



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

e-ISSN: 2667-8381

Ömer ÇAKMAK^{1a}
Ulaş ACARÖZ^{2b}
Hüseyin GÜN^{1c}

¹İstanbul Esenyurt Üniversitesi
Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu,
Gastronomi ve Mutfak Sanatları
Bölümü, İstanbul

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve
Teknolojisi A.D., Afyon

ORCID^a: 0000-0002-7898-1764

ORCID^b: 0000-0002-1533-4519

ORCID^c: 0000-0002-1879-4414

*Sorumlu Yazar: Ömer ÇAKMAK
E-Posta: omercakmak@esenyurt.edu.tr

Geliş Tarihi: 11.01.2022

Kabul Tarihi: 07.04.2022

13 (1): 11-25, 2022

DOI: 10.38137/vftd.1056066

Makale atfı

Çakmak, Ö ve ark. (2022). Halk sağlığı açısından önemli gıda kaynaklı viral etkenler, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 13 (1), 11-25. DOI: 10.38137/vftd.1056066

HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMLİ GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLER

ÖZET. Son yıllarda gıda kaynaklı viral enfeksiyonlar artan bir önem kazanmaktadır. Bu derleme çalışması, gıda kaynaklı virüsler ile ilgili literatür ve bulgular hakkında bir güncelleme sağlamaktadır. Virüsler düşük enfeksiyon dozuna sahip olan stabil ve enfektivite kaybı olmaksızın gıdalarda uzun süre kalabilen zorunlu hücre içi mikroorganizmalardır. Bu nedenle gıdalar viral etkenlerin insanlara bulaşmasında vektör durumundadır. Mide asiditesi, bağırsak enzimleri ile alkali şartlar ve konakçı savunma sistemi gibi olumsuz koşullarda canlılıklarını sürdürebilirler. İnsan norovirüsü (HuNoV), insan rota virüsü (HRV), hepatit A virüsü (HAV), hepatit E virüsü (HEV), insan astrovirüsü (HAsTV), Aichi virüsü (AiV), sapovirüs (SaV), insan adenovirüsü (HAdV) ve enterovirüs (EV) halk sağlığı açısından gıda kaynaklı en önemli viral etkenler olarak bilinmektedir. Ayrıca, bulaşıcı kuş gribi virüsü (H5N1) ve Nipah virüsü (NiV) hem insan hem de hayvanlarda son yıllarda ciddi hastalık nedeni olarak görülen önemli zoonoz etkenlerdir. Gıda kaynaklı viral enfeksiyonlarda bulaşma esas olarak, fekal-oral yolla olmaktadır. Dışkı ile kontamine sulardan avlanan kabuklu deniz ürünleri başta olmak üzere bazı gıdalar veya su viral etkenlerin potansiyel kaynağını oluşturmaktadır. Diğer taraftan enfekte personel tarafından hazırlanan çiğ veya yeterince pişirilmeden tüketilen ya da pişirildikten sonra kontamine olan gıdalar da önemli bulaşma kaynağıdır. Günümüzde gıda kaynaklı viral etkenlerin tespitinde PCR (Polymerase Chain Reaction) temelli yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Virüslerin kontrolünde gıda maddelerine uygulanan soğutma ve dondurma işlemlerinin haricinde son dönemlerde yüksek basınçlı işleme (HPP: High pressure processing), soğuk plazma (CP: Cold plasma), ultraviyole ışık (UV: Ultraviolet light), ışınlama ve darbeli elektrik alanı (PEF: Pulsed electric field) gibi termal olmayan teknolojik gıda işleme yöntemlerinin kullanımı da önem kazanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Enfeksiyon riski, Gıda kaynaklı virüsler, Halk Sağlığı, qRT-PCR.

IMPORTANT FOODBORNE VIRAL AGENTS IN TERMS OF PUBLIC HEALTH

ABSTRACT. In recent years, foodborne viral infections have acquired increasing importance. This study will provide an update on the literature and findings related to foodborne viruses. Viruses are obligate intracellular microorganisms that have a low infection dose, stable, and can remain in foods for a long time without loss of infectivity. For this reason, foods are vectors for the transmission of viral agents to humans. They can survive in adverse conditions such as stomach acidity, intestinal enzymes, alkaline conditions, and host defense system. Human norovirus (HuNoV), human rotavirus (HRV), hepatitis A virus (HAV), hepatitis E virus (HEV), human astrovirus (HAsTV), Aichi virus (AiV), sapovirus (SaV), human adenovirus (HAdV), and enterovirus (EV) are known as the most important viral agents of food origin in terms of public health. In addition, infectious avian influenza virus (H5N1) and Nipah virus (NiV) are important zoonotic agents that have been seen as the cause of serious disease in both humans and animals in recent years. In foodborne viral infections, transmission is mainly by the fecal-oral route. Some foods or water, especially shellfish caught from waters contaminated with feces, are potential sources of viral agents. On the other hand, raw or uncooked food prepared by infected personnel or contaminated after cooking is also an important source of contamination. Nowadays, PCR (Polymerase Chain Reaction)-based methods are widely used in the detection of food-borne viral agents. Apart from the cooling and freezing processes applied to foodstuffs in the control of viruses. In recent years, non-thermal technological food processing methods such as high pressure processing (HPP: High pressure processing), cold plasma (CP: Cold plasma), ultraviolet light (UV: Ultraviolet light), irradiation, and pulsed electric field (PEF: Pulsed electric field) usage is also gaining importance.

Keywords: Risk of infection, Foodborne viruses, Public Health, qRT-PCR.

GİRİŞ

Dünya genelinde son yıllarda bildirilen gıda kaynaklı hastalıklar arasında viral etkenlerin neden olduğu salgınlar artış göstermiştir (Miranda ve Schaffner, 2019). Birçok bakteri veya mantarın aksine gıda kaynaklı viral etkenler gıdalarda çoğalamazlar. Özellikle güvenli olmayan çiğ gıda, uygun olmayan sıcaklık ve depolama koşulları, gıdaların hatalı işlenmesi yöntemleri, yetersiz pişirilmesi, kişisel hijyen kurallarına yeterli düzeyde dikkat edilmemesi ve pişmiş gıdanın çiğ gıda ile çapraz kontaminasyonu gibi faktörler sonucunda viral etkenler bulaşabilmektedir. Tüketiciler, virüslerin konakçı dışında dirençlilik göstermelerine bağlı olarak kontamine gıdaları tüketmesi neticesinde gıda kaynaklı viral etkenler ile enfekte olabilirler (Newell ve ark., 2010; Sanchez ve Bosch, 2016).

İnsan norovirüsleri (HuNoV) ve hepatit A virüsü (HAV) gibi enterik virüsler dünya genelindeki birçok salgının nedenleri arasında yer almaktadır. Ayrıca insan astrovirüsü (HAstV), insan rotavirüsü (HRV), sapovirüs (SaV), enterovirüs (EV), insan adenovirüsü (HAdV) ve Aichi virüsü (AiV) diğer enterik viral etkenlerdendir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalıkların nedenleri arasında sırasıyla % 45 ve % 13,1 düzeyinde enterik virüslerin etkili olduğu bildirilmiştir (Yeargin ve Gibson, 2018). 2014 yılında AB ülkelerinde görülen gıda kaynaklı hastalıkların % 20,4'üne viral etkenlerin neden olduğu ve ilk sırada yer aldığı bildirilmiştir (EFSA, 2015).

Virüsler; kontamine gıdaların tüketilmesi, dışkı ile kirlenmiş suların içilmesi ve enfekte kişilerle temas edilmesi sonucu insanlara bulaşarak hastalığa neden olmaktadır (Koopmans ve Duizer, 2004). Gıda kaynaklı viral etkenler genellikle asite, ısıya, kurutmaya, basınca, dezenfektanlara ve ultraviyole radyasyonu gibi farklı çevresel koşullara karşı değişen dayanıklılık göstermektedirler (Sanchez ve Bosch, 2016). Bundan dolayı virüslerin gıda üretiminin çeşitli aşamalarında gıdalara bulaşarak kirlenebilmesi ihtimali oldukça yüksektir. Ancak virüslerin kontamine gıdalar yoluyla insanlara bulaşması oldukça karmaşıktır ve genellikle net değildir (Marsh ve ark., 2018).

Kontamine gıdaların tüketiminden sonra insanlara viral etkenlerin bulaşması; virüs stabilitesi, gıda işleme yöntemleri, enfeksiyon dozu ve konağın duyarlılığı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Bosch ve ark.,

2018). Gıda kaynaklı viral etkenlerin enfeksiyon dozunun genellikle düşük olması nedeniyle az miktarda virüs insanları enfekte edebilmektedir. Gıda kaynaklı viral etkenler, enfektivite kaybı olmadan gıdalarda uzun süre aktivitelerini sürdürebilirler. İnsanlara, atık suların neden olduğu kontamine gıdaları tüketmesi sonucunda birden fazla viral etken bulaşabilmektedir. Bunun neticesinde insanların aynı zaman diliminde birden fazla suş ile enfekte olabilmesi mümkündür (Sanchez ve Bosch, 2016).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLER VE GIDA GÜVENLİĞİNDEKİ ROLLERİ

İnsanları enfekte edebilme özelliğine sahip olarak bilinen viral etkenler 22 familya olarak gruplandırılmıştır. Ayrıca, son yıllarda genetik materyal karakterizasyonuna imkan tanıyan moleküler tekniklerdeki gelişmeler ile çoğu tam olarak bilinmeyen birkaç yeni virüsün tanımlanmasına yol açmıştır (Jones ve ark., 2008).

Virüsler, zorunlu hücre içi parazitlerdir ve kendilerine özel canlı hücrenin dışında çoğalamazlar. Konakçı hücre, viral genetik bilgiyi kendisine ait gibi sahiplenmektedir. Virüslerin replikasyonu, konak hücre mekanizmaları kullanılarak viral genomun transkripsiyonu ve translasyonu ile gerçekleşir. Canlı hücreler dışındaki bir ortamda çoğalmaları mümkün değildir. Bu nedenle üretim, işleme, taşıma ve depolama aşamaları sırasında gıda ve sudaki viral partiküllerin sayısı artış meydana gelmez. Bu patojenleri içeren gıdalar ile kontamine olmayan gıdaların duyuşal özellikleri aynıdır (Koopmans ve Duizer, 2004). Viral etkenlerin bulaşmasında sadece konakçı ile etkileşimi değil aynı zamanda dış ortamın etkisi de önemli rol oynamaktadır. Konakçı organizmanın dışında virüsler, kendi metabolizmaları olmadığından etkisizdirler. Viral etkenler, bulaşıcı ortamda ne kadar uzun süre canlı kalırlarsa, enfeksiyonun bulaşma ve yayılma olasılığı da o kadar yüksek olmaktadır (Rzezutka ve Cook, 2004).

