



Gıda Kaynaklı Viral Gastroenteritler

Duygu Alp*, Hakan Kuleaşan

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 32260 Isparta, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Derleme Makale

Geliş 09 Haziran 2018
Kabul 20 Eylül 2018

Anahtar Kelimeler:

Viral gastroenterit
Diyare
Rotavirüs
Norovirüs
Gıda Kaynaklı

*Sorumlu Yazar:

E-mail: duyualp1905@gmail.com

ÖZ

Virüsler, az sayıda gen taşıyan küçük bir genomdan ve bu genomu koruyup konak hücreye girişini sağlayan protein bir kılıftan oluşurlar. Diğer canlılardan farklı olarak aktif bir metabolizmaya sahip değildirler. Çoğalmak için içine girdikleri hücrenin protein sentez ve enzim sistemlerinin kontrolünü ele geçirir, çok sayıda kopyalarını ürettikten sonra çoğunlukla hücrenin ölümüne yol açarak hücreden dışarı çıkarlar. Gıda içerisindeki sayıları değişmez ancak gıda ile iletilebilirler. Uygun işlemlerle gıdalarda etkisiz hale getirilebilirler. Hastalık etmeni bazı virüsler et, süt ve enfekte olmuş hayvanlardan gelen ürünler arasında bulunabilirler. Virüslere bağlı gastroenteritlerin sıklığının özellikle gelişmiş ülkeler başta olmak üzere giderek arttığı gözlenmektedir. Viral gastroenterit etkenlerinden Rotavirüs ve Enterik Adenovirüsler, çocuklarda akut gastroenteritlerin en sık görülen etkenleridir. Gıdalardaki virüsleri saptama yöntemleri yeteri kadar tatmin edici değildir ve gıda tedarikinin rutin olarak izlenmesinde tespiti çok zordur.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(11): 1592-1598, 2018

Food-Borne Viral Gastroenteritis

ARTICLE INFO

Review Article

Received 09 June 2018
Accepted 20 September 2018

Keywords:

Viral gastroenteritis
Diarrhea
Rotavirus
Norovirus
Foodborne

*Corresponding Author:

E-mail: duyualp1905@gmail.com

ABSTRACT

Viruses consist of a small genome carrying a small number of genes and envelope that protects the genome and enters the host cell. Unlike other organisms, they do not have an active metabolism. In order to proliferate, they enter into the cells and take control of the protein synthesis and enzyme systems. After replication in large number of copies, they often leave the cell, causing the death of host cells. Their numbers in foods do not change but they can be transmitted via foods. They can be inactivated by appropriate processes applied to the food material. Some viruses that can cause diseases, they can also be transmitted to people from the food. Some of these viruses can be found in meat, milk and other animal originated products obtained from infected animals. The incidence of gastroenteritis due to viruses is observed particularly on the rise, especially in developed countries. Rotavirus and Enteric Adenovirus are the most common causes of acute gastroenteritis in children. Virus detection methods used in foodstuffs are not sensitive enough, thus their routine monitoring and detection during food chain is very difficult.

Giriş

Dünyada gıda tüketiminin artması ile gıda kaynaklı rahatsızlıklarda da hızlı bir şekilde artış ve yayılma gözlemlenmektedir. Dünya genelinde gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıkların bir nedenini de virüsler oluşturmaktadır. Gıda kaynaklı virüsler; viral gastroenteritler (Nörovirüs, Rotavirüs, Astrovirüs) ve viral hepatitler (sarılık) (Hepatit A ve E) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Viral hepatitlerden Hepatit A ve Hepatit E enterik (bağırsak yolu) yolla bulaşan, genellikle sporadik ve endemik (belli bir bölgede sık görülen) olgularla seyreden hastalıklardır. Bulaşmış oldukları gıdaların tüketilmesi sonucu vücuda girerek hastalıklara neden olan virüslerden bazıları ise; Norwalk ve Norwalk benzeri virüsler, Poliovirüsler, Echovirüsler, Astrovirüsler, Calicivirüsler, Enterik Adenovirüsler, Parvovirüsler ve Rotavirüslerdir (Çakır, 2000; İncili ve Çalıcıoğlu 2016; Gülen ve Hacımustafoğlu, 2013; Avcu ve ark., 2016; Gökteş ve ark., 2018).

