji na patogenne drobnoustroje występujące w żywności, co ma szczególnie istotne znaczenie przy podejmowaniu działań zapobiegawczych w przypadku wystąpienia zagrożenia dla zdrowia.

Efektywne działania w zakresie ograniczania rozprzestrzeniania się wirusów powinno polegać zatem na opracowaniu monitoringu w zakresie zanieczyszczenia żywności patogennymi wirusami. Monitoring, który jest ważnym elementem polityki ochrony zdrowia ludności, opierającym się na zbieraniu danych o środkach spożywczych, powinien odnosić się również do owoców miękkich, które mogą stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia konsumentów. Wirusy mogą dostać się do żywności w ciągu całego cyklu produkcyjnego i przechowywania, najczęściej jednak zanieczyszczeniu ulegają surowce. Analizując skutki zagrożeń zdrowotnych wynikających z zanieczyszczeń mikrobiologicznych, higiena pozyskiwania surowców i ich przetwarzania staje się jednym z najważniejszych elementów produkcji środków spożywczych.

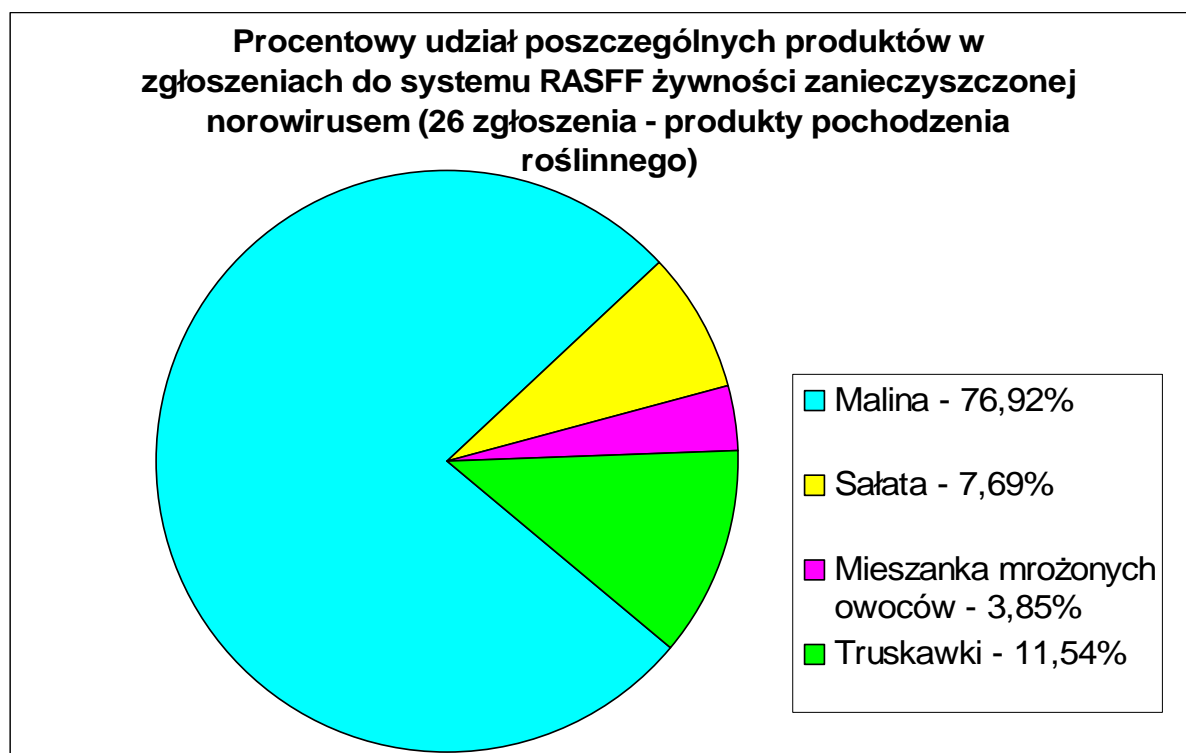
Badania monitoringowe powinny być tak zaplanowane i przeprowadzone, by mogły być reprezentowane dla danego asortymentu środków spożywczych i danego obszaru.

Przy ustalaniu monitoringu dotyczącego jagód miękkich zanieczyszczonych norowirusami i wirusów zapalenia wątroby typu A należy pamiętać, że wirusy mogą występować w niewielkiej liczbie a ich rozmieszczenie może w matrycy być heterogenne, co znacznie utrudnia uzyskanie wiarygodnych wyników. Brak jest uznanych norm i zasad dotyczących pobierania próbek.

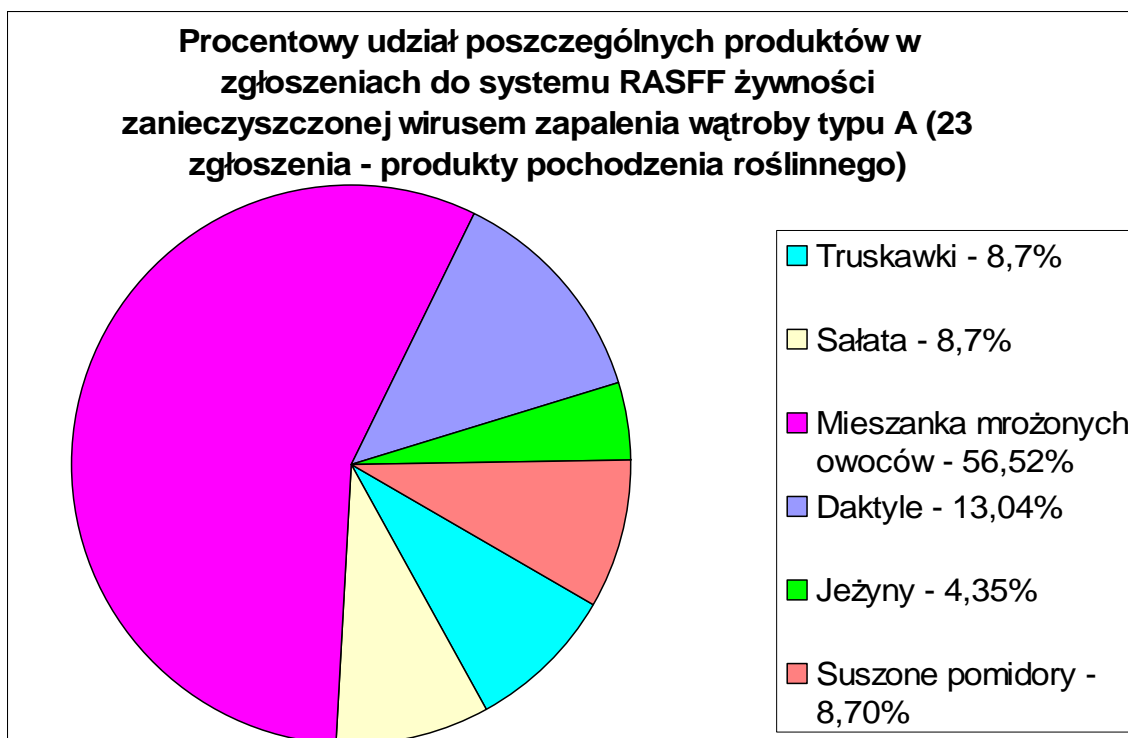
Z danych piśmiennictwa, z uwzględnieniem szczególnie doniesień do systemu RASFF wynika, że żywność była najczęściej zanieczyszczona wirusami: głównie norowirusami i wirusem zapalenia wątroby typu A.

Wirusy mogą dostać się do żywności w ciągu całego cyklu produkcyjnego i przechowywania, najczęściej jednak zanieczyszczeniu ulegają surowce. Dlatego też w monitoringu zostały ujęte dwa główne etapy badania owoców: bezpośrednio po zbiorze oraz w obrocie.

Na podstawie doniesień do systemu RASFF, publikacji EFSA, w proponowanym monitoringu zostały uwzględnione 2 rodzaje owoców miękkich do badań, które stanowiły najczęstsze, a tym samym największe, potencjalne zagrożenie tymi wirusami (Ryc. 7, Ryc. 8). Są to: maliny, truskawki, porzeczki czerwone lub czarne (jagody).



Rycina 7. Procentowy udział poszczególnych produktów w zgłoszeniach do systemu RASFF żywności zanieczyszczonej norowirusem (26 zgłoszenia - produkty pochodzenia roślinnego).



Rycina 8. Procentowy udział poszczególnych produktów w zgłoszeniach do systemu RASFF żywności zanieczyszczonej wirusem zapalenia wątroby typu A (23 zgłoszenia - produkty pochodzenia roślinnego)

Wykrywanie wirusów w żywności jest trudne. Wymaga dużych nakładów finansowych, dużego doświadczenia, specjalistycznego sprzętu np. Real-time PCR, sekwencjonometru. Ponadto metodyka wykrywania wirusów w żywności, szczególnie w owocach miękkich jest niedoskonała i sprawia wiele kłopotów (niskie pH, działanie enzymów)

Od wielu lat istnieją próby znalezienia takich wskaźników np. bakterii, wirusów, których obecność byłaby związana (skorygowana) z zanieczyszczeniem owoców miękkich norowirusami lub wirusem zapalenia wątroby typu A.

Wielu autorów wskazało korelację występowania wirusów, szczególnie w owocach morza, z bakteriami *Escherichia coli*. Oznaczanie ilościowe tych bakterii jest proste i nie wymaga dużych nakładów finansowych. Inni autorzy sugerują, że lepsze rezultaty dają badania w kierunku obecności adenowirusów, szczególnie

w próbkach wody, w wymazach z różnych odcinków produkcyjnych, które mogą być zanieczyszczone wirusami.

Jednakże należy podkreślić, że jest zbyt mała liczba danych w tym zakresie, a ponadto stosowanie badania w kierunku adenowirusów, celem przypuszczenia obecności norowirusów lub hepatitis typu A wydaje się niecelowe ze względu na metodykę, pracochłonność i koszty. Uwzględniając powyższe, jak również ograniczone możliwości finansowe oraz metodologiczne zaplanowano wstępny monitoring.

Należy podkreślić, że wykonywanie badań monitoringowych najlepiej pozwala na ocenę zagrożeń i umożliwia analizę tendencji dotyczącą zanieczyszczeń mikrobiologicznych, zarówno bakteryjnych jak i wirusowych.

Systematyczny monitoring mikrobiologicznych zanieczyszczeń jest niezbędny dla zagwarantowania bezpieczeństwa środków spożywczych.

METODY ZAPOBIEGANIA I OGRANICZANIA RYZYKA WYSTĘPOWANIA CHOROBOTWÓRCZYCH WIRUSÓW W ŻYWNOŚCI, Z UWZGLĘDNIENIEM ZASAD DOBREJ PRAKTYKI ROLNICZEJ I DOBREJ PRAKTYKI W PRZETWÓRSTWIE, ODNOSZĄCYCH SIĘ DO OWOCÓW MIĘKKICH

Żywność może być zanieczyszczona chorobotwórczymi dla ludzi wirusami na wszystkich etapach przetwórstwa i przechowywania. Podstawowym elementem zapobiegania temu zjawisku jest określenie źródeł zagrożeń, ustalenie koniecznych wymagań sanitarnych dla poszczególnych etapów produkcji, przeszkolenie osób związanych z produkcją żywności oraz uzyskanie dowodów przeprowadzenia tego typu działań .

Efektywne działania w zakresie ograniczania rozprzestrzeniania się wirusów powinno polegać raczej na stosowaniu odpowiednich zabezpieczeń i kontroli na wszystkich poziomach produkcji żywności, niż na usuwaniu lub inaktywacji tych wirusów z zanieczyszczonej żywności. Do tej pory jedynie zastosowanie odpowiedniej obróbki cieplnej było wystarczającym zabiegiem inaktywacji wirusów w środkach spożywczych.

PRODUKCJA PIERWOTNA

Produkcja pierwotna jest obecnie stosowana w wielu krajach na znaczną skalę. Do zanieczyszczenia żywności może dojść na każdym etapie produkcji. Największe ryzyko związane jest przede wszystkim z produkcją pierwotną.

Pierwotna produkcja różni się w poszczególnych krajach stosowaniem różnych praktyk i technik rolniczych w zależności od warunków klimatycznych, geograficznych, a co związane jest z różnymi warunkami socjalno-ekonomicznymi,

higienicznymi i epidemiologicznymi na farmach. Wirusowe zagrożenie związane jest przede wszystkim z typem produktu oraz metodami upraw. Działania podczas produkcji pierwotnej powinny być związane przede wszystkim z dobrą praktyką higieniczną, celem zminimalizowania potencjalnego zagrożenia zanieczyszczeniem świeżej żywności norowirusami lub wirusem zapalenia wątroby typu A.

HIGIENA ŚRODOWISKA

1. W świeżych jagodach głównym źródłem zanieczyszczenia ich norowirusami lub wirusem zapalenia wątroby typu A są miejsca produkcji związane głównie z nawożeniem roślin zanieczyszczeniami (ściekami), ludzkimi fekaliami i niewłaściwą higieną personelu oraz korzystaniem z toalet. Jeżeli dojdzie do zanieczyszczenia wody i gleby, a następnie do styczności ze świeżymi produktami, istnieje potencjalne ryzyko zanieczyszczenia ich wirusami. Wirusy te mogą przez długi czas pozostawać w środowisku i być odpowiedzialne za wywoływanie zatruc pokarmowych u ludzi.
2. Woda stosowana do nawadniania, nawożenia, podlewania nie może być zanieczyszczona fekaliami ludzkimi. Woda powinna zostać poddana odpowiedniemu uzdatnianiu, które powinno maksymalnie zredukować zanieczyszczenia wirusami.
3. Przeciekanie nieczystości do gleby wykorzystywanej pod uprawy stanowi poważne zagrożenie i dlatego powinny być podjęte działania zapobiegające temu.

HIGIENICZNA PRODUKCJA ŻYWNOSCI

1. Woda stosowana podczas produkcji pierwotnej
Przy produkcji żywności musi być stosowana tylko czysta woda. Mikrobiologiczna ocena jakości źródeł wody wykorzystywanej na farmach w kierunku norowirusów lub wirusa zapalenia wątroby typu A, powinna zawierać ocenę dotyczącą

zanieczyszczeń wody ludzkimi fekaliami i jeżeli jest to konieczne należy wykonać badania w zakresie zanieczyszczeń kałowych. W przypadku identyfikacji źródeł zanieczyszczeń wody stosowanej na farmach, powinny być podjęte działania naprawcze celem zminimalizowania ryzyka tymi wirusami. Efektywność działań naprawczych powinna być weryfikowana.

Badania w kierunku *Escherichia coli* (kałowych bakterii z grupy coli) są pożyteczne w przypadku oznaczania poziomu zanieczyszczenia kałowego wody. Poziom zanieczyszczenia kałowego może wskazywać na potencjalną obecność norowirusów lub wirusa zapalenia wątroby typu A, jednakże wirusy te mogą występować również podczas nieobecności tych bakterii. Częstotliwość badania tych wskaźników powinna być ustalona w zależności od rodzaju wody (gruntowa, powierzchniowa) oraz warunków systemów nawadniania.

Należy podkreślić, że rodzaj technik nawadniania może mieć znaczący wpływ na ryzyko występowania norowirusów lub wirusa zapalenia wątroby typu A. Szczególnie groźne jest zraszanie roślin z góry.

2. Higiena personelu i warunki sanitarne.

Urządzenia sanitarne dla personelu i toalety (przenośne lub stałe), włączając odpowiednie urządzenia do mycia rąk, powinny być umieszczone blisko pola, gdzie pracuje personel.