Gıda kaynaklı viral etkenlerden ileri gelen enfeksiyonlarda klinik belirtiler hafif ishal tablosundan şiddetli ensefalite kadar değişmektedir. Gıda kaynaklı viral etkenlerin bulaşması; sıklıkla enfekte gıda çalışanları tarafından gıdanın kontaminasyonu, üretim sürecinde gıdanın kontaminasyonu (yumuşakçalar, kabuklu deniz ürünleri veya sebze/meyve üretiminde) ve çok nadir olarak, zoonotik bir viral etken içeren hayvansal kökenli ürünlerin tüketilmesiyle meydana gelmektedir. Birinci ve

ikinci bulaşma yolu, fekal-oral olarak bulaşan virüsler için geçerlidir. Bu bulaşmada öncelikle viral etkenler yutma işleminden sonra bağırsak epitelindeki hücrelere saldırmakta mütakiben aynı bölgede veya vücudun başka bir yerinde replikasyonu ile konakçıları enfekte etmektedirler (Rzezutka ve Cook, 2004).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO: World Health Organization) ile Gıda ve Tarım Örgütü (FAO: Food and Agriculture Organization), norovirüsleri (NoV), A grubu rotavirüsleri ve hepatit A virüslerini (HAV) öncelikli viral tehlikeler olarak belirtmişlerdir. Ortaya çıkan tehlikeler söz konusu olduğunda ise hepatit E virüsü (HEV), Nipah virüsleri, H5N1 kuş gribi virüsleri ve SARS koronavirüsü büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, virüslere özgü gıda maddelerinin tüketilmesi sonucunda viral kaynaklı etkenlerin neden olduğu hastalıkların belirlenmesi, korunma ve kontrol önlemlerinin kapsamlı olarak değerlendirilmesi bakımından virus-gıda maddesi arasındaki ilişki önemli olmaktadır. Buna göre; kabuklu deniz hayvanlarındaki NoV ve HAV, taze ürünlerdeki NoV ve HAV A, hazır gıdalardaki NoV ve HAV, yiyecek hazırlamada kullanılan sudaki rotavirüsler dikkate alınmalıdır (WHO, 2008).

Gıda kaynaklı NoV salgınları genellikle gıda işletmelerindeki enfekte kişiler tarafından hazırlanan çiğ veya işlenmemiş (tüketime hazır gıdalar) gıdaların tüketilmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır. NoV ve HAV salgınının en yaygın nedenleri arasında gıda işletmelerindeki personel hijyen hataları, enfekte bir kişi veya virüs taşıyıcısı tarafından gıdanın çıplak elle işlenmesi ve ellerin yeterince hijyenik olarak yıkanmaması yer almaktadır. Gıda işletmelerinde çalışanlar, tuvalet sonrası yetersiz kişisel hijyene bağlı olarak gıdaları kumuk (NoV) veya dışkı (NoV/HAV) ile kontamine edebilmektedir (Baert ve ark., 2011).

Meyveler, yeşil sebzeler, yumuşakçalar ve kabuklu deniz ürünleri gibi riskli gıdalar başlıca üretim sırasında kontamine olmaktadır. Kanalizasyon veya atık sular, NoV ve HAV gıda kaynaklı viral etkenlerin temel bulaşma kaynağıdır (WHO, 2008).

Gıda kaynaklı zoonoz enfeksiyonlar, enfekte bir hayvanın eti, sakatatı veya diğer ürünleri tüketildiğinde ortaya çıkmaktadır (Koopmans, 2012). Viral etkenler için nadir olarak görülen bir bulaşma şekli olmasına rağmen ortaya çıkan her hastalık salgınında araştırılması gerekmektedir. Özellikle hepatit E virüsü ile kontamine çiğ

veya az pişmiş olarak tüketilen enfekte domuz karaciğeri (hem evcil domuz hem de yaban domuzu) başlıca enfeksiyon kaynağı olması açısından önemlidir. Ayrıca patojenik kuş gribi virüsü (H5N1 virüsü), şiddetli akut solunum sendromu (SARS) ve Nipah virüs vakalarının gıda kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Luby ve ark., 2006; Trostle ve ark., 2008).

Son yıllarda ortaya çıkan zoonotik virüslerden Domuz gribi (İnfluenza A H1N1), Ebola ve Zika virüslerinin neden olduğu viral enfeksiyonların gıda kaynaklı potansiyel bulaşma şüpheleri dikkate alınmalıdır. Besin zincirindeki risklerin geniş kapsamlı değerlendirilmesi önemlidir. Bu nedenle enfeksiyonların bulaşmasında yalnızca kontamine gıda maddelerinin tüketilmesi değil aynı zamanda gıdada tehlike oluşturabilecek diğer bulaşabilme ihtimalleri bakımından; veteriner hekimler veya mezbaha çalışanı gibi meslek gruplarına dışkı ile kontamine etin işlenmesi sonucunda deri yoluyla, idrar, tükürük ve anne sütü gibi vücut salgıları göz önünde bulundurulmalıdır. Ebola, insanlara virüs ile enfekte olmuş hayvanlarla teması (genellikle kesme, pişirme, yeme sonrası) veya enfekte olmuş kişinin vücut sıvılarıyla bulaşmaktadır (Iturriza-Gomara ve O'Brien, 2016).

Ayrıca sivrisinekler, özellikle de *Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus* türleri; Zika virüsü, Batı Nil virüsü (West Nile Virus), Dang virüsü (Dengue Virus), sarı humma (Yellow Fever) ve Chikungunya virüsünü primer olarak bulaştırabilirler (Silva ve ark., 2018). Zika virüsü ve Batı Nil virüsünün enfekte anneden bebeğe transplasental veya anne sütü ile bulaşma riski nadiren de olsa bulunmaktadır. Ancak, Zika ve Batı Nil enfeksiyonlarında bu yolla bulaşma potansiyeli detaylı olarak incelenmelidir (CDC, 2013; Mann ve ark., 2018). Chikungunya enfeksiyonuna neden olan sivrisinek türlerinden *Ae. Aegypti*'nin su depolama kapları ve banyolardaki beton su depoları gibi kapalı üreme alanlarını kullanmaları hastalığın bulaşmasında dikkate alınmalıdır (Silva ve ark., 2018).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLER

Gıda kaynaklı viral etkenler ve özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu virüsler tek veya çift sarmallı RNA ile DNA virüsleri olabilir (Pexara ve Govaris, 2020).

İnsan Norovirüsü (HuNoV): 1990 yılına kadar Norwalk virüsü olarak bilinen HuNoV, Caliciviridae familyası

Norovirus cinsi içinde sınıflandırılan zarfsız ve segmentsiz tek sarmallı pozitif RNA virüsüdür. Norovirüsler, dünya genelinde 30'dan fazla genotip bulunan yedi genogruba (GI'den GVII'ye) ayrılmaktadır. Bu genogruplardan GI, GII ve GIV genellikle insanları enfekte eder (Vinje, 2015). HuNoV insan enterik patojenidir ve dünya genelinde ortaya çıkan akut gastroenterit salgınlarının başlıca etiyolojik ajanı olarak kabul edilmektedir. ABD'ndeki bakteriyel olmayan gastroenterit salgınlarının çoğu (%90) HuNoV ile ilişkilidir (Neethirajan ve ark., 2017). AB'de ise HuNoV, gıda ve su kaynaklı salgınlarda sıklıkla tespit edilmiştir (EFSA, 2019). HuNoV oldukça bulaşıcıdır. Düşük bir enfeksiyöz doz (< 10 kopya/mL) yeterli olmaktadır. Etken aerosol damlacıklar, kişiden kişiye temas, su ve gıdalar vasıtasıyla yayılabilir. Gıda kaynaklı hastalığın 1-2 günlük bir inkubasyon süresi vardır. Hastalığın semptomları arasında kusma, mide yangısı, ateş veya ishal görülmektedir (Lee ve ark., 2013). HuNoV enfeksiyonu herhangi bir yaş grubunu etkileyebilmektedir. Özellikle 5 yaşın altındaki çocuklarda HuNoV enfeksiyonu yüksek oranda görülmektedir. HuNoV kaynaklı enfeksiyonların neden olabileceği ölüm vakalarında yaşlı bireyler yüksek risk grubunda yer almaktadır (Shah ve Hall, 2018).

İnsan HuNoV enfeksiyonu için çiğ kabuklu deniz ürünleri, meyveler ve sebzeler riskli gıdalardır (Robilotti ve ark., 2015). Kabuklu deniz ürünlerinde HuNoV'un görülme sıklığı 2000-2018 yılları arasında % 3,9 - 54 arasında değişmektedir (Razafimahefa ve ark., 2020).

İnsan Rotavirüsü (HRV): Rotavirüsler, Reoviridae familyası Rotavirus cinsi içerisinde yer alan zarfsız ve çift sarmallı RNA virüsüdür (Esona ve Gautam, 2015). Yedi gruba ayrılırlar (A-G); insanlar A-C grupları tarafından enfekte olurken, hayvanlar ise grupların geri kalanı tarafından enfekte olmaktadır. İnsan Rota Virüsü (HRV), özellikle bebeklerde ve 5 yaşın altındaki çocuklarda şiddetli gastroenterit ve ishale neden olur. Yetişkin ishal rotavirüsü olarak da bilinen Grup B rota virüsü, Çin'de her yaştan binlerce kişide ciddi ishal vakalarına neden olmuştur. Grup C rotavirüsü de birçok ülkede çocuklarda nadir ve sporadik ishal vakalarında tespit edilmiştir. İlk salgın olgusu 2005 yılında Japonya'da bildirilmiştir (Todd, 2015).