Gıda kaynaklı viral enfeksiyonlarda bulaşma başlıca fekal-oral yolla gerçekleşmektedir. Enfekte personel tarafından hazırlanan gıdalar, çiğ veya yeterince pişirilmeden tüketilen ya da pişirildikten sonra kontamine olan gıdalar en önemli bulaşma kaynaklarıdır. İnsanları enfekte eden virüsler, konağa girdikten sonra belirli anatomik bölgelerdeki doku hücrelerinde çoğalırlar. Bunun sonucunda da hastalık belirtileri ortaya çıkar. Oral yolla bulaşan virüsler üst solunum yollarında üreyebildiği gibi mide asiditesini ve safra tuzlarını da geçerek bağırsak epitelinde (bağırsak iç yüzeyini örten hücreler ve salgı yapan bezler) de üreyebilirler. Oral (ağız) yolla organizmaya girip gastrointestinal yolda çoğalan virüsler genellikle çıplak yapıya sahiptirler. Zarflı virüsler ise mide asiditesine, safra tuzlarına ve sindirim enzimlerine duyarlıdır (Ustaçelebi, 1999; Wu ve ark., 2018). Akut gastroenteritler özellikle küçük çocuklarda ölümlerin önemli bir nedeni olabilmektedir (Türkdağı ve Fındık, 2014). Norovirüsler, Rotavirüsler, Adenovirüsler ve Astrovirüsler günümüzde, gıda kaynaklı gastroenterit rahatsızlığı sonucu özellikle 0-5 yaş çocuklarda, yaşlılarda ve hastalarda ölümlere sebep olabilen virüslerdir (Ustaçelebi, 1999).

Virüsler, zorunlu hücre içi parazitlerdir. Bu nedenle kendi genetik materyallerini bir konakçı hücreden diğer bir konakçı hücreye taşıyacak şekilde organize olmuşlardır. Çoğalmak için mutlak bir canlı hücreye gereksinim duyarlar. Bu nedenle canlı hücre dışında canlılık göstermezler. Virüslerin kendine özgün ve diğer mikroorganizmalardan ayrılan birçok özellikleri mevcuttur. Bu özelliklerin başında tek tip nükleik asit içermeleri yani viral genomun ya DNA ya da RNA içermeleri gelmektedir. Virüslerin büyüklükleri nanometre (1 mikron= 1000nm) ile ifade edilir. En büyük virüs grubu olan Pox virüsleri (300nm) dahi en küçük bakteri olarak kabul edilen Chlamydia cisimciğinden daha küçüktür. Virüsler bakterilerden farklı olarak konak hücrelerde replikasyon yolu ile çoğalırlar. Konak hücreyi enfekte edebilme yeteneğine sahip tam bir virüs parçacığına ise virion denilir. Hiçbir yaşamsal etkinliği olmayan virionun görevi, viral genomu bir hücreden diğerine taşımaktır. Virüslerin yaşam döngüsü ise virionun konak hücrenin yüzeyine tutunması

(adsorbsiyon) ile başlar ardından virion veya nükleik asit penetrasyonu (nüfuz etme) gerçekleşir ve virüs tarafından yönlendirilen hücre metabolizması sayesinde nükleik asit ve protein sentezi gerçekleşir. Bu safhanın devamında virüs kapsidinin alt üniteleri olan yapısal proteinleri sentezlenir ve kapsomerlerin yapılması ve nükleik asidin yeni virionların içine girişi ve olgun virionların hücreden salınmasıdır (Ustaçelebi, 1999; Gülsaçan, 2003; Velebit ve ark., 2015; Lakna, 2017; Wu ve ark., 2018).

Bu derlemede gıda kaynaklı bazı viral gastroenteritlerin özellikleri, gıdalardaki varlıklarının tespit edilmesi için uygulanan yöntemler ve oluşturdukları tehlikelerini azaltmaya yönelik yapılan uygulamalar ele alınacaktır.