3. Mycie i podstawowa higiena personelu podczas produkcji pierwotnej.

Przedsiębiorca powinien opracować procedury dla personelu, w przypadku gdy ich wymiociny lub materiał kałowy ma styczność z powierzchniami, jak również

ustalić szczegółowe działanie dla personelu celem zminimalizowania potencjalnego rozprzestrzenienia się zanieczyszczeń wirusami.

Przedsiębiorca powinien opracować instrukcje mycia i dezynfekcji. Dezynfekcja powinna zawsze być poprzedzona procesem mycia. Zalecane jest również opracowanie przez przedsiębiorcę procedur dezynfekcji i mycia powierzchni, które mogą być zanieczyszczone wirusami. Dezynfekcja i mycie powinny być podjęte natychmiastowo po każdorazowym zwymiotowaniu, zarówno w terenie jak i pomieszczeniach, lub po stwierdzeniu objawów żołądkowo-jelitowych lub symptomów wskazujących na żółtaczkę u personelu. Mycie i dezynfekcja powinny objąć wszystkie powierzchnie, które mogą być zanieczyszczone wirusami łącznie z urządzeniami do mycia oraz toaletami jak również powierzchniami produkcyjnymi (np. telefon).

Personel przeprowadzający proces mycia lub dezynfekcji powinien nosić maski, rękawiczki, fartuchy, ze względu na możliwość zakażenia.

Papierowe ręczniki i podobne materiały absorpcyjne po użyciu powinny być umieszczane w plastikowych torbach i usuwane, by nie były źródłem dalszego przenoszenia wirusów.

4. Higiena personelu.

Osoby, które mają objawy chorobowe (miedzy innymi biegunkę, wymioty, gorączkę, bóle głowy, ciemny mocz, jasny stolec, żółtaczkę) nie powinny mieć kontaktu z żywnością, nie mogą pracować przy zbiorze, produkcji, sprzedaży.

Osoby z objawami żółtaczki powinny zgłosić się do lekarza.

Personel powinien przestrzegać instrukcji mycia rąk przez cały okres produkcji (Przedsiębiorca zobowiązany jest do przygotowania instrukcji wg norm PN-EN 1499

i PN-EN 1500). Ręce powinny być umyte i wytarte przed dotykaniem żywności. W pomieszczeniach powinno być mydło i dostęp do czystej, bieżącej wody.

Pracownicy muszą każdorazowo myć ręce przed rozpoczęciem pracy, w przerwie po skorzystaniu z toalet, jak również gdy był kontakt z wymiocinami, kałowym materiale itp.

Należy myć zawsze ręce po dotykaniu przedmiotów potencjalnie zanieczyszczonych np. pieniędzy.

Ponadto powinien być sprawdzany zakaz wejścia osób nieupoważnionych w tym dzieci, które mogą być nosicielami wirusów.

5. Kontrola procesów w przetwórstwie.

Procesy w przetwórstwie powinny być tak kontrolowane, by mogły zapobiegać zanieczyszczeniom żywności wirusami.

Działania zapobiegawcze w celu identyfikacji zagrożeń powinny pomóc w redukcji poziomu wirusów.

5.1 Kontrola zagrożeń żywności.

Kontrola norowirusów i wirusa zapalenia wątroby typu A w żywności dotyczy zastosowania kontroli higienicznej systemów np. Dobrej Praktyki Higienicznej, Standardowych Procedur Operacyjnych Sanitacji.

5.2 Kluczowe aspekty kontroli higienicznej systemów.

Żywność, która może być zanieczyszczona wymiotami lub aerozolami zawierającymi cząstki wymiotów powinna być usunięta a przedsiębiorca powinien mieć odpowiednie procedury. Żywność mająca styczność z osobami, które wykazują objawy zakażenia norowirusami podczas danego dnia lub dzień wcześniej, powinna być usunięta. Żywność dotykana przez personel, z objawami wirusa zapalenia wątroby typu A, przed 2 przynajmniej tygodniami przed zachorowaniami, należy usunąć, gdyż wirus

ten może osiągnąć maksymalny poziom przynajmniej na 2 tygodnie przed osiągnięciem symptomów.

5.2.1 Kontrola systemów przetwórstwa.

5.2.1.1 Kontrola czasu i temperatury.

Chłodzenie i mrożenie. Zabiegi te nie są odpowiednie do kontroli obecności norowirusów i wirusa zapalenia wątroby typu A w żywności. Nie redukują one efektywnie poziomów tych wirusów.

Obróbka cieplna. Wpływ obróbki cieplnej na wirusy w żywności zależy od typu wirusa, matrycy i początkowego poziomu wirusów. Gotowanie, w którym wewnętrzna temperatura w żywności osiąga przynajmniej 90°C przez 90 sekund jest wystarczająca do zabicia wirusów w żywności. Jednakże, lekkie podgrzanie np. parowanie może okazać się niewystarczające do inaktywacji wirusów. Tradycyjna pasteryzacja np. 63°C przez 30 minut lub 70°C przez 2 minuty są bardziej efektywne niż pasteryzacja szybka przeprowadzana w temperaturze 72°C przez 20 sekund, gdzie ostateczny efekt w zakresie inaktywacji norowirusów wynosi tylko 3 log₁₀. Jednakże należy podkreślić, że nawet tradycyjna pasteryzacja może być nieskuteczna do inaktywacji norowirusów, gdyż infekcyjna dawka dla ludzi wynosi zaledwie kilka cząstek wirusa. Natomiast przemysłowa produkcja żywności w puszkach (sterylizacja) jest doskonała do zabicia wirusów w żywności.

5.2.1.2 Szczególne kroki podczas przetwórstwa.

Różne etapy produkcji wykazują redukcję liczby wirusów w żywności, ale stopień redukcji jest zależny od typu wirusa, matrycy i miejsca wirusów w żywności. Najlepsze efekty dają procesy kombinowane.

Mycie: mycie żywności wodą oraz zastosowanie UV, ozonu, chloru itp. nie może być efektywne, gdy powierzchnia produktu jest chropowata, porowata lub sfluczona.

Obniżanie pH: norowirusy i wirus zapalenia wątroby typu A są bardzo stabilne przy niskim pH.

Obniżanie aktywności wody: może przyspieszać inaktywację wirusów, ale efekt zależy od typu wirusa i matrycy. Suszenie na powierzchniach może redukować poziom wirusów.

Wysokie Hydrostatyczne Ciśnienie (HHP): może znacznie obniżać liczbę wirusów, jednakże efekt zależy od typu wirusa, matrycy.

Promieniowanie UV: może redukować liczbę wirusów, jednakże efekt zależy od typu wirusa, matrycy oraz obecności wirusów na powierzchni żywności.

ANALIZA I OCENA SYTUACJI EPIDEMIOLOGICZNEJ CHORÓB SZERZĄCYCH SIĘ DROGA POKARMOWĄ PRZENOSZONYCH PRZEZ ŻYWNOŚĆ O ETIOLOGII WIRUSOWEJ, ZA SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM ZAPALENIA WĄTROBY TYPU A W POLSCE.

Na terenie Unii Europejskiej na podstawie Decyzja Komisji z dnia 2 kwietnia 2009 r. oraz Decyzji Komisji z dnia 28 kwietnia 2008 r. wprowadzony został ujednolicony system zbierania danych epidemiologicznych o chorobach zakaźnych, w tym wirusowym zapaleniu wątroby typu A. Umożliwia to porównywanie danych zbieranych w różnym czasie i w różnych krajach. Zgodnie z definicją UE stosowaną dla potrzeb nadzoru epidemiologicznego zachorowania na wzv A klasyfikują się jako przypadek potwierdzony lub prawdopodobny (Załącznik 1). Unia Europejska jest obszarem o niskiej endemiczności wzv A. Liczba zachorowań raportowanych przez kraje do europejskiego systemu nadzoru (TESSy) systematycznie maleje. W roku 1997 r. zapadalność na 100 000 mieszkańców wynosiła 14, a w 2011 r. już 2,51. Najwyższą zapadalność rejestruje się m.in. w Bułgarii, Rumunii oraz Estonii, odpowiednio 74,45, 12,05, 11,42. Polska jest jednym z krajów o najniższej zapadalności, w 2011 roku wynosiła 0,16/ 100 000 (Ryc. 9).

W 2011 roku zarejestrowano w UE ogółem 12937 potwierdzonych zachorowań na wzv A. W poszczególnych grupach wieku odnotowano następującą liczbę przypadków: 0-4 lat- 765 (3,11%), 5-14 lat -2 397 (5,01%), 15-24 lata - 1 154 (2,15%), 25-44 - 1 550 (1,19%), 45-64 - 816 (0,66%) oraz powyżej 65 roku życia 326 (0,38%). Najwyższy wskaźnik zachorowań na 100 000 odnotowano w grupie wiekowej 5-14 lat i wynosił on 5,08 dla mężczyzn a dla kobiet 4,93. Obserwuje się sezonowość zachorowań na wzv A zgłaszanych na terenie UE.

Liczba zachorowań wzrasta w ostatnich miesiącach lata (sierpień, wrzesień). Natomiast najwyższa liczba zachorowań przypada na miesiące jesienne. Stosunkowo wysoka liczba przypadków w tych miesiącach jest spowodowana zachorowaniami zawlekanyymi z krajów o wysokiej lub średniej endemiczności w związku z wyjazdami turystycznymi podczas wakacji.

Country	National coverage	Report type	Total cases	2011			2010		2009		2008		2007	
				Confirmed cases and notification rate per 100 000 population			Confirmed cases and notification rate per 100 000 population		Confirmed cases and notification rate per 100 000 population		Confirmed cases and notification rate per 100 000 population		Confirmed cases and notification rate per 100 000 population	
				Cases	Rate	Age-standardised rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Austria	Y	C	42	5	0.06	0.06	54	0.65	1	0.01	4	0.05	5	0.06
Belgium	N	C	167	167	-	-	137	-	130	-	365	-	209	-
Bulgaria	Y	A	5588	5587	74.45	-	2350	31.07	1064	13.99	907	11.87	2790	36.33
Cyprus	Y	C	0	0	0.00	0.00	2	0.24	4	0.50	4	0.51	4	0.51
Czech Republic	Y	C	264	264	2.51	2.63	862	8.20	1104	10.55	1649	15.89	126	1.23
Denmark	Y	C	13	13	0.23	0.23	47	0.85	45	0.82	44	0.80	306	5.62
Estonia	Y	C	154	153	11.42	11.63	6	0.45	19	1.42	13	0.97	10	0.75
Finland	Y	C	14	14	0.26	0.26	14	0.26	22	0.41	22	0.42	15	0.28
France	Y	C	1115	1115	1.71	1.67	1244	1.92	1547	2.40	1204	1.88	1010	1.59
Germany	Y	C	832	820	1.00	1.03	775	0.95	929	1.13	1072	1.30	936	1.14
Greece	Y	C	41	41	0.36	0.39	58	0.51	86	0.76	120	1.07	286	2.56
Hungary	Y	C	82	79	0.79	0.80	202	2.02	107	1.07	168	1.67	251	2.49
Ireland	Y	C	18	18	0.40	0.42	40	0.90	49	1.10	41	0.93	29	0.67
Italy	Y	C	315	315	0.52	0.56	655	1.09	1580	2.63	1350	2.26	1159	1.96
Latvia	Y	C	51	49	2.20	2.27	292	12.99	2276	100.65	2798	123.21	15	0.66
Lithuania	Y	C	17	17	0.52	0.51	10	0.30	16	0.48	20	0.59	23	0.68
Luxembourg	Y	C	0	0	0.00	0.00	2	0.40	5	1.01	3	0.62	1	0.21
Malta	Y	C	4	4	0.96	0.95	3	0.72	9	2.18	4	0.98	3	0.74
Netherlands	Y	C	115	115	0.69	0.68	252	1.52	154	0.93	87	0.53	165	1.01
Poland	Y	A	65	62	0.16	-	153	0.40	644	1.69	189	0.50	36	0.09
Portugal	Y	C	18	12	0.11	0.12	10	0.09	27	0.25	21	0.20	17	0.16
Romania	Y	C	2592	2581	12.05	12.35	3493	16.28	3734	17.37	3161	14.68	4982	23.10
Slovakia	Y	C	403	400	7.36	7.33	1449	26.71	1447	26.74	729	13.50	383	7.10
Slovenia	Y	C	12	11	0.54	0.53	9	0.44	12	0.59	17	0.85	15	0.75
Spain	Y	C	661	463	1.00	1.02	740	1.61	1808	3.95	1877	4.15	698	1.57
Sweden	Y	C	54	54	0.57	0.58	85	0.91	154	1.66	78	0.85	68	0.75
United Kingdom	Y	C	277	277	0.44	0.44	408	0.66	437	0.71	794	1.30	377	0.62
EU total	-	-	12 914	12 636	2.54	1.58	13 352	2.70	17 410	3.53	16 741	3.36	13 919	2.83
Iceland	Y	C	1	1	0.31	0.33	2	0.63	3	0.94	1	0.32	2	0.65
Liechtenstein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Norway	Y	C	22	22	0.45	0.43	46	0.95	40	0.83	49	1.03	29	0.62
Total	-	-	12 937	12 659	2.51	1.56	13 400	2.68	17 453	3.51	16 791	3.34	13 950	2.81

Y: yes; N: no; A: aggregated data report; C: case-based report; U: unspecified; -: no report.

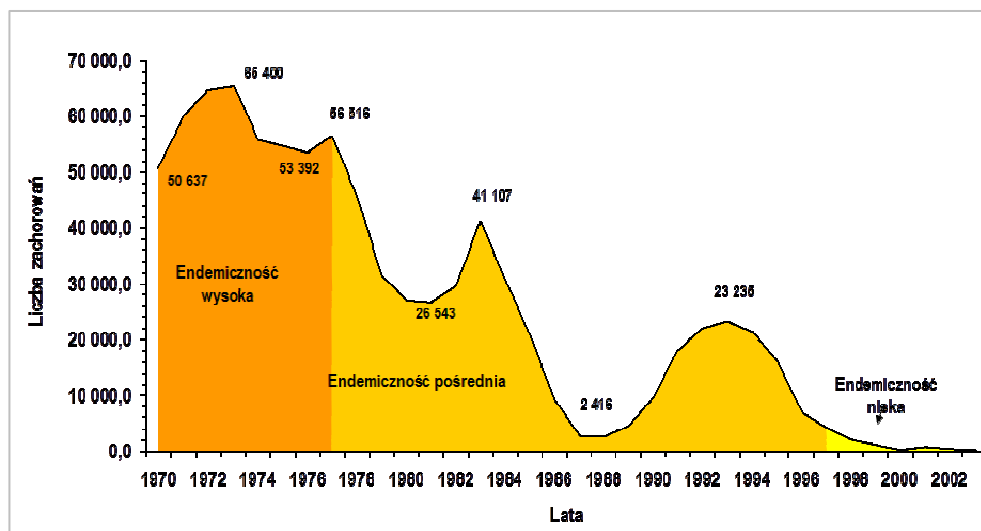
Rycina 9. Liczba i zapadalność potwierdzonych przypadków zachorowań na wzv A w krajach UE/EEA, w latach 2007 – 2011 (źródło: Annual epidemiological report. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data 2013. ECDC).

Sytuacja epidemiologiczna wzv A w Polsce

Ocenę sytuacji epidemiologicznej wzv typu A w Polsce przeprowadzono na podstawie wyników analizy danych z: rocznych biuletynów „Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce” oraz „Szczepienia ochronne w Polsce”. Ponadto wykorzystano dane z formularzy o indywidualnych zachorowaniach i z formularzy dochodzeń epidemiologicznych w ogniskach wzv typu A, nadesłanych do Zakładu Epidemiologii NIZP-PZH przez wojewódzkie stacje sanitarno-epidemiologiczne. Dodatkowo uwzględniono dane pochodzące z dostępnej literatury.