HRV için en yaygın bulaşma şekli; kişiden kişiye, kontamine çevresel yüzeylerle temas, dışkı ile kontamine su ve gıdaların alınması sonucu fekal-oral

yolla olmaktadır. İnsan ve hayvan rotavirüsünü içeren lağım suları; yüzey sularını, deniz ürünlerini, meyve ve sebzeleri kirletebilir. Ayrıca enfekte gıda işleyicileri gıdaları kontamine edebilir. Solunum damlacıkları yoluyla da hastalık bulaşabilmektedir (Koopmans ve Brown, 1999). Gıda veya sudaki 10-100 viral partikül dozları insanlarda enfeksiyona neden olabilir (Neethirajan ve ark., 2017). HRV enfeksiyonu için inkubasyon süresi yaklaşık 1-3 gündür. Hastalık tahminen 4-7 gün sürer ve tipik semptomlar arasında sulu ishal, karın ağrısı, kusma ve yüksek ölüm oranına yol açabilen dehidratasyon bulunmaktadır (Todd, 2015).

Hepatit A Virüsü (HAV): HAV, Picornaviridae familyası Hepatovirus cinsinde yer alan yaklaşık 27 nm. çapında zarfsız ve tek sarmallı pozitif bir RNA virüsüdür. İnsan suşları, genomik karakterizasyonlarına göre üç genotip (I-III) ve yedi alt genotip (IA-IIIIB) olarak gruplandırılır. HAV'ın enfeksiyöz dozu düşüktür (10-100 viral partikül) (Neethirajan ve ark., 2017).

İnkubasyon süresi boyunca (ortalama 15-50 gün, tahminen 28 gün) virüs vücuttan atılır. HAV; kişiden kişiye doğrudan temas, kontamine kabuklu deniz ürünleri, meyveler veya pişmemiş sebzeler ile suların tüketilmesi sonucunda fekal-oral yoluyla insanlar enfekte olabilmektedir (Bosch ve ark., 2018). HAV, ıspanakta 42 gün, yeşil soğanda 20 gün ve soğutulmuş istiridyelerde yaklaşık bir ay varlığını sürdürebilmektedir (Sun ve ark., 2012). Dondurulmuş kontamine kabuklu deniz ürünleri ve meyvelerden kaynaklanan HAV enfeksiyonu da rapor edilmiştir. HAV ısıya en dayanıklı viral etkindir. İnsanlardaki gastroenterit vakalarının % 2-7'sini enfekte su ve gıda kaynaklı HAV'nin neden olduğu bildirilmektedir (Neethirajan ve ark., 2017).

HAV enfeksiyonunun semptomları arasında ateş, baş ağrısı, yorgunluk, mide bulantısı ve karın ağrısı ile 2-3 haftalık hepatit belirtileri yer almaktadır. Enfeksiyondan sonra hayat boyu bağışıklık oluşmaktadır. HAV tek bir serotip olduğundan, HAV aşısı hastalığı önleyebilir. Bu amaçla 1995'ten beri ticari olarak kullanılan HAV aşısı mevcuttur (Sanchez, 2015).

Hepatit E Virüsü (HEV): HEV, hayvan ve insanları enfekte eden Hepeviridae familyasında yer alan tek sarmallı, zarfsız bir RNA virüsüdür. İnsanları enfekte eden HEV suşları, dört türe (A-D) ayrılan Orthohepevirus

cinsine aittir ve insan hastalığına sekiz genotip içeren A türü içindeki suşlar neden olmaktadır (Purdy ve ark., 2017). Bunlardan ikisi zorunlu insan patojenleridir (HEV1, HEV2). Diğer ikisi ise domuz ve yaban domuzu gibi çeşitli hayvan türlerinde sık görülen ve insanlarda zoonotik

enfeksiyonlara neden olmaktadır (HEV3, HEV4). Geri kalan genotipler sadece yaban domuzu (HEV5, HEV6) ile develerde (HEV7, HEV8) görünmektedir (Webb ve Dalton, 2019).

Tablo 1. Gıda kaynaklı viral etkenler.

Viral Etkenin Adı	Partikül/ Genom	Cins / Familya	Hastalık	Bulaşma Yolu/ Enfeksiyon Dozu	Sorumlu Gıdalar
İnsan Norovirüsü (HuNoV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Norovirus / Caliciviridae</i>	Akut gastroenterit	Fekal-oral/ 100 kopya/mL	Kabuklu deniz ürünleri, balık, büfe yemekler, sebzeler
İnsan Rotavirüsü (HRV)	Zarfsız/ dsRNA	<i>Rotavirus / Reoviridae</i>	Çocuklarda viral gastroenterit, yetiştirkin ishali	Fekal- oral, aerosol / 10-100 bulaşıcı viral partiküller	Deniz tarağı ve istiridyeye ve sebzeler
Hepatit A (HAV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Hepatovirus / Picornaviridae</i>	Hepatit A	Fekal- oral / 10-100 viral partiküller	Kabuklu deniz ürünleri, süt, sandviçler, meyve ve sebzeler
Hepatit E (HEV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Orthohepevirus / Hepeviridae</i>	Hepatit E	Fekal- oral/ Bilinmeyen	Çiğ/az pişmiş geyik ve domuz eti, karaciğer ve karaciğer sosisleri
İnsan Astrovirüsü (HAtVs)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Mamastrovirus / Astroviridae</i>	Gastroenterit	Fekal- oral/ Bilinmeyen; nispeten düşük	Çift kabuklu yumuşakçalar, meyve ve sebzeler
Aichi virüsü (AiV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Kobuvirus / Picornaviridae</i>	Gastroenterit	Fekal- oral/ Bilinmeyen	Çiğ kabuklu deniz ürünleri
Sapovirüsü (SaV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Sapovirus / Caliciviridae</i>	Gastroenterit	Fekal- oral/ Bilinmeyen; muhtemelen HuNoV'a benzer düşük bulaşıcı doz	Kabuklu deniz ürünleri (istiridyeye ve deniz tarağı)
İnsan Adenovirüsü (HADV)	Zarfsız/ dsDNA	<i>Mastadenovirus / Adenoviridae</i>	Gastroenterit, ateş, solunum hastalık, konjonktivit, hemorajik sistit, meningoensefalit	Fekal- oral, inhalasyon ve damlacıklar ile kirlenmiş yüzeylerle direkt temas/ Bilinmeyen	Deniz ürünleri (kabuklu deniz ürünleri)
Enterovirüsü (EV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Enterovirus / Picornaviridae</i>	Kalp rahatsızlıkları el ayak ve Ağız Hastalığı (HFMD), doğumsal sepsis, menenjit/ensefalit	Fekal-oral ağırlıklı Solunum yolu; kontamine havadaki damlacıklar/ Düşük; 1-10 bulaşıcı viral partiküller	Kabuklu deniz ürünleri (çoğunlukla istiridyeye)
Kene Kaynaklı Ensefalitis Virüsü (KKEV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Falvivirus/ Flaviviridae</i>	Meningoensefalitis	Oral/Bilinmiyor	Çiğ keçi sütleri

ssRNA: tek iplikli RNA, ssDNA: tek iplikli DNA.

HEV, kontamine gıda ve suyun tüketilmesi sonucu fekal-oral yolla yayılır. HEV'nin bulaşıcı dozu tam olarak belirlenmemiştir. İnkubasyon süresi ortalama 15-60 gündür. HEV enfeksiyonu genellikle akut hepatite yol açar. Hastalığın ilk evresinde (1-10 gün) karın ağrısı, bulantı, kusma, ateş ile grip benzeri hastalık belirtileri ortaya çıkarken, ikinci evresinde (15-40 gün) ise sarılık, iştahsızlık, hepatomegali, miyalji ve koyu renkli idrar ile karakterize belirtiler görülmektedir (Todd, 2015). Özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde hastalık kronikleşir. Hamile ve önceden karaciğer hastalığı olan hastalarda ölüm oranları yüksek olabilir (Bosch ve ark., 2016). HEV, dünya genelinde ortaya çıkan akut viral hepatitin en yaygın nedeni olarak kabul edilmektedir (Webb ve Dalton, 2019). Hastalığın bulaşmasında kontamine çiğ veya az pişmiş geyik ve domuz etinin tüketimi rol oynamaktadır (Sanchez-Vega, 2014). Ayrıca etken domuz karaciğeri ve sosislerinde tespit edilmiştir (Di Bartolo ve ark., 2012). Enfekte hayvan dışkısu içeren sular sebzelerin, kabuklu deniz hayvanları ile içme suyunun kontaminasyonuna neden olmaktadır (Gao ve ark., 2015).

İnsan Astrovirüsü (HAstV): HAstV, Astroviridae familyası Mamastrovirus cinsinde bulunan küçük zarfsız, tek sarmallı pozitif RNA virüsleridir. Klasik HAstV, 8 serotip olarak gruplandırılmıştır. Dünya genelinde çocuklarda görülen akut bakteriyel olmayan gastroenterit enfeksiyonlarının % 2- 9'undan sorumludur. Bununla birlikte, bağışıklığı baskılanmış ve yaşlı kişilerde de enfeksiyonlar bildirilmiştir. Tip 1 astrovirüsler, epidemiyolojik bakımdan 8 serotipin en yaygın olanıdır (Burbelo ve ark., 2011). Enfeksiyon, asıl fekal-oral yolla, ya doğrudan ya da gıda alımı yoluyla bulaşır. Ayrıca HAstV ile kontamine içme suyu, tatlı yüzey suları ve deniz suyu hastalığın bulaşmasında rol oynamaktadır. HAstV enfeksiyonu 3-4 günlük bir inkubasyondan sonra tipik olarak, kusma, ateş, iştahsızlık ve karın ağrısı belirtileri ile 2-3 gün hafif seyreden sulu ishale neden olmaktadır. Enfeksiyonlar genellikle sınırlı olarak görülmesine rağmen sistematik yayılarak bağışıklığı baskılanmış hastalarda ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Bosch ve ark., 2016). Son yıllarda dünya genelinde gıda kaynaklı büyük HAstV salgınları gözlemlenmiştir. HAstV'lerle kontamine kirli sulardaki çift kabuklu yumuşakçaların tüketiminden kaynaklanan birkaç salgın vakası rapor edilmiştir (Todd, 2015).

Aichi Virüsü (AiV): AiV, Picornaviridae familyası Kobuvirus cinsinde yer alan küre biçiminde (yaklaşık 30 nm çapında) zarfsız, tek zincirli pozitif RNA genom virüsüdür. İlk olarak 1989 yılında Japonya'nın Aichi bölgesinde, kontamine çiğ ıstiridye tüketimine bağlı olarak gastro-enterit enfeksiyonu görülen hastalarda tespit edilmiştir. Kontamine yiyecek veya su yoluyla fekal-oral olarak bulaşan insan gastroenterit etkeni olarak tanımlanmıştır (Kitajima ve Gerba, 2015).