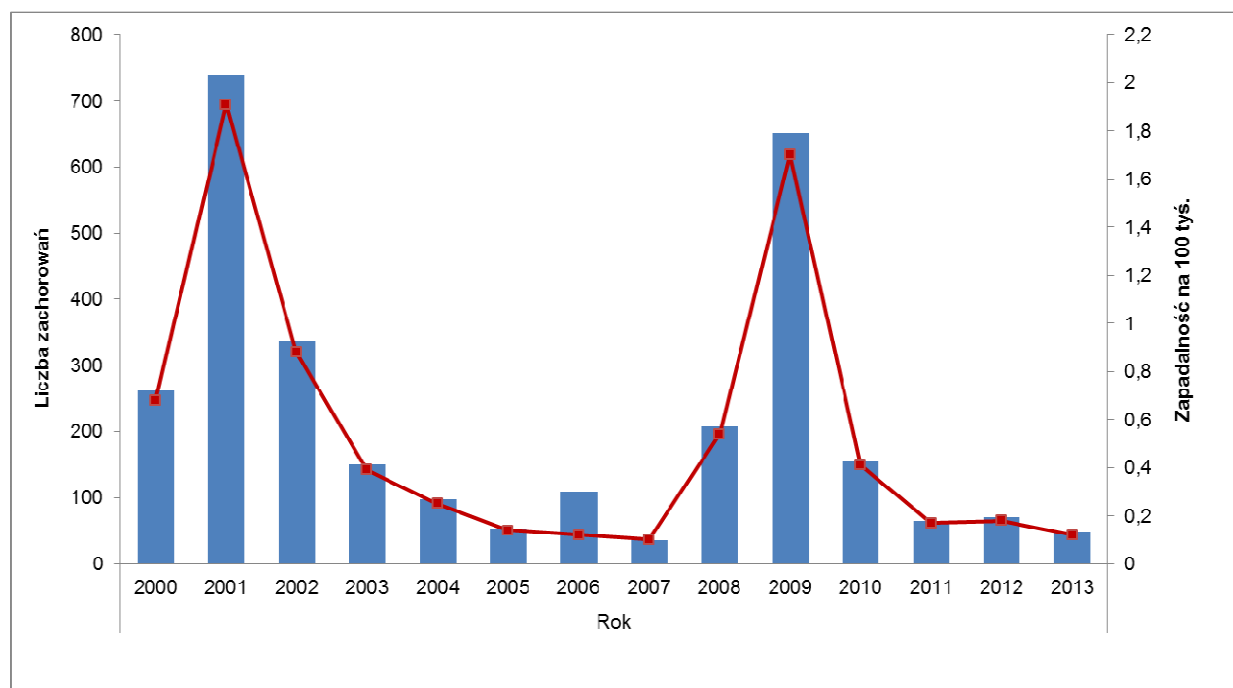
Zachorowania na wirusowe zapalenia wątroby są zgłaszane i rejestrowane w Polsce od 1951 roku. Do 1978 roku zgłaszano zachorowania ogółem wzv dlatego nie ma możliwości za tamte lata wykazania liczby zachorowań na wzv A. Od roku 1979 zgłaszano i rejestrowano zachorowania na wzv B. Umożliwiło to na uzyskanie danych o liczbie zachorowań na typy "nie B" tj. na typ A + typ C oraz nieokreślone wzv. Szacuje się, że dominowały wówczas zachorowania na wzv A.

Od roku 1997 zaczęto zgłaszać i rejestrować zachorowania na wzv A. Dane szacunkowe dotyczące liczby zachorowań na wzv A za lata 1970-1996 oraz liczby zarejestrowanych zachorowań w latach 1997-2003 przedstawiono na rycinie 10.

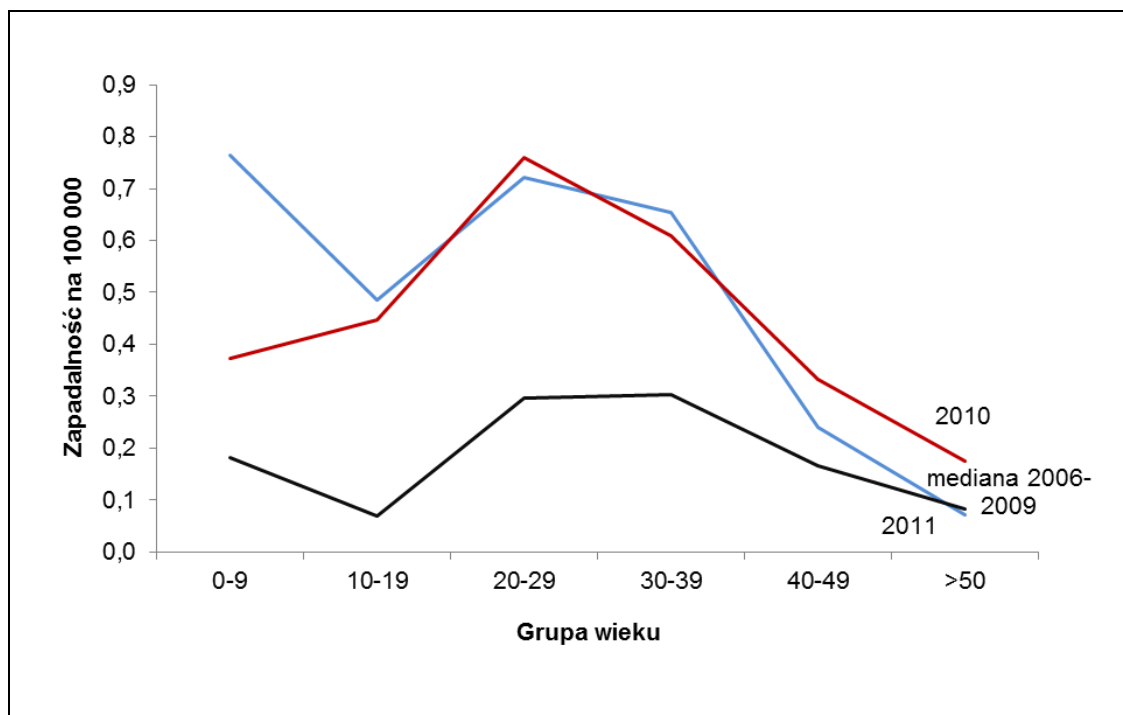


Rycina 10. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w latach 1970-2003 (1970-1996 szacowane dane; 1997-2003 rejestrowane dane).

W latach 1978-1997 wskutek poprawy warunków higienicznych i socjalno-bytowych nastąpił znaczny spadek zachorowań i zapadalności na wzv typu A w Polsce. Obserwowana w tym czasie endemiczność pośrednia wzv A charakteryzowała się przesunięciem szczytu zachorowań na starsze dzieci i młodzież w wieku od 19 do 24 lat. Pojawiła się wyraźna okresowość zachorowań ze szczytem zachorowań występującym co 6-10 lat. Począwszy od 1998 roku do roku 2000 w Polsce występowała endemiczność niska. Natomiast od 2002 do 2007 r. bardzo niska. Okres ten charakteryzował się niską zapadalnością (0,1 do 1,91 / 100 tys.) a zachorowania notowano głównie w starszych grupach wiekowych (Ryc.11, Ryc. 12). W ogólnej liczbie zachorowań występował wysoki udział przypadków zawlekanych z krajów o średniej lub wysokiej endemiczności. Poza tym rejestrowano lokalne ogniska epidemiczne.



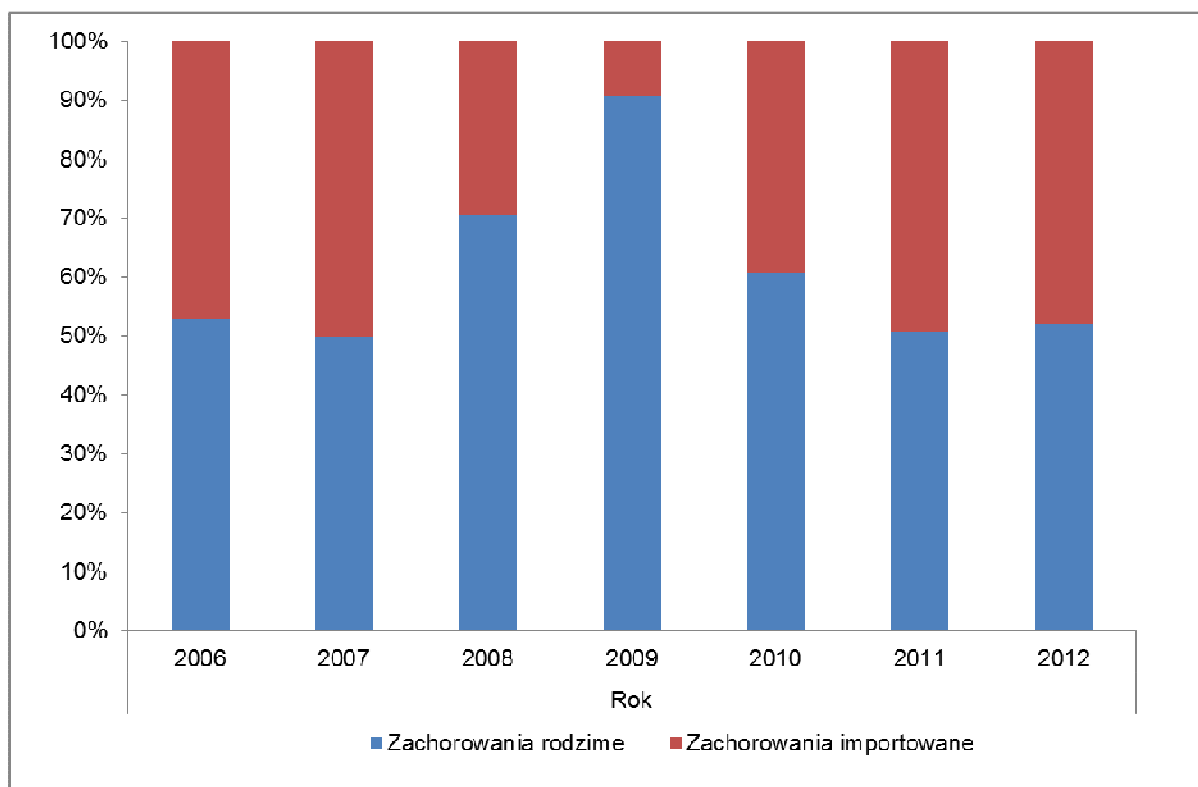
Rycina 11. Liczba zachorowań oraz zapadalność na 100 tys. mieszkańców na wzv A w Polsce w latach 2000 – 2013.



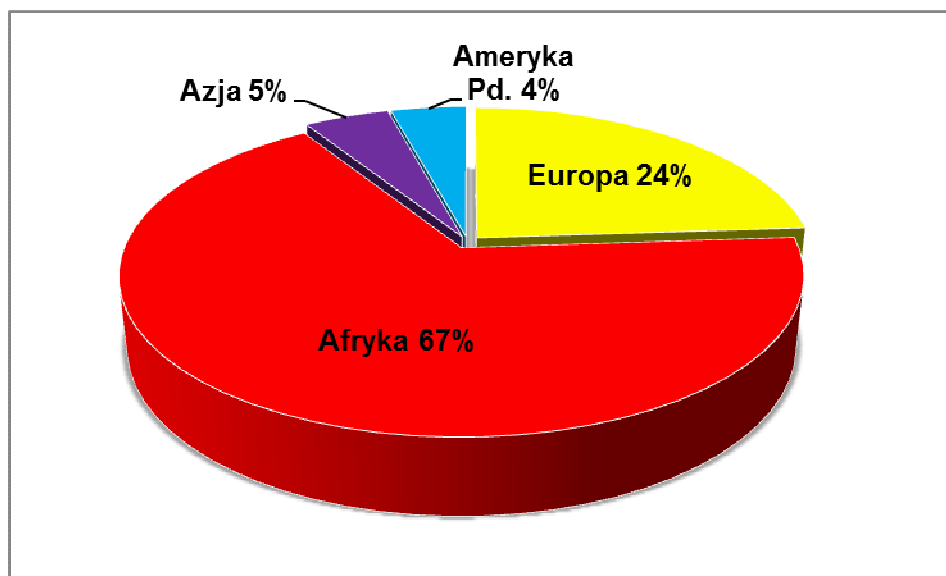
Rycina 12. Zapadalność na wzv A na 100 000 mieszkańców wg. grup wieku w latach 2006-2011.

Od 2008 do 2010 roku zaobserwowano wzrost liczby zachorowań, najwięcej w 2009 r. (Ryc. 11). Analiza zapadalności w grupach wieku wykazała, że w 2009 r. była ona najwyższa wśród mężczyzn: od 25 do 29 lat (6,96) oraz od 20 do 24 lat (6,71). Wysoką zapadalność odnotowano również w najmłodszych grupach wieku (Ryc. 12). W 2009 r. najwięcej zachorowań odnotowano wśród mężczyzn. Stanowiły one 76% wszystkich zarejestrowanych zachorowań na wzv typu A. Doniesienie literaturowe sugerują, że najprawdopodobniej do zachorowań doszło głównie w grupie MSM (men who have sex with men). Ze względu na brak szczegółowych informacji na temat grupy ryzyka w ankiecie wypełnianej przez stacje sanitarno-epidemiologiczne nie można tego jednoznacznie określić. Nie udało się ustalić jednoznacznie przyczyny wzrostu liczby zachorowań w tym okresie. Można domniemywać, że był on możliwy dzięki nagromadzeniu się dość licznej grupy osób wrażliwych na zakażenie. W latach od 2011 do 2013 nastąpiła poprawa sytuacji

epidemiologicznej wzv typu A w porównaniu do poprzednich lat. Zapadalność w tym okresie wynosiła odpowiednio 0,17, 0,18, 0,12 na 100 000 mieszkańców (Ryc. 11). Rozkład zachorowań w poszczególnych grupach wieku był zbliżony do lat ubiegłych i był najwyższy w 20–29 oraz 30-39 lat. Natomiast w grupach najmłodszych 0–9 oraz 10-19 lat odnotowano niższą zapadalność w porównaniu do lat 2008-2010 (Ryc. 12). Udział zachorowań zawlekanych poza latami 2008-2009 w ogólnej liczbie zachorowań na wzv typu A utrzymuje się na względnie stałym poziomie i stanowi około 50% ogółu rejestrowanych przypadków (Ryc. 13). Z przeprowadzonych wywiadów epidemiologicznych wynika, że większość chorych przed zachorowaniem przebywała w rejonach o wysokiej lub średniej endemiczności. Jako kraj docelowy najczęściej wymieniano Egipt, a głównym celem podróży były wycieczki turystyczne (Ryc. 14).



Rycina 13. Procentowy udział poszczególnych zachorowań na wzv A ze względu na miejsce narażenia w latach 2006 – 2012.



Rycina 14. Geograficzne pochodzenie zawleczonych do Polski zachorowań w latach 2009 – 2012.