AiV enfeksiyonunun inkubasyon süresi 12-36 saattir. Hastalığın klinik belirtileri, gastroenteriti anımsatan ishal, karın ağrısı, bulantı, kusma ve ateşi içerir (Yamashita ve ark., 2001). Serolojik çalışmalar ile insan nüfusunun % 90'ından fazlasının 40 yaşına kadar AiV'ye maruz kalabileceği bildirilmiştir (Reuter ve ark., 2011). Son epidemiyolojik çalışmalar ile virüsün diğer enterik viral etkenlere göre daha yüksek sıklıkta tespit edilebileceği ortaya konulmuştur. İnsan dışkısu ile atılan AiV suları kirlettiğinden dolayı çoğunlukla yüzey sularında, atık sularında, kanalizasyon veya nehir suyunda bulunmaktadır. İnsanlar, yeterli hijyenik arıtma yapılmayan içme suyu ve kontamine yüzey sularında yetiştirilen çiğ kabuklu deniz ürünleri tüketmesinden sonra bu virüslere maruz kalabilirler (Lodder ve ark., 2013). 1987-2007 yılları arasında ortaya çıkan AiV salgınlarının büyük çoğunluğuna kontamine çiğ ıstiridye tüketiminin neden olduğu bildirilmiştir (Rivadulla ve Romalde, 2020).

Sapovirüs (SaV): Caliciviridae familyası Sapovirus cinsinde yer alır. Tek sarmallı RNA'ya sahiptir ve çapı yaklaşık 30-38 nm'dir. Günümüze kadar, GI'den GV'ye kadar beş SaV genogrubu tanımlanmıştır. saVsGI, GII, GIV ve GV genogrupları insanları enfekte ederken, GIII genogrupları da domuzları enfekte etmektedir (D'Souza, 2015). SaV'nin çocuklarda gastroenterite neden olduğu tespit edilmiştir. Ancak yaşlılardaki gastroenterit vakalarında da görülmüştür. Etken genellikle fekal-oral yolla bulaşır. Ayrıca, kontamine içme suyu ve gıda veya kişiden kişiye temas yoluyla da bulaşabilir. SaV enfeksiyonunun inkubasyon süresi 12-48 saattir. Klinik belirtiler arasında genellikle ateş, mide bulantısı, karın kramplarının eşlik ettiği ishal ve kusma ile karakterize tipik viral gastroenterit semptomları yer almaktadır. Hastalığın süresi 2-6 gün arasında değişmektedir. Enfeksiyöz dozunun 1,015-2,800 kopya/ml,g olduğu tahmin edilmektedir (Oka ve ark., 2015).

SaV, kanalizasyonda (işlenmiş ve işlenmemiş), nehir suyunda ve kabuklu deniz hayvanlarında (istiridyeye) tespit edilmiştir (D'Souza, 2015). Kontamine gıda tüketiminin neden olduğu sporadik SaV vakaları bildirilmiştir (Miranda ve Schaffner, 2019).

İnsan Adenovirüsü (HAdV): İnsanları enfekte edebilen Adenoviridae familyası Mastadenovirus cinsinde yer alan zarfsız ve çift sarmallı DNA virüsleridir. HAdV, gastroenterit, solunum yolu hastalığı, hemorajik sistit, hepatit, meningoensefalit ve ekzantem gibi birçok farklı hastalık belirtilerine neden olmaktadır. Çoğunlukla bebeklerde ve bağışıklığı baskılanmış konaklarda ya da solunum veya kalp hastalığı olan hastalarda nadiren ciddi enfeksiyona veya ölüme neden olur (Dashti ve ark., 2016). HAdV günümüz itibarıyla 9 alt gruba ayrılmış (A'dan I'e) ve 90 genotip de tanınmıştır. Küçük çocuklarda akut gastroenterit ile okullar, kreşler ve askeri kamplar gibi topluluklardaki değişik salgınların en yaygın etiyolojik ajanlarıdır (% 5-20) (Banerjee ve ark., 2017; Kumthip ve ark., 2019). Genellikle 8-10 gün süren bir inkübasyon sonrası periyodik ishal, düşük dereceli ateş, kusma, karın ağrıları, dehidratasyon ve solunum sistemi komplikasyonları görülmektedir (Dashti ve ark., 2016). İnsanlardaki en yaygın HAdV enfeksiyonu fekal-oral yolla bulaşmaktadır. Gıda, özellikle kontamine deniz ürünleri (kabuklu deniz ürünleri) ve su da bulaşma kaynağıdır (Kumthip ve ark., 2019).

Enterovirüs (EV): Picornaviridae familyası Enterovirus cinsi içerisinde zarfsız ve tek sarmallı RNA virüsleridir. Klinik semptomlara göre; Coxsackie A, Coxsackie B, poliovirüsler ve ekovirüsler olmak üzere dört EV grubu tanımlanmıştır. Etken, her yıl dünya genelinde milyonlarca kişiyi enfekte eder (Chen ve ark., 2020). Herpangina, miyokardit, perikardit, el ayak ve ağız hastalığı (HFMD) ile yenidoğan sepsisi gibi insanlarda çeşitli akut enfeksiyonlara neden oldukları bildirilmiştir (Balada-Llasat ve ark., 2019).

EV'ler çoğunlukla fekal-oral yolla bulaşır iken bazı türler solunum yoluyla yayılabilmektedir. Enfeksiyon dozu düşük, 1-10 enfeksiyöz viral partiküldür. Hastalığın inkübasyon süresi genellikle 2-5 gündür (Tang ve Holmes, 2017). EV ile enfekte olan kişilerin büyük çoğunluğunda (% 90'ın üzerinde) ya hiçbir semptom

görülmez ya da ani ateş gibi spesifik olmayan semptomlar görülebilmektedir. Bununla birlikte, EV enfeksiyonunda hafif solunum semptomları, ateş ve kas ağrıları ile birlikte grip benzeri hastalık, kaşıntılı ateş, gastrointestinal semptomlar gibi çok çeşitli belirtiler ortaya çıkmaktadır. Özellikle insanlarda görülen gıda kaynaklı EV vakaları kanalizasyon ile kirlenmiş başlıca istiridyeler olmak üzere çığ kabuklu deniz hayvanlarının tüketilmesinden ileri gelmektedir (Yeargin ve Gibson, 2018).

Bulaşıcı Kuş Gribi Virüsü (H5N1): Avian influenza kanatlı hayvanların yüksek bulaşma özelliğine sahip bir virüsüdür. Virulense bağlı olarak kanatlılarda yüksek miktarda kayıplara neden olmaktadır. Etken ile kontamine kanatlı eti ve kanının tüketimi, kümes hayvanları ile doğrudan temas sonucu insanlarda enfeksiyona neden olmaktadır. H5N1 kaynaklı bağırsak enfeksiyonu olan hastalarda görülen tek belirtinin ishal olduğu bildirilmiştir (Beigel ve ark., 2005). Hastalardan alınan dışkı örneklerinde hastalık etkeni virüsün tanımlanması insan sindirim sisteminde viral replikasyon olasılığını göstermektedir (Uiprasertkul ve ark., 2005).

Nipah Virüsü (NiV): İnsan ve hayvanlarda ciddi hastalığa neden olan ve son yıllarda ortaya çıkan bir zoonoz etkenidir. Virüsün doğal konağı Pteropodidae familyası Pteropus cinsinde yer alan meyve yarasalarıdır. Etken meyve yarasalarının tükürüğü ile kontamine olmuş meyvelerin tüketilmesi yoluyla bulaşabilir (EFSA, 2011). NiV enfeksiyonu ilk olarak 1998-1999 yıllarında Malezya ve Singapur yarımadasında 276 kişinin etkilendiği büyük bir salgında ortaya çıkmıştır. Hastaların çoğunda öncelikle ensefalit görülmüş ve % 39'unun öldüğü bildirilmiştir.

Malezya'da ticari amaçlı büyük domuz çiftliklerinin gelişmesi ile birlikte çevresinde yetiştirilen meyve ağaçlarındaki meyveleri kısmen yiyen yarasaların NiV etkenini içeren tükürük salgısı ile kontamine meyveleri domuz ahırlarına bırakabilmektedir. Domuzlar, kontamine meyveleri yiyerek NiV ile enfekte olabilir. Hastalık domuz popülasyonu yoğun çiftliklerde enfekte domuzlar tarafından diğerlerine solunum yoluyla bulaşarak yayılmaktadır. Çiftçiler, doğrudan hasta domuzlar ile enfekte olmaktadır. 2005 yılında Bangladeş'te insanlarda görülen Nipah salgınına yarasaların kontamine ettiği NiV etkeni içerikli taze hurma suyu tüketiminin neden olduğu bildirilmiştir (Koopmans, 2012).

Tablo 2. Gıdalardan enterik virüslerin tespit edilmesinde kullanılan mevcut yöntemlerin avantajları ve dezavantajları

Yöntemin Adı	Avantajları	Dezavantajları
ISO/CEN Metod	<ul style="list-style-type: none"> Başlıca virüsler ve gıda matrisleri dahildir. Kontrollerin kullanımı ve sonuçların nasıl yorumlanacağına ayrıntılı açıklaması nedeniyle sonuçlara olan güvenin artması. Uluslararası düzeyde tanınan ISO yöntemi, laboratuvarlarda uyumlu bir yöntemin uygulanmasını artırır. Farklı laboratuvarlardan elde edilen sonuçları karşılaştırma ve değerlendirme olanağı sağlar. Virüs testi için laboratuvarların akreditasyonunu kolaylaştırır. 	<ul style="list-style-type: none"> Yöntemlerin gelişmeleri durdurulabilir. İşlenmiş gıda matrisleri için yöntemler içermez. Kontrol sayısının fazla olması maliyetleri artırır. Ticari kontroller mevcut olmalıdır; Bazı matrislerde düşük düzeyde virüs tespit edilememesine yol açabilir. Enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan partikülleri ayırt edemez. Yöntem karmaşıklığı.
Miktar belirleme ve doğrulama	<ul style="list-style-type: none"> Rutin miktar tayini, gıda matrislerindeki temel virüs seviyeleri hakkında veri sağlar ve kabul edilebilir düzeylerin uygulanması konusunda bilgi verir. RT-qPCR sonuçlarının sekanslama ile sistematik olarak doğrulanması, virüs suşu epidemiyolojisi hakkında bilgi sağlar. 	<ul style="list-style-type: none"> RT-qPCR ile miktar tayini, inhibitörlere karşı duyarlıdır ve düşük virüs seviyeleri için güvenilir bir doğruluğa sahiptir. RT-qPCR pozitif sonuçlarının sekanslama yoluyla doğrulanması, düşük hassasiyet nedeniyle zordur. Miktar belirleme ve doğrulama maliyeti artırır. Zaman almaktadır.
Bozulmamış virüs kapsidlerinden moleküler virüs tespiti	<ul style="list-style-type: none"> Enfektif virüs partiküllerinin sayısının fazla tahmin edilmesini azaltır. 	<ul style="list-style-type: none"> Çeşitli reaktiflerin geliştirilmesi gerekmektedir. Virüs tipine ve matrislere göre protokollerin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerekir. Bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan kontroller dahil edilmelidir. Standart PCR yöntemine göre maliyetleri artırır.
Enfektif virüslerin tespiti	<ul style="list-style-type: none"> Bulaşıcı virüslerin tespit edilmesini sağlar. ICC-RT-PCR <ul style="list-style-type: none"> Tek başına hücre kültüründen daha duyarlıdır. Sitopatojenik etki göstermeyen bulaşıcı virüsleri tespit eder. Tek başına hücre kültürüyle karşılaştırıldığında analiz süresini kısaltır. 	<ul style="list-style-type: none"> Yabani tip enterik virüslerin kültüre edilmesi genellikle zordur. NoV'ler için basit şekilde kültüre edilmesini sağlayan sistemin optimize edilmesi gerekir. Kültüre etme, teşhis için gereken maliyeti ve zamanı artırır. ICC-RT-PCR, En Muhtemel Sayı (MPN) testi olarak kullanılmadıkça kantitatif değildir.
Yeni teknolojiler	<ul style="list-style-type: none"> Dijital PCR <ul style="list-style-type: none"> Gıda matrislerindeki inhibitörlere daha az duyarlıdır. Standart eğrilerden bağımsız olarak daha doğru ölçüm sağlar. Yeni nesil sekanslama, ortaya çıkan virüsler ve yeni virüs suşlarını yakalayabilir. 	<ul style="list-style-type: none"> Artan maliyetler ve numune hazırlama. Yeni nesil sekanslama için standart yaklaşımın olmaması.

Kene kaynaklı Ensefalit Virüsü (KKEV): Virüs içerebilecek başka bir hayvansal ürün süttür. Bruselloz, tüberküloz ve listeriyoz gibi birkaç önemli bakteriyel hastalıklar çiğ süt veya süt ürünleri tüketerek bulaştığı iyi bilinmesine rağmen süt ile zoonoz virüs bulaşma hakkında çok az şey bilinmektedir. İnsanda enfeksiyona yol açan keçi sütü yoluyla kene kaynaklı ensefalit virüsünün (KKEV) bulaşması bir istisnadır. Polonya'da KKEV yüksek riskli bir bölgede RT-PCR ile yapılan bir çalışmada, koyun sütünün % 22,2'sinin, keçi sütünün % 20,7'sinin ve inek sütünün % 11,1'inin pozitif olduğu tespit edilmiştir. Zarflı RNA içeren KKEV ve diğer kene kaynaklı flavivirüsler genellikle çevresel etkilere karşı dirençli olarak kabul edilmese de, düşük pH koşullarında midede olduğu gibi, hayatta kalabilmektedir. Bununla birlikte, KKEV'nün yakın bir akrabası olan Langat virüsü peynir üretimi sırasında mevcut koşullardan varlığını sürdürülebilirken, KKEV pastörizasyon ile tamamen inaktive olmaktadır. Özellikle koyun ve keçilerin çiğ sütünden yapılan peynir ve diğer süt ürünleri, bu nedenle potansiyel olarak ölümcül KKEV ve muhtemelen diğer kene kaynaklı flavivirüsler için bir enfeksiyon kaynağı oluşturma ihtimali bulunmaktadır (Bachofen, 2018).

Hantavirüs: Bunyaviridae familyasına ait, tek sarmallı RNA virüs türüdür. Fareler ve diğer bazı kemirgenler hantavirüs taşıyıcısıdır. Özellikle kırsal alanlarda ve şehirlerde insanlar için ciddi bir tehlike oluştururlar. Kemiricilerde kronik asemptomatik bir enfeksiyon tablosu görülmektedir. Viral etkeni taşıyan asemptomatik kemiriciler idrar, dışkı ve sekresyonları ile hem çevre hem de ortam havasını enfekte edebilir. İnsanlara enfeksiyon, dış ortama atılan enfektif virus ile kontamine gıdaların tüketilmesi veya çevreden havaya yayılan toz partiküllerinin solunumuyla alınması yoluyla bulaşmaktadır. Kemirgenin insanı ısırmasıyla virus geçişi çok nadir olarak görülmektedir. Hastalık insandan insana temasta geçmemektedir (Muranyi ve ark., 2005).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLERİN TESPİT EDİLMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER
Günümüzde gıda kaynaklı viral etkenlerin tespitinde PCR temelli yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. NoV ve HAV tespitine yönelik olarak geliştirilen bu yöntemler hücre kültürü tabanlı metotlara göre hem daha hassas hem de daha kısa sürede belirlenmesi açısından

önem taşımaktadır. İnsanlarda, hastalık nedeni olan gıda kaynaklı enterik virüslerinin saptanmasında kullanılan mevcut yöntemlerin avantajları ve dezavantajları Tablo 2'de gösterilmiştir (Bosch ve ark., 2018).

ISO/CEN yöntemi: Çift kabuklu yumuşakçalar, yeşil yapraklı sebzeler, meyveler, gıda yüzeyleri ve şişelenmiş sularda gıda kaynaklı viral etkenlerden NoV ve HAV'nin kantitatif ve kalitatif RT-qPCR tespiti ISO standardı ile açıklanmaktadır (ISO, 2017). Standarta göre gıda örneklerinden bir kaotropik reaktif kullanılarak kapsid bozulması ve ardından da RNA'nın silika parçacıklarının adsorpsiyonuna dayalı RNA ekstraksiyon yöntemi protokollerde belirtilmiştir. Gıda maddelerinden viral etkenin tespiti gıdanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı zor olmaktadır. Bu nedenle ISO yöntemi, virüs miktarının yanlış negatif yorumlanmasını veya sayısal eksikliği önlemeye yönelik belirli kriterleri içermektedir. Virüs ekstraksiyonunun etkinliğini ölçmek için virüs kontrolü yöntemi ilave edilmiştir.

Bununla birlikte çeşitli gıda maddelerinden virüs elüsyonu ve konsantrasyonundan yüksek geri kazanıma izin veren standardın sadeleştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Meyve yüzeyindeki RNA'nın lizis tamponuna daldırılması ile gerçekleştirilen direkt ekstraksiyon işlemi yapay kontamine meyveler üzerindeki bazı NoV etkenlerinin tespit edilmesinde etkili olmuştur (Perrin ve ark., 2015). Tam doğrulamaya karşı bir sonraki adım, doğal olarak kontamine olmuş numunelerde viral patojenlerin kanıtlanmış tespiti ve laboratuvarlar arasında performans karşılaştırması gerekmektedir. Mevcut ISO yöntemi ile gıda maddelerini analiz ederken en büyük sorun, sınırlı sayıda numunelerde düşük virüs seviyelerini tespit etmenin zor olmasıdır. Bu yöntem iyileştirmeleri veya optimizasyonu engellememelidir.

Miktar Belirleme ve Doğrulama: Gıda ürünlerinden viral etkenlerin sayısal olarak kabul edilebilir düzeylerinin belirlenmesi risk değerlendirmelerine veri sağlayabileceğinden, salgın araştırmaları ve rutin izleme açısından önemlidir (Pintó ve ark., 2009). RT-qPCR yöntemi ile virüs miktarının belirlenmesinde, sentetik ya da in vitro kopyalanmış RNA veya DNA'nın temsil ettiği hedef sekansın bilinen miktarlarının oluşturduğu standart bir eğri kullanılarak yapılabilmektedir (Costafreda ve ark., 2006; Gentry ve ark., 2009; Hata ve ark., 2011).

Kullanılan yöntem hangisi olursa olsun

en kritik adım, ssRNA'nın harici amplifikasyon kontrolündeki ters transkripsiyon (RT) reaksiyonu en uygun olanıdır (Costafreda ve ark., 2006). Ancak, standart malzemelerin özel laboratuvarlar tarafından üretilmesi ve nicelendirilmesi farklılıklara yol açabilir. Bu durum laboratuvarlar arası varyasyona neden olabilmektedir. Söz konusu değişimlerin sertifikalı standart reaktiflerin kullanılması ile azaltılabileceği öne sürülmektedir. Daha da önemlisi, virüsler genellikle bir grup gıdada eşit olmayan bir şekilde dağılım göstermektedir. Kalitatif ve kantitatif olarak en güvenilir sonuçların elde edilmesi için çok sayıda numunenin tekrarlanabilir analizlerinin yapılması gerekmektedir (Le Guyader ve ark., 2010; Müller ve ark., 2015). Günümüzde, virüslerle ilgili olarak uygulanan düzenleyici mikrobiyolojik kriterler (örn. standartlar, kılavuzlar veya şartnameler) bulunmamaktadır. Pek çok gıda şirketi ve yetkilisi, esas olarak üretim hijyen testi veya salgın araştırmalarının bir parçası olarak kalitatif sonuçlar istemektedir (Müller ve ark., 2015). Pozitif bir qRT-PCR sinyalinin doğrulanması ve epidemiyolojik çalışmalara yardımcı olmak için gıda ürünlerinden hastalık salgınlarıyla ilişkili virüslerin belirlenmesi ve sistematik olarak tiplendirilmesi önerilmektedir (EFSA, 2011). Standart RT-qPCR'lerden alınan kısa (~100 bp) amplikon suş tiplendirmesi için uygun olmadığından mevcut protokoller, sekanslama için daha uzun ve değişken bir bölgeyi hedefleyen geleneksel RT-PCR'leri içermektedir (Vinjé ve ark., 2004; Mattison ve ark., 2009). Suşlar, filogeni için kullanılan bölgelere bağlı olarak farklı şekilde toplanacağından sekanslama bölgeleri olarak tercihen potansiyel rekombinasyon alanları içermelidir (Vinjé ve ark., 2004; Symes ve ark., 2007; Mattison ve ark., 2009; Siebenga ve ark., 2009). Ancak, salgın araştırmalarında defalarca bildirildiği gibi gıda örneklerinden faydalı bir pozitif RT-qPCR sekansı elde etmek zordur (Sarvikivi ve ark., 2012). Bunun nedeni, geleneksel primerler tarafından tanıma eksikliği, birden fazla suşun eş zamanlı olarak amplifikasyonu, geleneksel RT-PCR için virüs miktarının tespit limitinin altında olması veya sekanslama için uygun amplifikasyon elde etmede yetersiz saf RNA'nın ekstraksiyonu olabilir. Belçika, Fransa ve Kanada da yapılan tarama çalışmalarında RT-PCR yöntemiyle pozitif örneklerin sadece % 34,6'sı sistematik tiplendirilme ve sekanslama ile doğrulanmıştır (Baert ve ark., 2011).