Ogniska zachorowań na wzv typu A w Polsce w latach 2008 – 2012

W roku latach odnotowano łącznie 37 ogniska zachorowań na wzv A. Najczęściej występowały małe ogniska rodzinne, w których zachorowało od 2 do 4 osób. Jednak poza nim zarejestrowano w tym okresie kilka dużych ognisk epidemicznych (Tab. 3). Pierwsze z nich wystąpiło w ośrodku dla uchodźców, którego mieszkańcy należeli do narodowości czeczeńskiej (230 osób, w tym 140 dzieci). W ośrodku panowały trudne warunki sanitarne. Pierwsze zachorowanie odnotowano w pierwszej połowie kwietnia, natomiast ostatnie we wrześniu. Ogółem zachorowało 58 osób (w tym 57 dzieci, 1 dorosły). Kolejne duże ognisko było związane z zachorowaniami zawleczonymi z Egiptu. Ognisko miało zasięg międzynarodowy. Zachorowania wystąpiły w 4 krajach w okresie od września do listopada 2008 roku na terenie 4 państw: Niemiec – 34 osoby, Francji – 26 osoby, Belgii – 10 osoby oraz Polski – 19 osób. Wszystkie chore osoby przebywały na wycieczce w Egipcie, większość z nich brała udział w wycieczce „rejsie po Nilu” (na różnych statkach). Ponieważ zachorowały osoby również te które

nie uczestniczyły w wycieczce trudno dokładnie ustalić gdzie doszło do zakażenia i co było jego nośnikiem.

W 2009 zarejestrowano 18 ognisk wzv A, natomiast w tabeli przedstawiono wybrane ogniska, w których zachorowało więcej lub równo 6 osób. Pozostałe 12 ognisk dotyczyło zachorowań rodzinnych, w tym dwa miały miejsce w ośrodku dla uchodźców.

W kolejnych latach 2010 – 2013 rejestrowano głównie małe ogniska o charakterze lokalnym. Dominowały w nich ogniska zachorowań, w których do narażenia doszło w krajach o wysokiej endemiczności. W roku 2013 odnotowano ognisko wśród osób przebywających na wyjeździe integracyjnym we Włoszech, w miejscowości Soraga (termin pobytu 16-22.03.2013). Do tej pory zachorowania mające związek z tym ogniskiem zarejestrowano m.in. w Niemczech, Irlandii i Holandii oraz wśród mieszkańców Włoch. W toku dochodzenia epidemiologicznego ustalono, że osoby chore pochodzące z Niemiec, Holandii, Polski, Irlandii oraz Włoch spożywały mrożone owoce jagodowe bądź inne produkty zawierające te owoce. Dlatego mając na uwadze powyższe fakty postawiono hipotezę, że źródłem zakażenia w tym ognisku są owoce jagodowe. Obecnie trwa postępowanie mające na celu prześledzenie dróg dystrybucji oraz pochodzenia mrożonych owoców jagodowych, które ma ustalić źródło skażonych owoców.

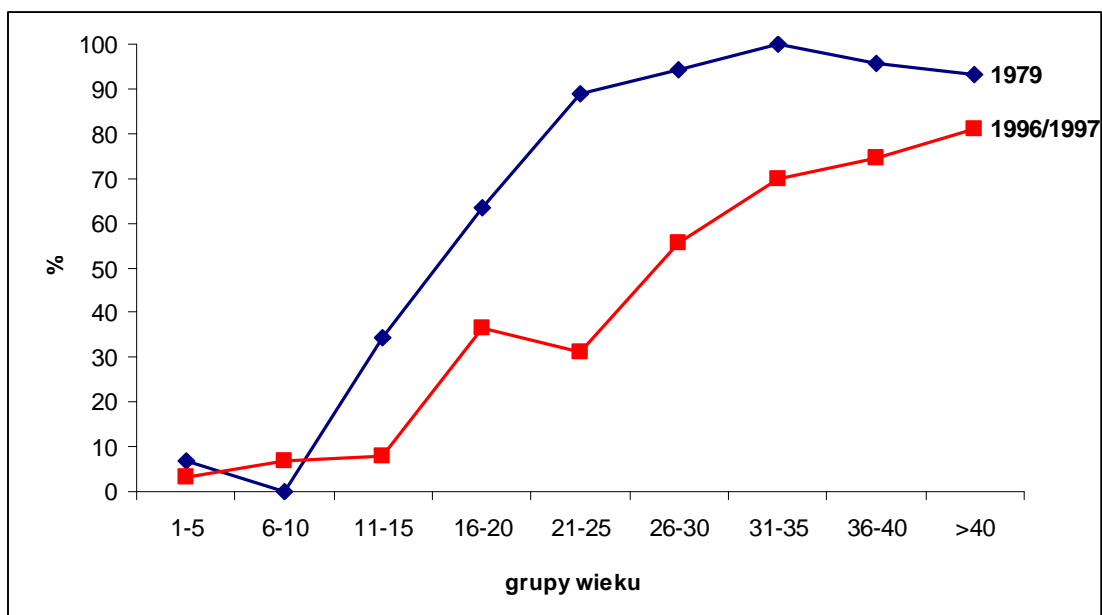
Tabela 3. Wybrane zarejestrowane ogniska zaszczepionych przeciw wzv A w Polsce w latach 1998 – 2012

Rok	Województwo	Liczba osób			Miejsce i okoliczności związane z wystąpieniem ogniska	Ogółem liczba ognisk w danym roku
		narażonych	chorych	chorych do 14 r.ż		
2008	Kujawsko-Pomorskie	4	2	2	Mieszkanie prywatne - zachorowania importowane z Egiptu	5
	Lubelskie	230	58	57	Ośrodek dla Uchodźców	
	Mazowieckie	135	4	0	Dom weselny	
	Lubelskie	8	8	0	Mieszkanie prywatne	
	Wielkopolskie	4	3	0	Mieszkanie prywatne - zachorowania importowane z Egiptu	
2009*	Kujawsko-Pomorskie	23	6	0	Nie ustalono	6
	Kujawsko-Pomorskie	11	6	4	Nie ustalono	
	Łódzkie	18	10	2	Nie ustalono	
	Lubelskie	153	12	12	Ośrodek dla Uchodźców	
	Mazowieckie	76	17	0	Bar gastronomiczny - konsumenci	
	Wielkopolskie	28	28	1	Nie ustalono	
2010	Śląskie	9	2	0	Nie ustalono	5
	Mazowieckie	202	2	2	Ośrodek dla Uchodźców	
	Mazowieckie	6	2	0	Nie ustalono	
	Wielkopolskie	6	2	1	Zachorowania importowane	
	Wielkopolskie	3	2	0	Zachorowania importowane	
2011	Mazowieckie	6	2	0	Nie ustalono	2
	Śląskie	16	5	5	Nie ustalono	
2012	Kujawsko-pomorskie	4	2	0	Nie ustalono	5
	Małopolskie	4	2	0	Nie ustalono	
	Małopolskie	9	3	1	Zachorowania importowane	
	Kujawsko-pomorskie	2	2	0	Zachorowania importowane	
	Małopolskie	2	2	0	Zachorowania importowane	
2013	Wielkopolskie	58	5	0	Zachorowania importowane - wycieczka do Włoch	2
	Łódzkie	8	4	3	Nie ustalono	

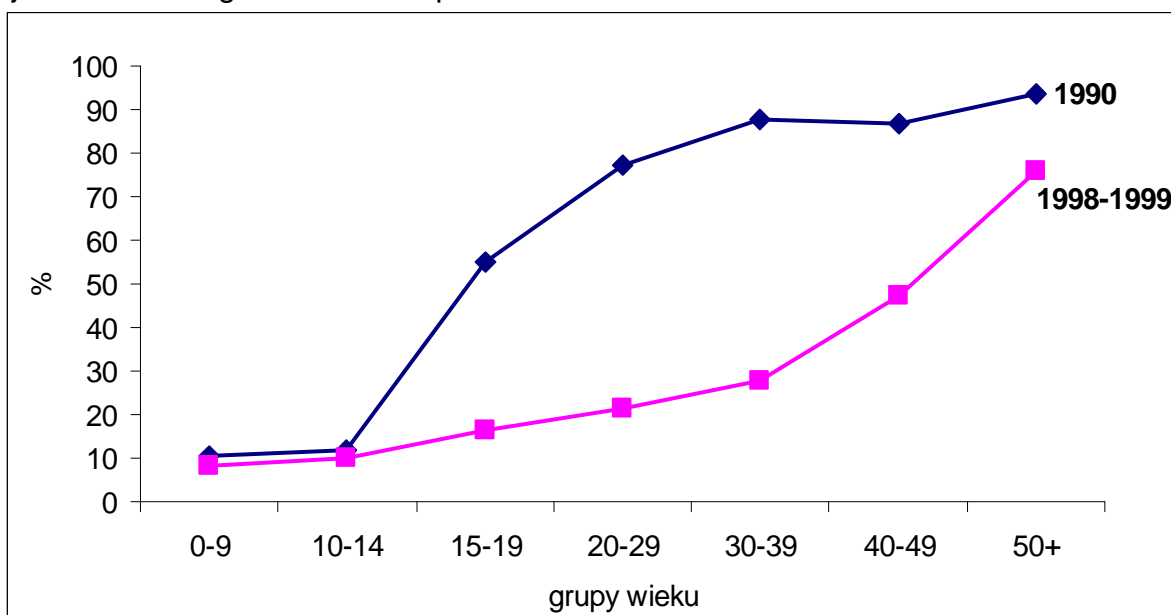
Podatność na zakażenie populacji Polskiej.

Stan uodpornienia – przeglądy serologiczne

W ramach oceny występowania przeciwciał anty-HAV świadczących o przebytych zakażeniu lub szczepieniu przeprowadzono do tej pory kilka przeglądów serologicznych u osób z różnych grup wiekowych. Pierwsze tego typu badanie zostało przeprowadzone w 1979 roku wśród mieszkańców woj. warszawskiego. Wśród najmłodszych dzieci odsetek wahał się od 6,7% w grupie 1-4 lat do 34,4% w grupie 11-14 lat. Natomiast u osób powyżej 16 r.ż. przeciwciała posiadało ponad 60% badanych. W grupie 21-30 lat wykryto u 90%, a w grupie 31 – 40 lat przeciwciała były obecne u wszystkich badanych (Ryc. 9). W latach 1978-1997 wskutek polepszenia się warunków higienicznych i socjalno-bytowych notowano znaczny spadek zachorowań i zapadalności na wzv typu A. Miało to odzwierciedlenie w wynikach kolejnego badania przesiewowego, które było przeprowadzone na przełomie 1996/1997 r., wśród mieszkańców województwa warszawskiego. Przeciwciała anty-HAV wykryto u 8% badanych w grupie wieku 11-15 lat, a w grupie 21-25 lat u 30% (Ryc. 15). Podobny spadek odsetka osób, u których wykryto przeciwciała zaobserwowano wśród pacjentów hospitalizowanych z powodów innych niż choroby zakaźne wykazało, że pomiędzy rokiem 1990 a 1998/1999 odsetek osób uodpornionych przeciw wzv A obniżył się z 58,4% do 30,6% (Ryc. 16).



Rycina 15. Odsetek osób z przeciwciałami anti HAV według wieku wśród mieszkańców woj. warszawskiego w 1979 i na przełomie 1996/97 roku.

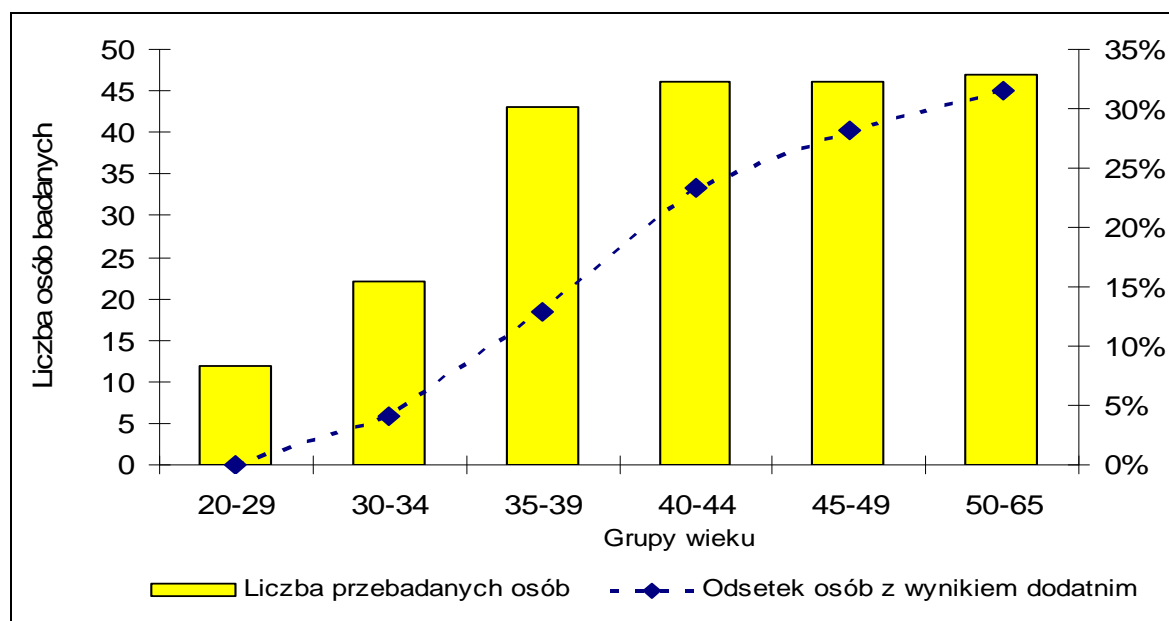


Rycina 16. Odsetek osób z przeciwciałami anti HAV według wieku wśród mieszkańców centralnej i wschodniej Polski w 1990 i na przełomie 1998/99 roku.

Począwszy od 1998 roku do 2002 w Polsce występowała niska endemiczność wzw A. Na przełomie roku 2004/2005 r. celem oceny stanu uodpornienia przeciw wzv A, przeprowadzono badanie wśród pacjentów z Warszawy i okolic. Surowice pochodziły od osób w wieku 1-54 lat, hospitalizowanych na oddziałach urazowych, okulistycznych, chirurgicznych. Uzyskane wyniki wskazywały, że odsetek osób

na terenie Warszawy i okolic nie posiadających ochronnego poziomu przeciwciał wyniósł 90% wśród dzieci w wieku 1-4 lat oraz około 80% w grupie starszych dzieci i młodzieży w wieku do 15-19 lat. Młode osoby dorosłe w wieku 25-29 lat chronione są przed zakażeniem wzv A w 33,3%, a dorośli powyżej 45 roku życia w ponad 68%.

W roku 2008, Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Warszawie wykonała przeglądy serologiczne wśród pracowników MPWiK oraz młodzieży wieku 19-23 lat. W pierwszym z nich przebadano ogółem 236 osób (235 mężczyzn oraz 1 kobietę). Najwyższą liczbę osób, u których występowały przeciwciała odnotowano w grupach wieku: 40-49- 70%, 50-59 - 80%. W grupie wieku 18-29 spośród 13 badanych, tylko u 1 osoby potwierdzono obecność przeciwciał anty-HAV (Ryc.17). W kolejnym przeglądzie serologicznym przeprowadzonym wśród młodzieży z Warszawy oraz okolic, przebadano ogółem 86 osób. U żadnej z nich nie stwierdzono obecności przeciwciał.



Rycina 17. Odsetek osób z przeciwciałami anty-HAV wg. wieku, wśród pracowników MPWiK, w 2008 roku.

W latach 2009 – 2010 w woj. wielkopolskim dokonano oznaczenia przeciwciał anty-HAV IgG u 680 pacjentów oraz 105 krwiodawców. U 235 (29,9%) osób wykryto

przeciwciała. Podobnie jak w poprzednich badaniach najniższy odsetek wyników pozytywnych występował w grupie młodych dorosłych - 6,2%. Natomiast najwyższy stwierdzany był u osób powyżej 50 roku życia, od 64 do 100% badanych.