Bozulmamış Virüs Kapsidlerinden Moleküler Virüs Tespiti: RT-qPCR yöntemi ile tespit edilen viral

genomlar, bulaşıcı parçacıkları temsil etmemektedir. Moleküler yöntemler ile virüslerin enfektivitesinin daha iyi analiz edilmesinde saflaştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Virüsler enfektif olması için sağlam bir kapside ihtiyacı duymaktadır. Bu nedenle, RNA'nın yalnızca bu bozulmamış viral partiküllerden saptanmasını gerçekleştirmek için çalışmalar yapılmıştır. Termal inaktivasyona maruz kalan HAV'da kanıtlandığı gibi RNase veya propidium monoazid tedavileri başarılı olarak kullanılabilir (Sanchez ve ark., 2012). Ancak bu tür yaklaşımların viral etkene ve uygulanan tedaviye göre adapte olması gerekmektedir. Ayrıca, inaktif işaretli virüslerin baskılanması tam olmayabilir. Bu durum ise enfektif virüsün olduğundan daha fazla bulunduğunun tahmin edilmesine yol açabilir (Moreno ve ark., 2015). Yöntemler, propidium monoazid ve RNase'nin hasarlı veya yıkılanmış bölgelere nüfuz etme yeteneğine dayandığından virüsler kapsid bütünlüğünü azaltmayan ya da ortadan kaldırmayan işlemlerle enfektif hale getirilir.

Bazı NoV suşlarının elde edilmesinde nükleik asit aptamerleri önerilmiştir. ssDNA aptamerleri, antikorlara alternatif olarak kullanılabilir (Escudero-Abarca ve ark., 2014; Moore ve ark., 2015). Aptamerler, tasarımlarına göre oldukça spesifik olabilir. Bu nedenle, farklı viral suşlarının tanımlanmasında farklı aptamerleri içeren geniş panelden faydalanılmaktadır. Ayrıca tüm viral partiküllerin varlığının belirlenmesinde üç boyutlu kapsid yapısının tespit edilmesi yetenekleri kullanılabilir (Hagström ve ark., 2015). NoV'nin histo-kan grubu antijen glikanlarına bağlanması esas alınarak kapsid bütünlüğünün değerlendirilmesinde rol olabileceği önerilmiştir. NoV'nin; klor, ısı veya ultraviyole (UV) radyasyonu ile muamele edilmesinden sonra glikanlara seçici bağlanması, genom titrelerinde üç log₁₀ düzeyinde azalma göstermiştir. Bu durum glikanların spesifik olarak hasara uğramamış kapsidi hedefleme kapasitesini kanıtlamıştır (Dancho ve ark., 2012).

Enfektif Virüslerin Tespiti: Bazı enterik viral etkenlerini tespit etmek için hücre kültürü temeline dayalı yöntemler kullanılabilir. Virüs enfektivitesinin azalmasını önlemek için gıda maddelerinden virüsün ayrıştırılması için bir dizi konsantrasyon ve saflaştırma işlemlerinden yararlanılmaktadır. Bu tür yöntemlerin, çevre ve gıda örneklerinden bazı enterovirüslerin veya HAV suşlarının tespit edilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Pinto ve ark., 2009).

RT-qPCR veya qPCR teknikleri ile virüs tipini tespit etmeden önce virüsün nükleik asitlerini amplifiye etmek ve inhibitörleri uzaklaştırmak için hücre kültürü temeline dayalı yöntemler kullanılmıştır. Bu entegre hücre kültürü (ICC) (RT)- qPCR/qPCR testi, infektif virüs partiküllerinin saptama süresini kısalttığından dolayı adenovirüsleri, astrovirüsleri, enterovirüsleri ve HAV'ın tespit edilmesinde faydalanılmaktadır (Chung ve ark., 1996; De Medici ve ark., 2001; Choo ve Kim, 2006). Yöntem, kabuklu deniz ürünleri örneklerinde bulunan infektif virüslerin analizine ve hücre kültüründe sitopatik değişikliklere neden olmayabilecek virüslerin (örn., HAV) saptanmasına imkan tanımaktadır (Crocì ve ark., 2005).

Yeni Teknolojiler: Son teknik gelişmeler, gıda maddelerinden viral etkenlerin tespiti ve miktarının belirlenmesi ile tanımlanmasına yönelik iyileştirmelere imkan tanımaktadır. Dijital PCR tarafından sağlanan miktar belirtmesine yönelik teknik iyileştirmelerinin yanı sıra PCR temelli teknolojilerin doğruluğu, enzimlerin geliştirilmesi, prob etiketlemesi ve viral genom sekansların bilgisi ile arttırılabilmektedir (Sedlak ve Jerome, 2013; Kishida ve ark., 2014). Yeni nesil dizilemenin viral genomlara uygulanması, yalnızca viral etkenleri tanımlamaya katkıda bulunmakla kalmayarak aynı zamanda hedeflenen PCR deneyleri için primer ve prob tasarımını geliştirecek yeni veriler de sağlayacaktır. Gelecek zamanda, klinik ve çevresel numunelerde viromun tanımlanması, gıda numunelerinin analizinde ve ayrıca bakteriyel ve viral kontaminasyon arasındaki herhangi bir ilişki bakımından bilgilerin geliştirilmesine de yardımcı olacaktır (Kohl ve ark., 2015).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLERİN ÖNLENMESİ VE KONTROLÜ

Antibiyotikler viral etkenlere karşı etkili değildir. Bu nedenle gıda kaynaklı viral hastalıkların önlenmesine yönelik alınacak tedbirler şunları içermelidir (WHO, 2008; Koopmans, 2012):

- İyi hijyen uygulamaları konusunda eğitim ve farkındalık (Örneğin; el yıkama, meyve ve sebzelerin uygun şekilde yıkanması ve kullanılması, yiyeceklerin elverişli koşullarda buzdolabında saklanması, etinin iyice pişirilmesi). Özellikle hastanelerde hasta veya bağışıklığı yetersiz insanlar için yiyeceklerin hazırlandığı durumlarda önemlidir.

- Hastalığa yakalanan çalışanlar yemek servisi

işlerinde çalıştırılmamalıdır.

- Özellikle yemeye hazır bitkilerin sulanması için temiz su kullanılmalıdır.
- Tarımsal üretimde kontamine hayvan gübresi kullanımı önlenmelidir.
- Deniz suyunun, kanalizasyon ile kirlenmesi önlenerek temiz kabuklu deniz hayvanlarının yetiştirilmesi sağlanmalıdır.

Gıda maddelerine uygulanan soğutma ve dondurma işlemleri gıda kaynaklı viral etkenlere karşı korunma ile kontrolde yeterli düzeyde etkili olmayabilir. Virüslere uygulanan ısı işlemlerinin etkinliği; virüsün tipine, gıda maddesine ve viral etkenin başlangıç düzeyine göre değişiklik gösterebilmektedir. Gıdaların pişirilmesinde, sıcaklık değeri 90 °C olmalı ve bu ısı derecesinde en az 90 sn süre uygulanmalıdır. Viral etkenlerin, ellerdeki miktarının azaltılmasında en az 20 sn süre ile akan temiz su ve sabunla yıkanması mütakibinde % 70'lik alkol kullanımıyla el dezenfeksiyonu gıdalarda virüs kontaminasyonunun azaltılmasında etkili olmaktadır (Boxman, 2013).

Son yıllarda virüslerin kontrolünde hayvansal kökenli gıdalar da dahil olmak üzere gıdaların kalitesi ve güvenliğini arttırmak amacıyla kullanılan yüksek basınçlı işleme (HPP), soğuk plazma (CP), ultraviyole ışık (UV), ışınlama ve darbeli elektrik alanı (PEF) gibi termal olmayan teknolojik gıda işleme yöntemleri önem kazanmaktadır (Bosch ve ark., 2018).

SONUÇ

Son yıllarda çevresel koşullara yüksek dirençlilik gösteren gıda kaynaklı viral etkenler sağlığımızı tehdit etmektedir. NoV, HAV, HEV, HRV, HAstV, SaV, AiV HAdV gıda kaynaklı hastalıklarla ilişkilidir. Pek çok gıda kaynaklı viral salgına NoV neden olmaktadır. Bununla birlikte, bulaşıcı H5N1 kuş gribi virüsünün kontamine kanatlı eti ve atıkları ile, NiV ise doğrudan yarasaların kontamine ettiği meyve ve palmye ağacı özsuunun tüketimi neticesinde bulaştığı belirlenmiştir.

Gıda kaynaklı virüsler; başlıca fekal-oral yolla ve gıdalar vasıtasıyla yayılmakta, gastroenterit ve ishal gibi birçok hastalığa yol açmaktadır. Hem morbidite hem de mortalite bakımından önemlidir. Gıda kaynaklı viral etkenler gıdalarda çoğalmasalar da gıdaların yüzeylerinde uzun süre kalabilirler. Günümüzde bu tür virüslerin tespiti için standart, ucuz, kolay uygulanabilir yeni metodların

geliştirilmesi ile tüketicilerin daha kaliteli ve güvenilir gıda ürünlerini temin etmesine katkı sağlanmalıdır.

Viral hastalıkların bulaşmasını en aza indirmek için yüzey sularını, kanalizasyon giderlerinin, hayvan atıklarının su kaynaklarını kontamine etmesi engellenmeli, özellikle sebze-meyve yetiştirilen bölgelerde sulama sularına dikkat edilmelidir. Gıdaların üretimi ve işlenmesinde; iyi kişisel ve gıda hijyeni uygulaması, iyi tarım uygulamaları ve hasat sonrası kontroller etkili bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Gıda kaynaklı riskler dikkate alındığında viral etkenlerin bulaşmasına ilişkin olarak gıda zincirinin tüm aşamalarındaki önleyici faaliyetlerde viral etkenler göz önüne alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- Bachofen, C. (2018). Selected Viruses Detected on and in our Food. *Curr Clin Microbiol Rep*, 5 (2), 143-153.
- Baert, L., Mattison, K., Loisy-Hamon, F., Harlow, J., Martyres, A., Lebeau, B., Stals, A., Van Coillie, E., Herman, L. & Uyttendaele, M. (2011). Review: Norovirus prevalence in Belgian, Canadian and French fresh produce: A threat to human health? *Int J Food Microbiol*, 151 (3), 261-269.
- Balada-Llasat, J. M., Rosenthal, N., Hasbun, R., Zimmer, L., Bozzette, S., Duff, S., Chung, J. & Ginocchio, C. C. (2019). Cost of managing meningitis and encephalitis among infants and children in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 93 (4), 349-354.
- Banerjee, A., De, P., Manna, B. & Chawla-Sarkar, M. (2017). Molecular characterization of enteric adenovirus genotypes 40 and 41 identified in children with acute gastroenteritis in Kolkata, India during 2013–2014. *J Med Virol*, 89 (4), 606-614.
- Beigel, J. H., Farrar, J., Han, A. M., Hayden, F. G., Hyer, R., De Jong, M., Lochindarat, S., Nguyen, T. K. T., Nguyen, T. H., Tran, T. H., Nicoll, A., Touch, S. & Yuen, K. Y. (2005). Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med*, 353 (13), 1374-1385.
- Bosch, A., Pinto, R. M. & Guix, S. (2016). Foodborne viruses. *Curr Opin Food Sci*, 2016, 8, 110-119.
- Bosch, A., Gkogka, E., Le Guyader, F. S., Loisy-Hamon, F., Lee, A., van Lieshout, L., Marthi, B., Myrmel, M., Sansom, A., Schultz, A. C., Winkler, A., Zuber, S. & Phister, T. (2018). Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing. *Int J Food Microbiol*, 285, 110-128.
- Boxman, L. A. (2013). Viral contamination by food handlers and recommended procedural controls. In, Cook N, Ed. *Viruses in food and water: risks, surveillance and control*. Cambridge, United Kingdom: Woodhead Publishing Ltd; 2013. pp. 217-232.
- Burbelo, P. D., Ching, K. H., Esper, F., Iadarola, M. J., Delwart, E., Lipkin, W. I. & Kapoor, A. (2011). Serological studies confirm the novel astrovirus HMOAstV-C as a highly prevalent human infectious agent. *PLoS ONE*, 6 (8), e22576.
- CDC (2013). West Nile virus and other arboviral diseases—United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 62 (25), 513-517.
- Chen, B. S., Lee, H. C., Lee, K. M., Gong, Y. N. & Shih, S. R. (2020). Enterovirus and Encephalitis. *Front Microbiol*, 11 (261), 1-15.
- Choo, Y. J & Kim, S. J (2006). Detection of human adenoviruses and enteroviruses in Korean oysters using cell culture, integrated cell culture-PCR, and direct PCR. *J Microbiol*, 44 (2), 162-170.
- Chung, H., Jaykus, L. A. & Sobsey, M. D. (1996). Detection of human enteric viruses in oysters by in vivo and in vitro amplification of nucleic acids. *Appl Environ Microbiol*, 62 (10), 3772-3778.
- Costafreda, M. I., Bosch, A. & Pintó, R. M. (2006). Development, evaluation, and standardization of a Real-Time TaqMan Reverse Transcription-PCR assay for quantification of hepatitis A virus in clinical and shellfish samples. *Appl Environ Microbiol*, 72 (6), 3846-3855.
- Croci, L., De Medici, D., Di Pasquale, S. & Toti, L. (2005). Resistance of hepatitis A virus in mussels subjected to different domestic cookings. *Int J Food Microbiol*, 105 (2), 139-144.
- D'Souza, D. H. (2015) 5-Update on foodborne viruses: Types, concentration and sampling methods. In, Sofos J, Ed. *Advances in Microbial Food Safety*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 2015. Vol 2, pp. 102-116.
- Dancho, B. A., Chen, H. & Kingsley, D. H. (2012). Discrimination between infectious and non-infectious human norovirus using porcine gastric mucin. *Int J Food Microbiol*, 155 (3), 222-226.
- Dashti, A. S., Ghahremani, P., Hashempoor, T. & Karimi, A. (2016). Molecular epidemiology of enteric adenovirus gastroenteritis in under five-year-old children in Iran. *Gastroenterol Res Pract*, 2016, 2045697.
- De Medici, D., Croci, L., Di Pasquale, S., Fiore, A. & Toti, L. (2001). Detecting the presence of infectious hepatitis A virus in molluscs positive to RT-nested-PCR. *Lett Appl Microbiol*, 33 (5), 362-366.
- Di Bartolo, I., Diez-Valcarce, M., Vasickova, P., Kralik, P., Hernandez, M., Angeloni, G., Ostanello, F., Bouwknecht, M., Rodriguez-Lazaro, D., Pavlik, I. & Ruggeri, F. M. (2012). Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy, and Spain,

2010. *Emerg Infect Dis*, 18 (8), 1282-1289.
- EFSA (2011). Scientific opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses. *EFSA J*, 9 (7), 2190, pp. 96.
- EFSA (2015). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Foodborne Outbreaks in 2013. *EFSA J*, 13 (1), 3991, pp. 165.
- EFSA (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA J*, 17 (12), 5926, pp. 276.
- Escudero-Abarca, B.I., Suh, S. H., Moore, M. D., Dwivedi, H. P. & Jaykus, L. A. (2014). Selection, characterization and application of nucleic acid aptamers for the capture and detection of Human Norovirus strains. *PLoS One*, 9 (9), e106805.
- Esona, M. D. & Gautam, R. (2015). Rotavirus. *Clin Lab Med*, 35 (2), 363-391.
- Gao, S., Li, D., Zha, E., Zhou, T., Wang, S. & Yue, X. (2015). Surveillance of hepatitis E virus contamination in shellfish in China. *Int J Environ Res Public Health*, 12 (2), 2026-2036.
- Gentry, J., Vinjé, J., Guadagnoli, D. & Lipp, E. K. (2009). Norovirus distribution within an estuarine environment. *Appl Environ Microbiol*, 75 (17), 5474-5480.
- Hagström, A. E. V., Garvey, G., Paterson, A. S., Dhamane, S., Adhikari, M., Estes, M. K., Strych, U., Kourentzi, K., Atmar, R. L. & Willson, R. C. (2015). Sensitive detection of Norovirus using phage nanoparticle reporters in lateral-flow assay. *PLoS One*, 10 (5), e0126571.
- Hata, A., Katayama, H., Kitajima, M., Visvanathan, C., Nol, C. & Furumai, H. (2011). Validation of internal controls for extraction and amplification of nucleic acids from enteric viruses in water samples. *Appl Environ Microbiol*, 77 (13), 4336-4343.
- ISO (2017). Microbiology of the food chain-Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus in using real-time RT-PCR. Part 1: Method for quantification, ISO/TS 15216-1.
- Iturriza-Gomara, M. & O'Brien, S. J. (2016). Foodborne viral infections. *Curr Opin Infect Dis*, 29 (5), 495-501.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L. & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451 (7181), 990-993.
- Kishida, N., Noda, N., Haramoto, E., Kawaharasaki, M., Akiba, M. & Sekiguchi, Y. (2014). Quantitative detection of human enteric adenoviruses in river water by microfluidic digital polymerase chain reaction. *Water Sci Technol*, 70 (3), 555-560.
- Kitajima, M. & Gerba, C. P. (2015). Aichi virus 1: Environmental occurrence and behavior. *Pathogens*, 4 (2), 256-268.
- Kohl, C., Brinkmann, A., Dabrowski, P. W., Radonić, A., Nitsche, A. & Kurth, A. (2015). Protocol for metagenomic virus detection in clinical specimens. *Emerg Infect Dis*, 21 (1), 48-57.
- Koopmans, M. (2012). Food-Borne Viruses From A Global Perspective. In: Choffnes ER, Relman DA, Olsen LA, Hutton R, Mack A. Editors. *Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary*. Institute of Medicine, Washington DC: The National Academies Press; pp. 225-251.
- Koopmans, M. & Brown, D. (1999). Seasonality and diversity of Group A rotaviruses in Europe. *Acta Paediatr Suppl*, 88 (426), 14-19.
- Koopmans, M. & Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *Int J Food Microbiol*, 90 (1), 23-41.
- Kumthip, K., Khamrin, P., Ushijima, H. & Maneekarn, N. (2019). Enteric and non-enteric adenoviruses associated with acute gastroenteritis in pediatric patients in Thailand, 2011 to 2017. *PLoS ONE*, 14 (8), e0220263.
- Le Guyader, F. S., Krol, J., Ambert-Balay, K., Ruvoen-Clouet, N., Desaubliaux, B., Parnaudeau, S., Le Saux, J. C., Ponge, A., Pothier, P., Atmar, R. L. & Le Pendu, J. (2010). Comprehensive analysis of a Norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *J Clin Microbiol*, 48 (3), 915-920.
- Lee, H. M., Kwon, J., Choi, J. S., Lee, K. H., Yang, S., Ko, S. M., Chung, J. K., Cho, S.Y. & Kim, D. (2013). Rapid detection of Norovirus from fresh lettuce using Immunomagnetic Separation and a Quantum Dots Assay. *J Food Prot*, 76 (4), 707-711.
- Lodder, W. J., Rutjes, S. A., Takumi, K. & de Roda Husman, A. M. (2013). Aichi virus in sewage and surface water, the Netherlands. *Emerg Infect Dis*, 19 (8), 1222-1230.
- Luby, S. P., Rahman, M., Hossain, M. J., Blum, L. S., Husain, M. M., Gurley, E., Khan, R. Ahmed, B. N., Rahman, S., Nahar, N., Kenah, E., Comer, J. A. & Ksiazek, T. G. (2006). Foodborne transmission of Nipah virus, Bangladesh. *Emerg Infect Dis*, 12 (12), 1888-1894.
- Mann, T. Z., Haddad, L. B., Williams, T. R., Hills, S. L., Read, J. S., Dee, D. L., Dziuban, E. J., Pérez-Padilla, J., Jamieson, D. J., Honein, M. A. & Shapiro-Mendoza, C. K. (2018). Breast milk transmission of flaviviruses in the context of Zika Virus: A Systematic Review. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 32 (4), 358-368.
- Marsh, Z., Shah, M. P., Wikswo, M. E., Barclay, L., Kisselburgh, H., Kambhampati, A., Cannon, J. L., Parashar, U. D., Vinjé, J. & Hall, A. J. (2018). Epidemiology of foodborne Norovirus outbreaks—United States, 2009–