Powyższe wyniki badań odzwierciedlają kształtowanie się sytuacji epidemiologicznej zachorowań na wzv typu A w Polsce. Przed rokiem 1979 w Polsce występowała endemiczność wysoka. W tym czasie w Polsce rodziło się rocznie przeciętnie 610 000 dzieci, spośród których w chwili osiągnięcia wieku dojrzałego około 97% było uodpornionych przeciw wirusowi zapalenia wątroby typu A. Po 1978 r. wzv A zaczęło przechodzić stopniowo z okresu endemiczności wysokiej do okresu endemiczności pośredniej, który utrzymywał się aż do około 1997 roku. W tym czasie najwyższa liczba zachorowań i zapadalność występowała wśród dzieci w wieku 10-14 lat, a następnie wśród osób starszych od 20 a nawet 25 lat tj. starszych niż poprzednio. Miało to wpływ na poziom uodpornienia przeciw wzv A. W porównaniu do poprzedniego okresu, obserwowano niższy odsetek osób, które osiągając wiek dojrzały posiadały przeciwciała anti- HAV. Przyjmuje się, że po 1997 roku wzv A w Polsce występowała w postaci endemiczności niskiej. Najwyższe liczby zachorowań i najwyższą zapadalność rejestrowano wśród osób w wieku 25-29 lat. Od roku 2002 utrzymuje się endemiczność bardzo niska, charakteryzująca się niską zapadalnością (0,17/ 100 000), zachorowaniami głównie osób w grupie wieku 5-39 lat oraz wysokim udziałem zachorowań zawlekanych. Towarzyszy temu nagromadzenie się dość licznej populacji osób wrażliwych na zakażenie, zwłaszcza dzieci, młodzieży i młodych dorosłych co wiąże się z możliwością wzrostu liczby zachorowań, a nawet wybuchu epidemii lokalnej lub wyrównawczej w najbliższym czasie.

Stan zaszczepienia ludności przeciwko wzv A

W 1996 roku szczepienie przeciw wzv A wpisane zostało do Programu Szczepień Ochronnych jako szczepienie zalecane osobom wyjeżdżającym do krajów o wysokiej i pośredniej endemiczności zachorowań na wzv A, osobom zatrudnionym przy produkcji i dystrybucji żywności, osobom zajmującym się usuwaniem odpadów komunalnych i płynnych nieczystości oraz konserwatorom odnośnych urządzeń, a także dzieciom w wieku przedszkolnym i szkolnym oraz młodzieży, które nie chorowały na wzv A. W Polsce szczepione są przeciw wzv A stosunkowo niskie liczby osób. Największą liczbę osób zaszczepiono na terenach objętych powodzią w lipcu 1997 roku. W 1997 i 1998 roku zaszczepiono dwukrotnie 166 639 dzieci, młodzieży i młodych dorosłych z grup ryzyka. Pierwszą dawkę podano na ogół w 1997 roku, drugą już w 1998 roku. Od 1999 r. liczba osób zaszczepionych przeciwko wzv typu A powoli wzrasta, jednak jest zbyt niska, aby mieć wpływ na sytuację epidemiologiczną w kraju (Tab. 4.).

Tabela. 4. Liczby zaszczepionych przeciw wzv A w Polsce w latach 1998 - 2012

Rok	Liczba zaszczepionych
1998	166 639 (powódź)
1999	16 288
2000	14 304
2001	13 007
2002	23 225
2003	23 431
2004	31 258
2005	40 417
2006	40 002
2007	42 336
2008	46 758
2009	54 750
2010	46 758
2011	45 490
2012	39 362

PRZYGOTOWANIE PROGRAMÓW MONITORINGU:

ZANIECZYSZCZENIA ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ROŚLINNEGO PATOGENNYMI WIRUSAMI

Proponuje się wdrożenie programu monitoringowego dla bakterii wskaźnikowych *Escherichia coli*, umożliwiającego ocenę stanu higienicznego produkcji zarówno na etapie produkcji pierwotnej (gospodarstwa rolne) jak dalszego przetwarzania, ze szczególnym uwzględnieniem zakładów produkujących mrożonki jak również dla występowania w owocach i owocach mrożonych wirusów HAV i NoV.

W roku 2014 planuje wdrożenie I etapu – pilotażowego. We wszystkich województwach należy sporządzić listy zakładów produkujących mrożone owoce miękkie (porzeczki, maliny); zakłady te powinny być poddane kontroli w zakresie wdrożenia procedur mających na celu zapobieganie zanieczyszczenia produktów wirusami. Sporządzone listy powinny zawierać również informacje o orientacyjnej wielkości produkcji i asortymencie. Z listy zakładów należy wylosować trzy, które przedstawią listę dostawców owoców (gospodarstw rolnych), z których należy wylosować 5. Kontrolą, jak podano powyżej, należy objąć wytypowane gospodarstwa, wraz z ewentualnymi pośrednikami.

W województwach lubelskim i wielkopolskim dodatkowo zaplanowano pobranie próbek do badania w kierunku obecności bakterii wskaźnikowych *Escherichia coli* oraz wirusów.

Proponuje się sporządzenie przez WSSE listy działających na terenie województwa zakładów produkujących mrożone owoce miękkie (porzeczki i maliny), z których trzy zostaną wylosowane.

Każdy z trzech zakładów powinien przedstawić listę dostawców owoców (gospodarstw rolnych), z których należy wylosować 5.

Pobieranie próbek powinno być połączone z kontrolą warunków produkcji, ze szczególnym zwróceniem uwagi na wdrożenia procedur mających na celu zapobieganie zanieczyszczenia produktów wirusami.

Próbki do dania należy pobierać wg następującego schematu:

Dla *E. coli*

Produkcja pierwotna		Zakład produkcyjny
	Owoce zebrane na polu, w stanie dojrzałym z całej uprawy	Bezpośrednio przed przetworzeniem (zamrożeniem)
Dostawca 1	10	10 różnych partii
Dostawca 2	10	
Dostawca 3	10	
Dostawca 4	10	
Dostawca 5	10	
Razem	50	10

Badania przez laboratoria PIS

Masa próbki powinna wynosić minimum 200 g. Zgodnie z kryteriami zawartymi w Rozporządzeniu Komisji (WE) NR 2073/2005z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych dopuszczalny limit w owocach dla *E. coli* powinien wynosić $m \leq 100$ jtk/g.

Po przekroczeniu wartości wskaźnikowych przeprowadzone zostanie dochodzenie mające na celu ustalenie źródła zanieczyszczenia bakteriami kałowymi.

Dla HAV i NoV

Produkcja pierwotna			Zakład produkcyjny
	2 tygodnie przed zbiorem	Po zbiorze	Po zamrożeniu
Dostawca 1	1	1	10 różnych partii
Dostawca 2			
Dostawca 3	1	1	
Dostawca 4			
Dostawca 5	1	1	
Razem	3	3	4

Badania będą mogły być wykonywane przez laboratoria NIZP-PZH lub zlecone innym laboratoriom

Zgodnie z zaleceniami EU Referencyjnego Laboratorium (CEFAS, Weymouth, Wielka Brytania) oraz z art. 15 (5) Rozporządzenia (WE) NR 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt limit dla norowirusów i wirusa hepatitis A w owocach powinien wynosić brak obecności w 25 g

Przewidziana liczba badań

***E. coli* – 360**

HAV i NoV - 60

Rok 2015 -16 planuje się działania jak powyżej, z tym że zostaną wytypowane na podstawie zebranych przez WSSE list producentów owoców miękkich mrożonych dodatkowe trzy województwa (razem 5) w których będą pobierane próbki do badań wg zaproponowanego powyżej schematu

Należy zwrócić uwagę, że celowe jest powołanie Krajowego Laboratorium Referencyjnego ds. Wirusów w żywności pochodzenia niezwierzęcego. Laboratorium takie może powstać na bazie potencjału naukowego NIZP-PZH, wymagało by to jednak dofinansowania ze strony Ministerstwa Zdrowia. Do zadań KLR w ww. zakresie należałoby m.in. opracowanie, walidacja i w razie potrzeby udostępnienie metod analitycznych na potrzeby urzędowej kontroli żywności, dokonywanie oceny ryzyka i opracowywanie planów urzędowej kontroli żywności i monitoringu. Do czasu zakończenia 3. letniego programu monitoringowego laboratorium to może wykonywać badania w ramach kontroli urzędowej; po tym czasie, w zależności od uzyskanych wyników laboratorium przeszkoli i pomoże w drożeniu metod analitycznych do wytypowanych 2-3 laboratoriów WSSE.

MONITORING ZMIENNOŚCI GENETYCZNEJ WIRUSA HAV WYSTĘPUJĄCEGO W KRAJU.

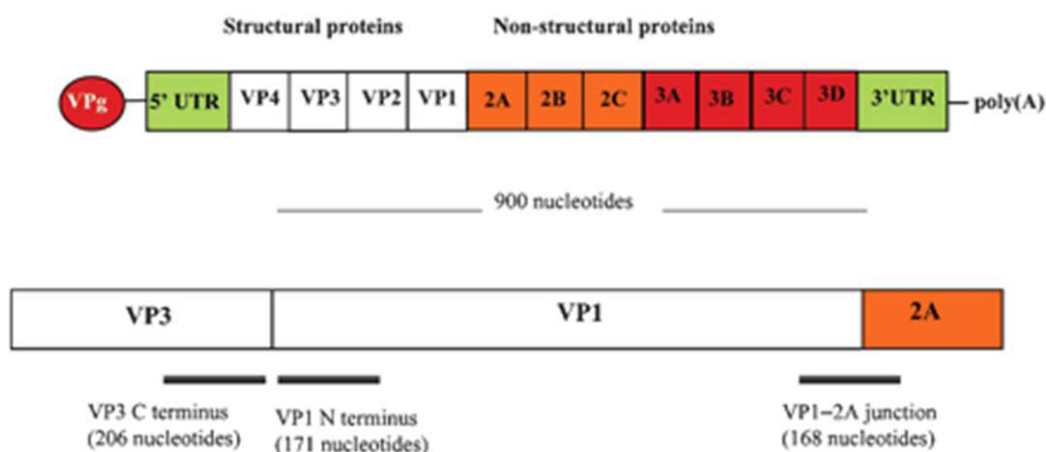
W Polsce dotychczas nie przeprowadzono charakterystyki szczepów wirusa HAV występujących na terenie kraju. Badania jakie prowadzono z zakresu występowania HAV w Polsce dotyczyły wyłącznie obecności przeciwciał u osób z różnych grup wieku lub z grup ryzyka. Dane o genotypach i charakterystyka szczepów wirusa występujących w kraju jest kluczowym elementem w dochodzeniach epidemiologicznych, szczególnie w ogniskach o zasięgu międzynarodowym. Obecnie w Polsce występuje od 46 do około 70 zachorowań rocznie, z tego około 50% związanych jest ze wcześniejszym pobytem za granicą, głównie w krajach o wysokiej endemiczności wzv typu A. W związku z tym wskazane byłoby prowadzenie stałego monitoringu szczepów występujących u osób chorych w Polsce, obejmującego ich charakterystykę genetyczną.

W tym celu powinien zostać pobrany materiał od osób chorych – próbka surowicy i/lub próbka kału. Z przeprowadzonych w ramach ekspertyzy badań wynika, że materiał od osób chorych można pobrać nawet do 26 dnia od wystąpienia objawów. W takich przypadkach materiałem, który należy pobrać jest kał. Materiał taki powinien zostać zabezpieczony przez stację sanitarno-epidemiologiczną i zamrożony, optymalnie w -0°C lub w -20°C . Partia zebranych próbek powinna zostać dostarczona do NIZP-PZH przynajmniej raz w roku lub w przypadku ogniska międzynarodowego w czasie trwania dochodzenia, w warunkach zabezpieczających ich przed rozmrożeniem. Ważne jest aby zabezpieczyć próbki od jak największej liczby osób, ze szczególnym uwzględnieniem próbek od osób, u których w historii narażenia brak jest informacji na temat podróży do krajów endemicznego występowania wzv typu A. Ważne jest także aby do charakterystyki molekularnej trafiała także reprezentatywna liczba próbek od osób,

które podróżowały na tereny endemicznego występowania wzv typu A. W laboratorium NIZP-PZH z próbek materiału od osób chorych zostanie wyizolowane RNA wirusa, jego amplifikacja i sekwencjonowanie.

Charakterystyka molekularna wirusa:

Materiałem genetycznym wirusa HAV jest jednoniciowe, dodatnio spolaryzowane RNA. Genom o długości 7,5 pz, zawiera pojedynczą OFR otoczona na końcach 5' i 3' sekwencjami RNA nie ulegającymi translacji (UTR). Rejon niekodujący położony na końcu 3' jest zakończony nie kodowaną sekwencją poli(A), która bierze czynny udział w replikacji RNA. OFR kodują poliproteinę o masie cząsteczkowej ok. 250 kD. Wirusowa poliproteina jest prekursorowym polipeptydem zawierającym specyficzne domeny rozszczepialne proteolitycznie, w wyniku czego powstają białka strukturalne i niestrukturalne. Poliproteina składa się z 3 głównych regionów, P1, P2 i P3. Region P1 jest przetwarzany na 3 białka strukturalne tworzące kapsyd wirusa: VP1, VP2, VP3 i białko kapsydu (VP4). VP4 jest niezbędna do tworzenia wirionów (nie występuje w dojrzałych cząstkach). Region P3 kodują proteazę C3, która jest odpowiedzialna za cięcie białek strukturalnych. Białka niestrukturalne, które są niezbędne do syntezy RNA i składania wirionów są przetwarzane przez regiony P2 i P3. Fragment P3 zawiera białko 3A, 3B, 3C i 3D.



Rycina 19. Genom wirusa HAV (Costa-Mattioli M et al. J Gen Virol 84 (2003), 3191-3201).

Zróznicowanie genetyczne HAV:

Na podstawie analizy molekularnej w obrębie fragmentu VP1/P2A wyróżniono sześć genotypów (od I do VI). Do jednego genotypu należą szczepy wirusa różniące się od siebie nie więcej niż o 15% nukleotydów (nt). W obrębie genotypu wyróżnia się subgenotypy, które charakteryzują się zmiennością mniejszą niż 7.5%.

Próba charakterystyki genetycznej szczepów wirusa izolowanych od osób chorych oraz ze środowiska w Polsce.

Materiał diagnostyczny: Materiał do badań stanowiły 3 surowice i 3 próbki kału pobrane od pacjentów z wzv typu A. Próbki pochodziły od osób chorych, które podróżowały w marcu do Włoch i które stanowią fragment międzynarodowego ogniska występującego głównie we Włoszech.

Poza tym przebadano 8 archiwalnych próbek ścieków pobranych w 2011 roku z różnych regionów Polski.

Reakcja RT-PCR: Z badanych próbek izolowano materiał genetyczny za pomocą zestawu QIAamp Viral RNA, zgodnie z zaleceniami producenta. Na matrycy wyizolowanego RNA przeprowadzono reakcję RT-PCR z wykorzystaniem zestawu Super Script III one-Step RT-PCR with Platinum Taq (Invitrogen). Zastosowano następujące startery:

HAV1: 5`-CTGGAGTCCATTTGCCAATT-3`;

HAV2: 5`-ATGATGTTTGGATTTTCATCAT-3`.

Reakcję wykrywającą RNA wirusa zapalenia wątroby typu A (WZW A) przeprowadzono w następujących warunkach: 1 cykl – 20 min. w 45°C, 2 min. w temp. 94°C; 35 cykli – 30 sek. w temp. 94°C, 30 sek. w temp. 55°C, 30 sek. w temp. 72°C; 1 cykl – 7 min. w

72°C. Produkt amplifikacji (wielkość 236bp) wykrywano metodą elektroforezy w żelu agarozowym (2%) z dodatkiem barwnika GelRed względem wzorca wielkości (BioRad).

Przygotowanie produktu do sekwencjonowania: Próbkę RNA wyizolowaną z materiałów klinicznych, w których potwierdzono obecność RNA WZW A posłużyła jako matryca w reakcji RT-PCR z wykorzystaniem zestawu Super Script III one-Step RT-PCR with Platinum Taq (Invitrogen). Zastosowano następujące startery:

HAV6.1: 5`-TATGCYGTITCWGGIGCIYTRGAYGG-3`;

HAV10: 5`-TCYTTCATYTCWGTCCAYTTYTCATCATT-3`.

Reakcję przeprowadzono w następujących warunkach: 1 cykl – 10 min. w 22°C, 60 min w 42°C, 5 min. w temp. 95°C; 35 cykli – 30 sek. w temp. 95°C, 30 sek. w temp. 42°C, 30 sek. w temp. 60°C; 1 cykl – 5 min. w 60°C. Produkt powstały po pierwszej reakcji został poddany reamplifikacji z zastosowaniem drugiej pary starterów:

HAV8.2: 5`-GGATTGGTTTCCATTTCARATTGCNAAAYTA-3`;

HAV11: 5`-CTGCCAGTCAGAACTCCRGCWTCATYTC-3`.

Reakcję przeprowadzono w następujących warunkach: 1 cykl – 6 min. w temp. 95°C; 40 cykli – 30 sek. w temp. 95°C, 20 sek. w temp. 60°C, 15 sek. w temp. 72°C. Produkt amplifikacji (wielkość 520bp) wykrywano metodą elektroforezy w żelu agarozowym (2%) z dodatkiem barwnika GelRed względem wzorca wielkości (BioRad). Produkt ten posłużył jako matryca w reakcji sekwencjonowania, która została wykonana w Instytucie Biochemii i Biofizyki (IBB). Do reakcji sekwencjonowania wykorzystano startery:

HAV8.2seq: 5`-GGATTGGTTTCCATTCA-3`;

HAV11seq: 5`-CTGCCAGTCAGAACTCC-3`.

Analiza filogenetyczna:

W celu ustalenia stopnia pokrewieństwa szczepów wirusa HAV izolowanych w Polsce ze szczepami izolowanymi w innych krajach użyto sekwencji dostępnych w bazie GenBank. Informacje na temat tych szczepów znajdują się w tabelach 1 i 2.

Otrzymane sekwencje wirusa HAV zostały złożone za pomocą programu BioNumerics (v.6.6). Ten sam program zastosowano do tworzenia dendrogramu.

Tabela 5. Sekwencje szczepów wirusa HAV izolowane na terenie różnych krajów, użyte do analiz filogenetycznych. Sekwencje z bazy NCBI: www.ncbi.nlm.nih.gov.

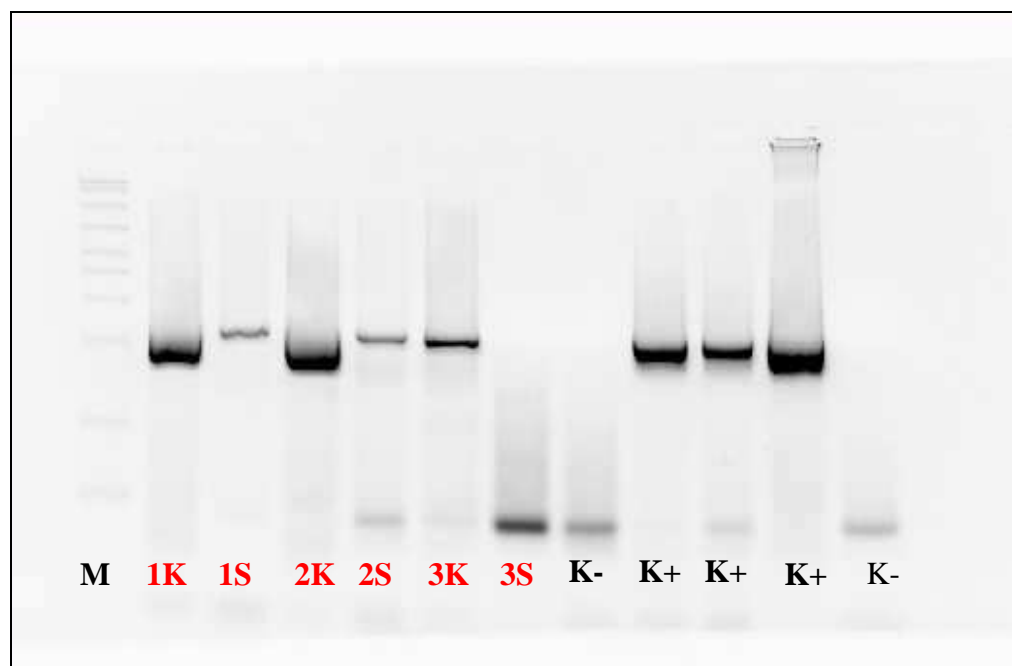
Nr dostępu	Genotyp	Kraj pochodzenia szczepu	Rok izolacji szczepu
AJ505574	IA	Włochy	2003
EU416244	IA	Niemcy	2007/2008
JQ319843	IA	Rosja	2010
EU825860	IA	Niemcy	2007/2008
KF182323	IA	Holandia	2013
KF773842	IA	Włochy	2013
niedostępny	IA	Niemcy	2013
EU825860	IIIA	Niemcy	2007/2008

Tabela 6. Sekwencje szczepów referencyjnych i innych szczepów wirusa HAV użyte do analiz filogenetycznych. Sekwencje z bazy NCBI: www.ncbi.nlm.nih.gov.

Nr dostępu	Genotyp	Nazwa szczepu
AB020564	IA	AH1
NC_001489	IB	Szczep referencyjny
M59808	IB	HM175
M66695	IIIA	NOR21

Wyniki

Wśród 6 próbek pobranych od pacjentów z zapaleniem wątroby, w 5 wykryto materiał genetyczny wirusa wątroby typu A (Ryc 2.). W badanych próbkach ścieków nie wykryto materiału genetycznego HAV.



Rycina 20. Wyniki badania na obecność materiału genetycznego wirusa HAV metodą RT-PCR: M- wzorzec masy, próbki od pacjentów: numer pacjenta (1 – 3), rodzaj badanego materiału: K-kał, S-surowica, K- - kontrola ujemna, K+ - kontrola dodatnia.

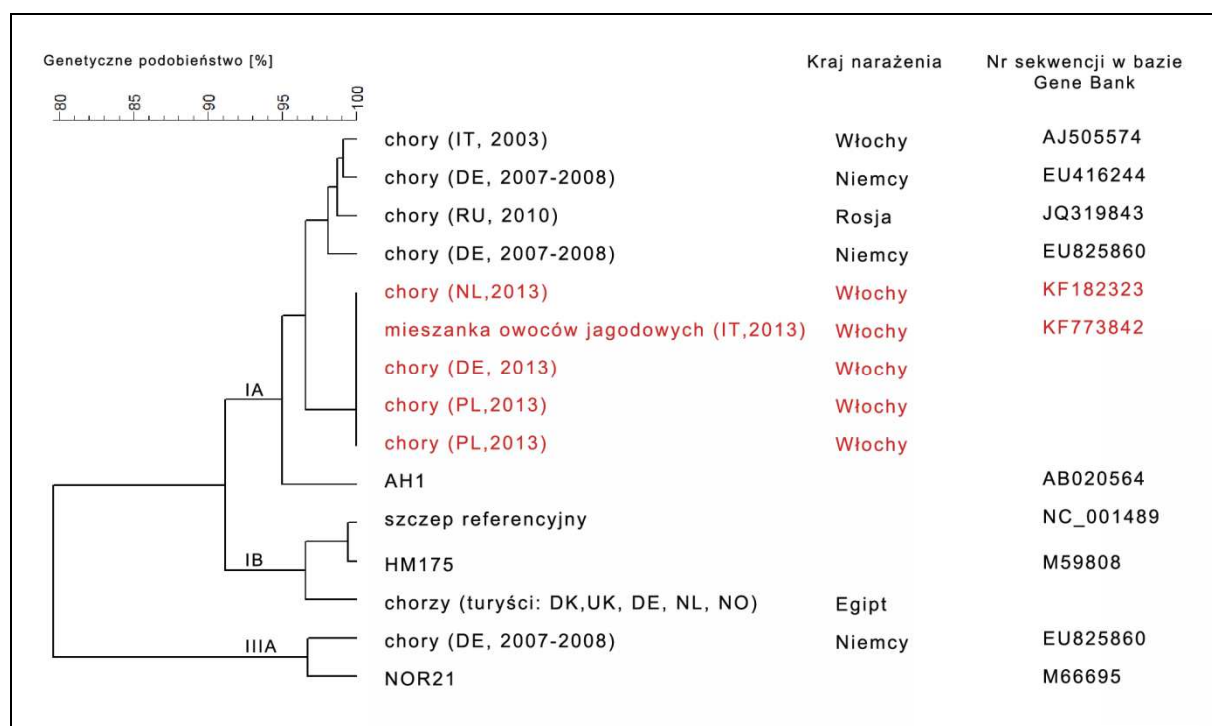
Tabela 7. Informacja o pobranym materiale od chorych

Lp.	Kod próbki	Rodzaj materiłu	Data zachorowania	Data pobrania	Liczba dni pomiędzy datą zachorowania a pobraniem materiłu	Wynik RT-PCR
1	1S	surowica	2013-05-02	2013-05-10	8	pozytywny
2	1K	kał				pozytywny
3	2S	surowica	2013-04-26		14	pozytywny
4	2K	kał				pozytywny
5	3S	surowica	2013-04-14		26	pozytywny
6	3K	kał				pozytywny

Tabela 8. Wyniki sekwencjonowania 5 próbek pochodzących od osób chorych z Polski.

Nr próbki	Rodzaj materiału	Sekwencja
1S	surowica	TTATTTGTCTGTACAGAACAATCAGAGTTCTACTTTCTAGAGCTCCATTGAATTCAAATGCT ATGTTGTCCACTGAGTCCATGATGAGTAGAATTGCAGCTGGAGATTTGGAGTCATCAGTAGA TGATCCTAGATCAGAGGAGGACAGAAGATTTGAGAGTCATATAGAATGTAGGAAACCATACA AAGAATTGAGATTGGAGGTTGGAAAACAAAGACTCAAATATGCTCAGGAAGAATTGTCAAATG AAGTCCTCCACCTCCTAGGAAAATGAAGGGGCTATTTTCACAAGCCAAGATTTCTTTTTT ATACTGAAGAGCATGAAATAATGAAATTTCTTGGAGAGGAGTGACTGCTGATACCAGGGCTT TGAGAAGATTTGGATTTCCCTAGCCGCTGGTAGAAGTGTGTGGACTCTTGAGATGGATGC
1K	kał	AGTAGAATTGCAGCTGGAGATTTGGAGTCATCAGTAGATGATCCTAGATCAGAGGAGGACAG AAGATTTGAGAGTCATATAGAATGTAGGAAACCATACAAAGAATTGAGATTGGAGGTTGGAAA ACAAGACTCAAATATGCTCAGGAAGAATTGTCAAATGAAGTCCCTCCACCTCCTAGGAAAAT GAAGGGGCTATTTTCACAAGCCAAGATTTCTTTTTTATACTGAAGAGCATGAAATAATGAAA TTTTCTTGGAGAGGAGTGACTGCTGATACCAGGGCTTTGAGAAGATTTGGATTTCCCTAGC CGCTGGTAGAAGTGTGTGGACTCTTGAGATGGA
2S	surowica	CTGTCACAGAACAATCAGAGTTCTACTTTCTAGAGCTCCATTGAATTCAAATGCTATGTTGT CCACTGAGTCCATGATGAGTAGAATTGCAGCTGGAGATTTGGAGTCATCAGTAGATGATCCT AGATCAGAGGAGGACAGAAGATTTGAGAGTCATATAGAATGTAGGAAACCATACAAAGAATT GAGATTGGAGGTTGGAAAACAAAGACTCAAATATGCTCAGGAAGAATTGTCAAATGAAGTCC TTCCACCTCCTAGGAAAATGAAGGGGCTATTTTCACAAGCCAAGATTTCTTTTTTATACTGA AGAGCATGAAATAATGAAATTTCTTGGAGAGGAGTGACTGCTGATACCAGGGCTTTGAGAA GATTTGGATTTCCCTAGCCGCTGGTAGAAGTGTGTGGACTCTTGAGATGGA
2K	kał	ACAGAACAATCAGAGTTCTACTTTCTAGAGCTCCATTGAATTCAAATGCTATGTTGTCCACT GAGTCCATGATGAGTAGAATTGCAGCTGGAGATTTGGAGTCATCAGTAGATGATCCTAGATC AGAGGAGGACAGAAGATTTGAGAGTCATATAGAATGTAGGAAACCATACAAAGAATTGAGAT TGGAGGTTGGAAAACAAAGACTCAAATATGCTCAGGAAGAATTGTCAAATGAAGTCCCTCCAC CTCTAGGAAAATGAAGGGGCTATTTTCACAAGCCAAGATTTCTTTTTTATACTGAAGAGC ATGAAATAATGAAATTTCTTGGAGAGGAGTGACTGCTGATACCAGGGCTTTGAGAAGATTTG GATTTCCCTAGCCGCTGGTAGAAGTGTGTGGACTCTTGAGATGGA
3K	kał	GTCTTTTAGTTGTTATTTGTCTGTACAGAACAATCAGAGTTCTACTTTCTAGAGCTCCATTG AATTCAAATGCTATGTTGTCCACTGAGTCCATGATGAGTAGAATTGCAGCTGGAGATTTGGAG TCATCAGTAGATGATCCTAGATCAGAGGAGGACAGAAGATTTGAGAGTCATATAGAATGTAG GAAACCATACAAAGAATTGAGATTGGAGGTTGGAAAACAAAGACTCAAATATGCTCAGGAAG AATTGTCAAATGAAGTCCCTCCACCTCCTAGGAAAATGAAGGGGCTATTTTCACAAGCCAAGA TTTCTTTTTTATACTGAAGAGCATGAAATAATGAAATTTCTTGGAGAGGAGTGACTGCTGA TACCAGGGCTTTGAGAAGATTTGGATTTCCCTAGCCGCTGGTAGAAGTGTGTGGACTCTTG AGATGGATGCCG

Analiza porównawcza wykazała, że szczepy wyizolowane od osób chorych z Polski są identyczne ze szczepami wirusa HAV izolowanymi w ognisku wzw A, które wystąpiło na terenie Włoch. Szczepy charakterystyczne dla sekwencji ogniskowej izolowano także od osób w innych krajach, zarówno takich, które podróżowały lub nie podróżowały do Włoch. Zsekwencjonowane szczepy należą do genotypu IA.



Rycina 21. Genetyczne podobieństwo szczepów HAV na podstawie wyników sekwencjonowania regionu VP1-2A (348pz, odpowiada pozycji 2916nt-3263nt w genomie szczepu referencyjnego HAV (typ dziki, NC_001489). Szczepy AH1, HM175 i NOR21 reprezentują odpowiednio genotyp IA, IB oraz IIIA. Kolorem czerwonym oznaczono szczepy pochodzące z ogniska.