2015. *Food Saf*, 6 (2), 58-66.
- Mattison, K., Grudeski, E., Auk, B., Charest, H., Drews, S. J., Fritzing, A., Gregoricus, N., Hayward, S., Houde, A., Lee, B. E., Pang, X. L., Wong, J., Booth, T. F. & Vinje, J. (2009). Multicenter comparison of two Norovirus ORF2-based genotyping protocols. *J Clin Microbiol*, 47 (12), 3927-3932.
- Miranda, R. C. & Schaffner, D. W. (2019). Virus risk in the food supply chain. *Curr Opin Food Sci*, 30, 43-48.
- Moore, D. M., Escudero-Abarca, B. I., Suh, S. H. & Jaykus, L. A. (2015). Generation and characterization of nucleic acid aptamers targeting the capsid P domain of a human norovirus GII.4 strain. *J Biotechnol*, 209, 41-49.
- Moreno, L., Aznar, R. & Sánchez, G. (2015). Application of viability PCR to discriminate the infectivity of hepatitis A virus in food samples. *Int J Food Microbiol*, 201, 1-6.
- Muranyi, W., Bahr, Udo., Zeier, M. & van der Woude, F. J. (2005). Hantavirus Infection. *J Am Soc Nephrol*, 16, 3669-3679.
- Müller, L., Schultz, A. C., Fonager, J., Jensen, T., Lisby, M., Hindsdal, K., Krusell, L., Eshøj, A., Møller, L. T., Porsbo, L. J., Böttiger, B. E., Kuhn, K., Engberg, J. & Ethelberg, S. (2015). Separate norovirus outbreaks linked to one source of imported frozen raspberries by molecular analysis, Denmark, 2010–2011. *Epidemiol Infect*, 143 (11), 2299-2307.
- Neethirajan, S., Ahmed, S. R., Chand, R., Buozis, J. & Nagy, É. (2017). Recent advances in biosensor development for foodborne virus detection. *Nanotheranostics*, 1 (3), 272-295.
- Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., van der Giessen, J. & Kruse, H. (2010). Food-borne diseases the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge *Int J Food Microbiol*, 139, 3-15.
- Oka, T., Wang, Q., Katayama, K. & Saif, L. J. (2015). Comprehensive review of Human Sapoviruses. *Clin Microbiol Rev*, 28 (1), 32-53.
- Perrin, A., Loutreul, J., Boudaud, N., Bertrand, I. & Gantzer, C. (2015). Rapid, simple and efficient method for detection of viral genomes on raspberries. *J Virol Methods*, 224, 95-101.
- Pexara, A. & Govaris, A. (2020). Foodborne Viruses and Innovative Non-Thermal Food-Processing Technologies. *Foods*, 9 (11), 1520.
- Pintó, R. M., Costafreda, M. I. & Bosch, A. (2009). Risk assessment in shellfish-borne out-breaks of hepatitis A. *Appl Environ Microbiol*, 75 (23), 7350-7355.
- Purdy, M. A., Harrison, T. J., Jameel, S., Meng, X. J., Okamoto, H., Van der Poel W. H. M. & Smith, D. S. (2017). ICTV virus taxonomy profile: Hepeviridae. *J Gen Virol*, 98, 2645-2646.
- Razafimahefa, R. M., Ludwig-Begall, L. F. & Thiry, E. (2020). Cockles and mussels, alive, alive, oh* The role of bivalve molluscs as transmission vehicles for Human Norovirus infections. *Transbound. Emerg Dis*, 67 (S2), 9-25.
- Reuter, G., Boros, A. & Pankovics, P. (2011). Kobuviruses- a comprehensive review. *Rev Med Virol*, 21 (1), 32-41.
- Rivadulla, E. & Romalde, J. L. (2020). A comprehensive review on Human Aichi virus. *Virol Sin*, 35 (5), 501-516.
- Robilotti, E., Deresinski, S. & Pinsky, B. A. (2015). Norovirus. *Clin Microbiol Rev*, 28 (1), 134-164.
- Rzezutka, A. & Cook, N. (2004). Survival of human enteric viruses in the environment and food. *FEMS Microbiology Rev*, 28 (4), 441-453.
- Sanchez, G. (2015). Processing strategies to inactivate hepatitis A virus in food products: a critical review. *Compr Rev Food Sci and Food Saf*, 14 (6), 771-784.
- Sanchez, G. & Bosch, A. (2016). Survival of Enteric viruses in the environment and food. In, Goyal SM, Cannon JL. Editors. *Viruses in Foods, Food Microbiology and Food Safety*. Switzerland: Springer International Publishing; pp. 367-392.
- Sanchez, G., Elizaquível, P. & Aznar, R. (2012). Discrimination of infectious hepatitis A viruses by propidium monoazide real-time RT-PCR. *Food Environ Virol*, 4 (1), 21-25.
- Sanchez-Vega, R., Elez-Martínez, P. & Martín-Belloso, O. (2014). Influence of high intensity pulsed electric field processing parameters on antioxidant compounds of broccoli juice. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 29, 70-77.
- Sarvikivi, E., Roivainen, M., Maunula, L., Niskanen, T., Korhonen, T., Lappalainen, M. & Kuusi, M. (2012). Multiple norovirus outbreaks linked to imported frozen raspberries. *Epidemiol Infect*, 140 (2), 260-267.
- Sedlak, R. H. & Jerome, K. R. (2013). Viral diagnostics in the era of digital PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 75 (1), 1-4.
- Shah, M. P. & Hall, A. J. (2018). Norovirus illnesses in children and adolescents. *Infect Dis Clin North Am*, 32 (1), 103-118.
- Siebenga, J. J., Vennema, H., Zheng, D. P., Vinjé, J., Lee, B. E., Pang, X. L., Ho, E. C. M., Lim, W., Choudekar, A., Broor, S., Halperin, T., Rasool, N. B. G., Hewitt, J., Greening, G. E., Jin, M., Duan, Z. J., Lucero, Y., O’Ryan, M., Hoehne, M., Schreier, E., Ratcliff, R. M., White, P. A., Iritani, N., Reuter, G. & Koopmans, M. (2009). Norovirus illness is a global problem:

- Emergence and spread of Norovirus GII. 4 variants, 2001–2007. *J Infect Dis*, 200 (5), 802-812.
- Silva, M. M. O., Tauro, L. B., Kikuti, M., Anjos, R. O., Santos, V. C., Gonçalves, T. S. F., Paploski, I. A. D., Moreira, P. S. S., Nascimento, L. C. J., Campos, G. S., Ko, A. I., Weaver, S. C., Reis, M. G., Kitron, U. & Ribeiro, G. S. (2018). Concomitant Transmission of Dengue, Chikungunya, and Zika Viruses in Brazil: Clinical and Epidemiological Findings From Surveillance for Acute Febrile Illness. *Clin Infect Dis*, 69 (8), 1353-1359.
- Sun, Y., Laird, D. T. & Shieh, Y. C. (2012). Temperature dependent survival of hepatitis A virus during storage of contaminated onions. *Appl Environ Microbiol*, 78 (14), 4976-4983.
- Symes, S. J., Gunsekere, I. C., Marshall, J. A. & Wright, P. J. (2007). Norovirus mixed infection in an oyster-associated outbreak: an opportunity for recombination. *Arch Virol*, 152 (6), 1075-1086.
- Tang, J. W. & Holmes, C. W. (2017). Acute and chronic disease caused by enteroviruses. *Virulence*, 8 (7), 1062-1065.
- Todd, E. C. D. & Greig, J. D. (2015). Viruses of foodborne origin: A review. *Virus Adapt Treat*, 7, 25-45.
- Trostle, J. A., Hubbard, A., Scott, J., Cevallos, W., Bates, S. J. & Eisenberg, J. N. S. (2008). Raising the level of analysis of food-borne outbreaks: Food-sharing networks in rural coastal Ecuador. *Epidemiology*, 19 (3), 384-390.
- Uiprasertkul, M., Puthavathana, P., Sangsiriwut, K., Pooruk, P., Srisook, K., Peiris, M., Nicholls, J. M., Chokeyphaibulkit, K., Vanprapar, N. & Auewarakul, P. (2005). Influenza A H5N1 replication sites in humans. *Emerg Infect Dis*, 11 (7), 1036-1041.
- Vinje', J. (2015). Advances in laboratory methods for detection and typing of Norovirus. *J Clin Microbiol*, 53 (2), 373-381.
- Vinje', J., Hamidjaja, R. A. & Sobsey, M. D. (2004). Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. *J Virol Methods*, 116 (2), 109-117.
- Webb, G. W. & Dalton, H. R. (2019). Hepatitis E: an underestimated emerging threat. *Ther Adv Infect Dis*, 6, 1-18.
- WHO (2008). Viruses in food: Scientific advice to support risk management. <https://www.fao.org/3/i0451e/i0451E.pdf>.
- Yamashita, T., Ito, M., Tsuzuki, H. & Sakae, K. (2001). Identification of Aichi virus infection by measurement of immunoglobulin responses in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol*, 39 (11), 4178-4180.
- Yeargin, T. & Gibson, K. E. (2018). Key characteristics of foods with an elevated risk for viral enteropathogen contamination. *J Appl Microbiol*, 2018, 126 (4), 996-1010.