OPRACOWANIE ZASAD NADZORU NAD PRODUKCJĄ I PRZETWÓRSTWEM OWOCÓW MIĘKKICH W CELU OGRANICZENIA RYZYKA ZANIECZYSZCZENIA WIRUSAMI, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM WZW A

Wirusy są zaliczane do istotnych przyczyn wywołujących zatrucia pokarmowe u ludzi. Po raz pierwszy w 2006 roku, odnotowano, że wirusy w żywności stanowiły drugi - po *Salmonella* spp. czynnik etiologiczny chorób o charakterze epidemicznym u ludzi. Wywołały one 10,2% epidemii, obejmujących 13 345 osób, z których 3 zmarły. W porównaniu do 2005 roku liczba epidemii na tle wirusowym wzrosła o 88,3%, a liczba objętych nimi osób niemal się podwoiła. Wydaje się, że w latach poprzednich liczba tego typu chorób mogła być niedoszacowana. Według Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w 2009 roku stwierdzono, że wirusy były odpowiedzialne za 19% wszystkich przypadków zachorowań w krajach Unii Europejskiej.

W Polsce po raz pierwszy norowirusy, jako czynnik etiologiczny ogniska, stwierdzono w 2004 roku. W 2009 roku liczba zarejestrowanych ognisk zatruc pokarmowych w naszym kraju wynosiła 70. Rzeczywista ich liczba jest nieznana. Związane to jest z brakiem rejestracji większości zatruc pokarmowych na tle wirusowym oraz trudną metodyką ich wykrywania.

Według opinii Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) norowirusy oraz wirus zapalenia wątroby typu A w świeżych produktach (np. warzywa), mrożonych owocach, żywności gotowej do spożycia oraz żywności pochodzenia morskiego, takiej jak ostrygi, małże zostały zaliczone do najważniejszych zagrożeń.

W ramach Systemu Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznej Żywności i Paszach (RASFF) w latach 2000 - 2010 wpłynęły zgłoszenia dotyczące zanieczyszczeń żywności norowirusami jak i wirusem zapalenia wątroby typu A. Zdecydowanie częściej w żywności wykrywano norowirusy niż wirus zapalenia wątroby typu A. W 2006 roku wykryto najwięcej żywności zanieczyszczonej norowirusami, na przestrzeni lat 2000 - 2010. Stwierdzono prawie 6-krotnie więcej zachorowań wywołanych norowirusami niż wirusem zapaleniem wątroby typu A. Owoce morza stanowiły główne źródło zatruc u ludzi.

ZALECENIA W CELU OGRANICZENIA RYZYKA ZANIECZYSZCZENIA

OWOCÓW MIĘKKICH WIRUSAMI

Według FAO/WHO należy wymienić trzy główne źródła zanieczyszczenia wirusami żywności:

- fekalia i nieczystości pochodzące od ludzi,
- chore osoby związane ze zbieraniem owoców oraz ich przetwórstwem,
- zwierzęta będące siedliskiem zoonotycznych wirusów.

Żywność może być nośnikiem w przenoszeniu wirusów na ludzi, co powoduje rozprzestrzenianie zachorowań. Wirusy mogą dostać się do żywności w ciągu całego cyklu produkcyjnego i przechowalnictwa, najczęściej jednak zanieczyszczeniu ulegają surowce.

Efektywne działania w zakresie ograniczania rozprzestrzeniania się wirusów powinno polegać na stosowaniu odpowiednich zabezpieczeń i kontroli na wszystkich

poziomach produkcji żywności, niż na usuwaniu lub inaktywacji tych wirusów z zanieczyszczonej żywności.

Organy Państwowej Inspekcji Sanitarnej powinny kilkakrotnie w ciągu sezonu kontrolować postępowanie i przestrzeganie zasad przez producentów, w celu zapewnienia odpowiednich warunków higienicznych i sanitarnych na wszystkich etapach produkcji żywności.

Ze względu na możliwość zanieczyszczenia wirusami owoców i warzyw, organy Państwowej Inspekcji Sanitarnej powinny wzmożyć nadzór w zakresie wdrożenia i przestrzegania zasad systemu HACCP na wszystkich etapach produkcji żywności: zbioru, skupu, transportu, przetwórstwa i przechowywania, podejmując następujące działania:

Etap zbioru:

Prawidłowa ocena zagrożeń środowiskowych jest szczególnie ważna, gdyż następująca potem kontrola poszczególnych etapów podczas produkcji nie jest w stanie wyeliminować pierwotnych zanieczyszczeń. Główne źródła wirusów w żywności, mogące pojawić się podczas pierwotnej produkcji, obejmują wodę, glebę, nawozy, ścieki. Mogą być one zanieczyszczone fekaliami pochodzącymi od ludzi lub zwierząt podczas np. powodzi, wylewów.

Nadzór nad wdrożeniem odpowiednich warunków sanitarno-higienicznych przez wzmożenie kontroli zewnętrznych i audytów na plantacjach powinien polegać na:

- kontroli jakości wody stosowanej do podlewania (nie może być zanieczyszczona fekaliami lub wymiotami ludzkimi). Należy zwrócić uwagę na źródło pochodzenia wody oraz sposoby i warunki jej dostarczania. Woda do upraw powinna spełniać następujące kryteria mikrobiologiczne: grupa coli poniżej 50 000 w 100ml, gr. coli termotolerancyjne

poniżej 20 000 w 100ml, paciorkowce kałowe poniżej 10 000 w 100ml, Salmonella nieobecne.

- kontroli nawożenia płodów rolnych (nie wolno stosować odchodów ludzkich, które mogą być zanieczyszczone chorobotwórczymi wirusami mogącymi utrzymywać się nawet przez kilka miesięcy),

- kontroli czy zabiegi akwakultury nie są stosowane na powierzchniach podejrzanych o zanieczyszczenia osadami dennymi,

- sprawdzaniu czy jest zapewniony dostęp wszystkich pracowników do toalet w pobliżu plantacji oraz dostęp do czystej, bieżącej wody do mycia i suszenia rąk.

W tym celu należy sprawdzać czy toalety (stałe lub przenośne) są:

- umieszczone blisko powierzchni plantacji, w zamkniętym obszarze pola, gdzie pracuje personel,
- ułożone w miejscach w pobliżu powierzchni produkcyjnej ale bez bezpośredniego dostępu do nich,
- w wystarczającej ilości dla zatrudnionego personelu,
- tak zaprojektowane, że zapewniają higieniczne usuwanie odpadów i zanieczyszczeń,
- tak zaprojektowane, że gwarantują brak możliwości przecieków do wód gruntowych,
- są utrzymywane w odpowiednich warunkach sanitarnych i dobrym stanie (zapewnione mydło oraz instrukcje),
- myte i dezynfekowane zgodnie z przyjętymi procedurami,
- oddzielne dla gości i personelu (o ile to możliwe).

Ponadto należy:

- egzekwować mycie rąk przed każdorazowym wejściem na pole (instrukcja).

Zalecane jest stosowanie rękawiczek jednorazowych,

- przestrzegać zakazu pracy osób z objawami takimi jak: biegunka, wymioty,

temperatura, kaszel lub ostra żółtaczka,

- sprawdzać posiadanie czystej odzieży przy wykonywaniu pracy,

- przeprowadzać kontrolę szkoleń pracowników w zakresie higieniczno-sanitarnym,

- egzekwować zakaz palenia i plucia podczas wykonywania zajęć,

- sprawdzać posiadanie procedur dotyczących mycia i dezynfekcji

zanieczyszczonych powierzchni,

- przeprowadzać kontrolę czystości i jakości stosowanych pojemników, naczyń do zbioru,

- przestrzegać stosowania zasad Dobrej Praktyki Higienicznej, Produkcyjnej i

Rolniczej oraz Standardowych Procedur Operacyjnych Sanitacji przez

pracowników,

- sprawdzać zakaz wejścia osób nieupoważnionych w tym dzieci, które nie powinny znajdować się w obszarze zbioru,

- sprawdzać przestrzeganie przez przedsiębiorców obowiązku identyfikacji/

śledzenia surowców i produktów według zasady: „krok w tył, krok w przód” (np. lista

dostawców i odbiorców) oraz stosowanie przez nich odpowiednich procedur w tym

zakresie.

Etap skupu:

Przeprowadzanie regularnych kontroli, mających na celu sprawdzenie czy jest:

- zapewniony dostęp wszystkim pracownikom do toalet (stałych lub przenośnych) i urządzeń do mycia rąk pod bieżącą wodą,

- zapewniona czysta odzież przy wykonywaniu pracy,

- przeprowadzana kontrola czystości i jakości stosowanego sprzętu, opakowań, oraz warunków transportu,
- respektowany zakaz pracy dla osób z objawami takimi jak: biegunka, wymioty, temperatura, lub ostrej żółtaczki,
- sprawdzany zakaz wejścia osób nieupoważnionych w tym dzieci,
- przestrzegane stosowania zasad Dobrej Praktyki Higienicznej, Produkcyjnej przez pracowników,
- przestrzegane przez przedsiębiorców obowiązku identyfikacji/śledzenia surowców i produktów według zasady: „krok w tył, krok w przód” (np. lista dostawców i odbiorców) oraz stosowane przez nich odpowiednich procedur w tym zakresie

Etap produkcji żywności

W trakcie rutynowej kontroli zwrócenie szczególnej uwagi na:

- jakość wody stosowanej podczas produkcji,
- zapewnienie dostępu wszystkim pracownikom do toalet i urządzeń do mycia rąk w bieżącej wodzie,
- higienę zatrudnionego personelu (np. czysta odzież robocza),
- czystość i jakość stosowanego sprzętu i stanowisk pracy,
- kontrolę czystości opakowań,
- krzyżowanie się „dróg brudnych i czystych” ,
- przestrzeganie zakazu pracy osób z objawami takimi jak: biegunka, wymioty temperatura lub ostrej żółtaczki,
- mycie i dezynfekcję, które powinny odbywać się zgodnie z ustalonymi, zatwierdzony procedurami,
- sprawdzanie prawidłowego zakupu i stosowania środków dezynfekcyjnych, z

uwzględnieniem działania przeciwwirusowego,

- kontrolę odbycia odpowiednich szkoleń przez personel w zakresie higieny personelu i produkcji oraz kontrolę ich realizacji,
- przestrzeganie przez przedsiębiorców obowiązku identyfikalności/śledzenia surowców i produktów według zasady: „krok w przód” (np. lista dostawców i odbiorców) oraz stosowanie przez nich odpowiednich procedur w tym zakresie,
- przestrzegania stosowania zasad Dobrej Praktyki Higienicznej, Produkcyjnej przez pracowników.

Etap transportu i przechowywania

Organy PIS powinny podejmować działania w zakresie:

- przeprowadzania dokładnej kontroli czystości i jakości stosowanego sprzętu i urządzeń,
- sprawdzania warunków i sposobu przechowywania produktów,
- sprawdzania posiadania czystej odzieży przez personel przy wykonywaniu pracy,
- przestrzeganie zakazu pracy osób z objawami takimi jak: biegunka, wymioty, temperatura lub ostrej żółtaczki,
- przestrzegania stosowania zasad Dobrej Praktyki Higienicznej, Produkcyjnej przez pracowników,
- sprawdzanie zakazu wejścia osób nieupoważnionych, w tym dzieci.

Konieczne jest zorganizowanie szkoleń kaskadowych dla pracowników Państwowej Inspekcji Sanitarnej, zawierające informacje dotyczące:

- biologii wirusów,
- charakterystyki zatruc pokarmowych pochodzenia wirusowego
- występowanie patogennych dla człowieka wirusów w żywności,

- zalecenia w celu ograniczenia ryzyka zanieczyszczenia owoców miękkich wirusami

Materiały do szkoleń mogą zostać opracowane na bazie niniejszego opracowania.

OPRACOWANIE ZASAD AKCJI INFORMACYJNEJ DLA PLANTATORÓW I PRZETWÓRCÓW OWOCÓW MIĘKKICH

Konieczne jest opracowanie i wdrożenie akcji informacyjnej dla plantatorów.

Podstawowe zagadnienia podano poniżej:

Środowisko upraw rolniczych: gleba i woda:

- woda - stosowana do podlewania upraw musi być czysta, a przede wszystkim nie może być zanieczyszczona fekaliami ludzkimi i zwierzęcymi,
- nawożenie płodów rolnych - nie wolno stosować odchodów ludzkich i zwierzęcych,

Sprzęt stosowany podczas zbioru, skupu, produkcji

- powinien być czysty. Mycie i dezynfekcja powinna odbywać się zgodnie z ustalonymi procedurami,

Pracownicy:

- przy zbiorze na polu i produkcji – muszą korzystać z toalet,
- przed rozpoczęciem pracy, a szczególnie po wyjściu z toalety, muszą każdorazowo myć ręce mydłem pod bieżącą wodą,
- z objawami chorobowymi takimi jak: biegunka, wymioty, żółtaczka nie mogą uczestniczyć przy zbiorze, produkcji, sprzedaży żywności, przygotowywaniu posiłków,

Przedsiębiorca:

- musi przestrzegać zasad Dobrej Praktyki Rolniczej (GAP), Dobrej Praktyki Higienicznej (GHP) oraz Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP),
- musi zapewnić pracownikom dostęp do toalet i urządzeń do mycia rąk mydłem w bieżącej wodzie,
- musi zapobiegać krzyżowaniu się dróg produkt/surowiec,

- musi zapewnić odpowiednie warunki i sposób przechowywania produktów,
- musi zapewnić, na każdym etapie produkcji, możliwość prześledzenia drogi surowców „krok w tył, krok w przód” (lista dostawców i odbiorców),

Konsument:

- powinien przestrzegać zasad higieny,
- myć owoce i warzywa wodą przeznaczoną do spożycia przez ludzi.

Należy więc:

Zachować zasady higieny „od pola do stołu”, czyli podczas zbioru, skupu, produkcji i przetwarzania w zakładzie produkcyjnym, transporcie, sprzedaży oraz przyrządzania posiłków.

Podczas kontroli na wszystkich etapach produkcji owoców miękkich należy sprawdzać szkolenia pracowników ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień:

- możliwość przenoszenia i zanieczyszczenia wirusami .
- potencjalnych źródeł i dróg przekazywania ludzkich wirusów jelitowych .
- środków ochronnych dla zapobiegania zanieczyszczenia fekaliami wody stosowanej w produkcji pierwotnej
- ryzyka związanego ze stosowaniem ludzkich odchodów jako nawozów
- odporność wirusów na warunki środowiskowe
- możliwość przetrwania chorobotwórczych w żywności i podczas jej przetwarzania;
- okresy inkubacji wirusów pokarmowych , specjalnie NoV i HAV
- okresy nosicielstwa po zakończonej chorobie, nawet po ustąpieniu objawów klinicznych

- zakaźność wymiocin i odchodów
- Procedury czyszczenia i dezynfekcji skażonych powierzchni .
- Higieny osobistej, Właściwe praktyki mycia rąk i znaczenie ścisłego przestrzegania instrukcji mycia rąk w każdym czasie, zwłaszcza po kontakcie z odchodami lub wymiocinami. Wskazane jest, aby mieć dokumentację instrukcji mycia rąk udzielonego nowym pracownikom.
- możliwość, że jeśli jeden pracownik lub członek gospodarstwa domowego jest chory na chorobę wirusową, chorobą wirusową , to inni mogą być również zainfekowani .

•potrzeba utrzymania dzieci z dala od żywności, upraw i miejsc przechowywania żywności,

- Procedury usuwania skażonych produktów spożywczych.

Piśmiennictwo

Baumann A. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w 2008 roku. *Przegl Epidemiol.* 2010; 64(2): 235-237.

Baumann A. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w latach 2006-2007. *Przegl Epidemiol.* 2009; 63(2): 241-244.

Baumann-Popczyk A. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w 2009 roku. *Przegl Epidemiol.* 2011;65(2): 255-258.

Baumann-Popczyk A. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w 2010 roku. *Przegl Epidemiol.* 2012;66(2):273-276.

Baumann-Popczyk A. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w 2011 roku. *Przegl Epidemiol.* 2013;67(2):235-8, 347-348.

Bura M, Bura A, Adamek A, Michalak M, Marszałek A, Hryckiewicz K, Mozer-Lisewska I. Seroprevalence of hepatitis A virus antibodies (anti-HAV) in adult inhabitants of Wielkopolska region, Poland - the role of simple demographic factors. *Ann Agric Environ Med.* 2012;19(4): 738-41.

Calder L., Simmons G., Thornley C., Taylor P., Pritchard K., Greening G., Bishop J. An outbreak of hepatitis A associated with consumption of raw blueberries. *Epidemiol Infect.* 2003, 131(1): 745–751.

Carvalho C, et al. A possible outbreak of hepatitis A associated with semi-dried tomatoes, England, July-November 2011. *Euro Surveill* 2012. 17(6).

Centers for Disease Control and Prevention, Hepatitis A Associated with Consumption of Frozen Strawberries -- Michigan, March 1997. *MMWR* 1997. 46(13).

Cianciara J, Gładysz A, Juszczuk J, Drozdowicz A, Duszczyk E, Łoch T, et al. Próba oceny sytuacji epidemicznej zakażeń HAV w Polsce – wyniki badań przesiewowych anty-HAV klasy IgG. W: Hepatitis A Compendium, red. J. Juszczuk, Warszawa: Wyd. SKB, 1997: 29-35.

Cianciara J. Hepatitis A shifting in Poland and Eastern Europe. *Vaccine* 2000; 18 (Suppl. 1): S68-S70.

Codex Alimentarius CAC/GL 79-2012. Guidelines on the Application General Principles of Food Hygiene to the Control of Viruses in Food

Cook N, Bridger J, Kendall K, Gomara MI, El-Attar L, Gray J. The zoonotic potential of rotavirus. *J Infect* 2004; 48: 289–302.

Costa-Mattioli M et al. *J Gen Virol* 84 (2003), 3191-320).

Dąbrowska MM, Nazzal K, Wiercinska-Drapalo A. Hepatitis A and hepatitis A virus/HIV coinfection in men who have sex with men, Warsaw, Poland, September 2008 to September 2009. *Euro Surveill.* 2011 Aug 25;16(34).

Donnan EJ, et al. A multistate outbreak of hepatitis A associated with semidried tomatoes in Australia, 2009. *Clin Infect Dis* 2012. 54(6):775-81.

CAC/GL 79/2012: Guidelines on the application of general principles of food Hygiene to the control of viruses in food.

ECDC. Outbreak of hepatitis A virus infection in four Nordic countries. 2013. European Centre for Disease Prevention and Control.

ECDC. Outbreak of hepatitis A virus infection in travellers returning from Egypt. 2013. European Centre for Disease Prevention and Control.

European Centre for Disease Prevention and Control, Annual Epidemiological Report 2012. Reporting on 2010 surveillance data and 2011 epidemic intelligence data. 2013, ECDC: Stockholm.

European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. EFSA Journal, 2013. 11.

EFSA Journal 2011;9(7):2190: Scientific Opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses.

FAO/WHO. 2008. Viruses In Food: Scientific advice to support risk management activities: meeting report. Microbiological Risk Assessment Series. No.13

Falkenhorst G, Krusell L, Lisby M, Madsen SB, Böttiger BE, Mølbak K. Imported frozen raspberries cause a series of norovirus outbreaks in Denmark, 2005, Euro Surveill, 2005 ;10 (38): pii=2795, <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2795>

Frank C, et al. Major outbreak of hepatitis A associated with orange juice among tourists, Egypt, 2004. Emerg Infect Dis 2007. 13(1):156-8.

Gallot C, et al. Hepatitis A associated with semidried tomatoes, France, 2010. Emerg Infect Dis 2011. 17(3):566-7.

Gerba CP, Kennedy D. Enteric virus survival during household laundering and impact of disinfection with sodium hypochlorite. Appl Environ Microbiol 2007. 73(14):4425-8.

Gut W. Zakażenia norowirusami. Red. W. Magdzik, D. Naruszewicz-Lesiuk, A. Zieliński. Wyd. 6 aktual. i poszerz. Bielsko-Biała: alfa-medica press, 2007:369-371.

Hjertqvist M, Johansson A, Svensson N, Abom PE, Magnusson C, Olsson M, Hedlund KO, Andersson Y. Four outbreaks of norovirus gastroenteritis after consuming

raspberries, Sweden, June-August 2006. Euro Surveill. 2006;11(36):pii=3038.[http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx? ArticleId=3038](http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3038)

ISO/TS 15216-1: Microbiology of food and animal feed – Horizontal method for determination of hepatitis A viruses and norovirus in food using Real-time RT-PCR, Part 1: Method for quantification.

Iturriza-Go´mara M, Desselberger U, Gray J. Molecular epidemiology of rotaviruses: genetic mechanisms associated with diversity. In Viral Gastroenteritis, Desselberger U, Gray J (eds). Elsevier Science: Amsterdam, 2003; 317–344.

Jacobsen KH, Koopman JS. Declining hepatitis A seroprevalence: a global review and analysis. Epidemiol Infect 2004. 132(6):1005-22.

Janaszek-Seydlitz W, Bucholc B, Wiatrzyk A. Poziom przeciwciał przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu A u osób z terenu Warszawy. Przegl Epidemiol. 2007; 61(4): 675-682.

John, D.E. and J.B. Rose, Review of factors affecting microbial survival in groundwater. Environ Sci Technol 2005. 39(19):7345-56.

Korsager B, Hede S, Bøggild H, Böttiger BE, Mølbak K. Two outbreaks of norovirus infections associated with the consumption of imported frozen raspberries, Denmark, May-June 2005. EuroSurveill.2005;10(25):pii=2729.<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx? ArticleId=2729>

Korsager B, Hede S, Bøggild H, Böttiger BE, Mølbak K. Two outbreaks of norovirus infections associated with the consumption of imported frozen raspberries, Denmark, May-June 2005. Euro Surveill. 2005 Jun 23;10(6):E050623.1.

Magdzik W, Czarkowski MP. Zmiany w endemiczności wirusowego zapalenia wątroby typu A (wzw A) w Polsce. Przegl Epidemiol. 2004; 58(1): 3-8.

Magdzik W. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w 2003 roku. Przegl Epidemiol. 2005;59(2):289-295.

Magdzik W. Wirusowe zapalenie wątroby typu A. Stan wiedzy i działalności praktycznej w zakresie zapobiegania i zwalczania zachorowań. Warszawa 2005.

Magdzik W. Wirusowe zapalenie wątroby typu A. W: Choroby zakaźne i pasożytnicze – epidemiologia i profilaktyka. Red. W. Magdzik, D. Naruszewicz-Lesiuk, A. Zieliński. Wyd. 6 aktual. i poszerz. Bielsko-Biała: alfa-medica press, 2007:325-329.

Maunula L, Roivainen M, Keränen M, Mäkelä S, Söderberg K, Summa M, von Bonsdorff CH, Lappalainen M, Korhonen T, Kuusi M, Niskanen T. Detection of human norovirus from frozen raspberries in a cluster of gastroenteritis outbreaks. Euro Surveill. 2009;14(49): pii= 19435. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19435>

Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M., Tauxe R.V. (1999): Food-related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases, 5, 607–625.

Mintz PD, Lipton KS. Criteria for donor deferral in known or suspected common source outbreaks of hepatitis A virus infection. AABB Association Bulletin 2004. 04-08.

Niu MT et al. Multistate outbreak of hepatitis A associated with frozen strawberries. J Infect Dis. 1992, 166(3): 518-24.

Nordic Outbreak Investigation Team C. Joint analysis by the Nordic countries of a hepatitis A outbreak, October 2012 to June 2013: frozen strawberries suspected. Euro Surveill. 2013 Jul 4;18(27).

PN-ISO 16649-2:2004: „Liczba bakterii β -glukuronidazo-dodatnich. Metoda płytkowa w 44 °C.

Pebody RG, et al. Foodborne outbreaks of hepatitis A in a low endemic country: an emerging problem? *Epidemiol Infect* 1998. 120(1):55-9.

Polz-Dacewicz M, Policzkiwicz P, Badach Z. Changing epidemiology of hepatitis A virus infection – a comparative study in Central Eastern Poland (1990-1999). *Med Sci Monit* 2000; 6(5): 989-993.

PN-EN 1499:2013-07E Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne -- Higieniczne mycie rąk -- Metoda badania i wymagania (faza 2/etap 2)

PN-EN 1500:2013-07E Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne - Higieniczna dezynfekcja rąk metodą wcierania -- Metoda badania i wymagania (faza 2/etap 2)

Ramsay CN, Upton PA. Hepatitis A and frozen raspberries. *Lancet*. 1989;1(8628):43-44.

Reid TM, Robinson HG. Frozen raspberries and hepatitis A. *Epidemiology and Infection*. 1987;98(1):109-12.

Robesyn E, et al. An outbreak of hepatitis A associated with the consumption of raw beef. *J Clin Virol* 2009. 44(3):207-10.

Sitarska-Gołębiowska J. Wirusowe zapalenie wątroby typu A w Polsce w 2000 roku. *Przegl Epidemiol*. 2002; 56(2):329-334.

Vasickova P., Dvorska L, Lorencova A., Pavlik I. Viruses as a cause of foodborne diseases: a review of the literature. *Vet. Med. – Czech*, 50, 2005 (3): 89–104.

Wadl M, Scherer K, Nielsen S, Diedrich S, Ellerbroek L, Frank C, Gatzer R, Hoehne M, Johne R, Klein G, Koch J, Schulenburg J, Thielbein U, Stark K, Bernard H. Food-borne norovirus-outbreak at a military base, Germany, 2009. *BMC Infect Dis*. 2010,10:30.

Yvan J.F et al. for the National Hepatitis A Investigation Team. A Multistate, Foodborne Outbreak of Hepatitis A. *N Engl J Med* 1999; 340:595-602.

PRZEPROWADZENIE BADAŃ LABORATORYJNYCH W CELU OKREŚLENIA GENOTYPÓW WIRUSÓW WIRUSOWEGO ZAPALENIA WĄTROBY TYPU A WYWOŁUJĄCEGO ZACHOROWANIA LUDZI W POLSCE

**CHARAKTERYSTYKA GENETYCZNA SZCZEPÓW WIRUSA WZW A
IZOLOWANYCH OD CHORYCH W POLSCE, Z UWZGLĘDNIENIEM
SEKWENCJONOWANIA IZOLOWANEGO Z SUROWICY PACJENTÓW RNA
WIRUSA.**

**ZGROMADZENIE PRÓBEK KRWI OD CHORYCH
ANALIZA Z WYKORZYSTANIEM TECHNIKI RT-PCR, SEKWENCJONOWANIE RNA
OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ**

Materiał diagnostyczny: Materiał do badań stanowiły 3 surowice i 3 próbki kału pobrane od pacjentów z zapaleniem wątroby oraz 8 archiwalnych próbek ścieków pobranych w 2011 roku.

Reakcja RT-PCR: Z badanych próbek izolowano materiał genetyczny za pomocą zestawu QIAamp Viral RNA, zgodnie z zaleceniami producenta. Na matrycy wyizolowanego RNA przeprowadzono reakcję RT-PCR z wykorzystaniem zestawu Super Script III one-Step RT-PCR with Platinum Taq (Invitrogen). Zastosowano następujące startery:

HAV1: 5`-CTGGAGTCCATTTGCCAATT-3`;

HAV2: 5`-ATGATGTTTGGATTTTCATCAT-3`.

Reakcję wykrywającą RNA wirusa zapalenia wątroby typu A (WZW A) przeprowadzono w następujących warunkach: 1 cykl – 20 min. w 45°C, 2 min. w temp. 94°C; 35 cykli – 30 sek. w temp. 94°C, 30 sek. w temp. 55°C, 30 sek. w temp. 72°C; 1 cykl – 7 min. w 72°C. Produkt amplifikacji (wielkość 236bp) wykrywano metodą elektroforezy w żelu agarozowym (2%) z dodatkiem barwnika GelRed względem wzorca wielkości (BioRad).

Wśród 6 próbek pobranych od pacjentów z zapaleniem wątroby w 5 wykryto materiał genetyczny wirusa wątroby typu A. W badanych próbkach ścieków nie wykryto materiału genetycznego WZW A.

Przygotowanie produktu do sekwencjonowania: Próbkę RNA wyizolowane z materiałów klinicznych, w których potwierdzono obecność RNA WZW A posłużyły jako matryca w reakcji RT-PCR z wykorzystaniem zestawu Super Script III one-Step RT-PCR with Platinum Taq (Invitrogen). Zastosowano następujące startery:

HAV6.1: 5`-TATGCYGTITCWGGIGCIYTRGAYGG-3`;

HAV10: 5`-TCYTTTCATYTCWGTCCAYTTYTCATCATT-3`.

Reakcję przeprowadzono w następujących warunkach: 1 cykl – 10 min. w 22°C, 60 min w 42°C, 5 min. w temp. 95°C; 35 cykli – 30 sek. w temp. 95°C, 30 sek. w temp. 42°C, 30 sek. w temp. 60°C; 1 cykl – 5 min. w 60°C. Produkt powstały po pierwszej reakcji został poddany reamplifikacji z zastosowaniem drugiej pary starterów:

HAV8.2: 5`-GGATTGGTTTCCATTTCARATTGCNAAAYTA-3`;

HAV11: 5`-CTGCCAGTCAGAACTCCRGCWTCATYTC-3`.

Reakcję przeprowadzono w następujących warunkach: 1 cykl – 6 min. w temp. 95°C; 40 cykli – 30 sek. w temp. 95°C, 20 sek. w temp. 60°C, 15 sek. w temp. 72°C. Produkt amplifikacji (wielkość 520bp) wykrywano metodą elektroforezy w żelu agarozowym (2%) z dodatkiem barwnika GelRed względem wzorca wielkości (BioRad). Produkt ten posłużył jako matryca w reakcji sekwencjonowania, która została wykonana w Instytucie Biochemii i Biofizyki (IBB). Do reakcji sekwencjonowania wykorzystano startery:

HAV8.2seq: 5`-GGATTGGTTTCCATTCA-3`;

HAV11seq: 5`-CTGCCAGTCAGAACTCC-3`.

Załącznik 1. Klasyfikacja przypadków i kryteria rozpoznania wirusowego zapalenia wątroby typu A (do celów epidemiologicznych).

Przypadek możliwy (podejrzany) – nie dotyczy.

Przypadek prawdopodobny – każda osoba spełniająca kryteria kliniczne i epidemiologiczne.

Przypadek potwierdzony – każda osoba spełniająca kryteria kliniczne i laboratoryjne.

a. Kryteria kliniczne. Każda osoba, u której występują objawy choroby o wyraźnie zauważalnym początku (np. zmęczenie, bóle brzucha, brak apetytu, mdłości i wymioty) oraz co najmniej jedno z następujących trzech kryteriów:

- gorączka,
- żółtaczka,
- podwyższony poziom transaminaz w surowicy krwi.

b. Kryteria laboratoryjne. Co najmniej jedno z następujących trzech kryteriów:

- wykrycie kwasu nukleinowego wirusa zapalenia wątroby typu A w surowicy krwi lub w kale,
- wykazanie obecności swoistych przeciwciał przeciw wirusowi zapalenia wątroby typu A,
- wykrycie antygeny wirusa zapalenia wątroby typu A w kale.

c. Kryteria epidemiologiczne. Co najmniej jedno z następujących czterech kryteriów:

- przeniesienie z człowieka na człowieka,
- narażenie przez to samo źródło,
- narażenie przez skażoną żywność/wodę pitną,
- narażenie środowiskowe.