Viral Gastroenterit Yapan Virüsler

Rotavirüsler

Rotavirüs, dünyada özellikle beş yaş altı çocuklardaki diyarelerde karşımıza çıkmaktadır (Altındış ve ark., 2008; Bayraktar ve ark., 2010; Kızılırmak ve ark., 2017). Reoviridae ailesi üyesi olan Rotavirüs, çift sarmal yapıda, 70 nm büyüklüğünde bir RNA virüsü olup ikozahedral, zarfsız, araba tekerleğini andıran bir görünüme sahiptir (Kızılırmak ve ark., 2017; Kurugöl ve Devrim, 2014). Ilıman iklim bölgelerinde, çoğunlukla kış aylarında küçük çocuklar ve erişkinlerde ciddi dehidratasyona (vücuttan aşırı su kaybedilmesi) sebep olan gastroenteritlerdir (Türkdağı ve Fındık, 2014; Kızılırmak ve ark., 2017; Kurugöl ve Devrim 2014; Biçer ve ark., 2011). Sulu diyare (ishal), kusma, iştahsızlık, karın ağrısı ve ateş gibi bulgular hastalığın belirtileri arasındadır (Gültepe ve ark., 2012). Virüs, kuruluğa dayanıklıdır, dolayısı ile ellerde, mobilyalar ve oyuncaklar gibi eşyalar üzerinde yaşamını sürdürebilmektedirler (İrvem ve ark., 2014).

Adenovirüsler

Norovirüsler ve Rotavirüsler'in ardından Adenovirüsler, en sık rastlanılan gastroenterit etkenidir. Adenovirüsler 1953 yılında insan adenoid (bağışıklık sisteminde görev alan lenf benzeri doku) dokusundan izole edilmiş ve ilk kaynağını belirtmek üzere bu adı almıştır. 1999 yılında Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi tarafından Adenovirüsler tür ve serotiplerine ayrılmıştır. 19 insan Adenovirüs türünden, 7'si insanları daha sık enfekte etmektedir ve bu türler A'dan G'ye kadar belirlenmiştir (Tran ve ark., 2010; Var ve Çelik, 2017). Adenovirüsler çift zincirli, zarfsız DNA virüsleridir. Adenovirüs tip 40 ve 41 (Enterik Adenovirüsler) Rotavirüslerden sonra en önemli diyare nedenidir. Gastroenteritin inkübasyon süresi 8-10 gündür, diyare 5-12 gün sürer ve nadiren 2 haftayı geçer. Adenovirüsler ile oluşan diğer bir bağırsak rahatsızlığı ise kabızlıktır. Bu rahatsızlığa genelde solunum yolu enfeksiyonu öncülük eder. Adenovirüsler mezenterik adenit nedeni ile mekanik tıkanmaya neden olarak kabızlık yapabilmektedir (Ustaçelebi, 1999; Fritzing ve ark., 2011; Biçer ve ark., 2012; Desselberger ve Gray, 2013). Adenovirüsler, doğrudan temas, fekal-oral yolla ve/veya damlacık yoluyla bulaşabilirler. Virüs masa, kapı kolu, telefon,

kalem gibi yüzeylerde uzun süre canlı kalabilir. Adenovirüslerin özellikle kışla, okul, işyeri ve hastane gibi toplu yaşam koşullarında salgın şeklinde solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabileceği bilinmektedir (Öztürk ve ark., 2014).°

Hepatit A ve Hepatit E

Gıda kaynaklı viral hepatitlerden, Hepatit A virüsü *Picornaviridae* ailesi, *Hepatovirüs* genusunda, Hepatit E ise *Hepeviridae* ailesi, *Hepevirüs* genusunda yer almaktadır. Gıda kaynaklı viral enfeksiyonlarda en yaygın bulaşma yolu fekal-oral olmakla birlikte, kan ve kan ürünleriyle ve kişiden kişiye temas yoluyla da bulaşabilmektedirler (Bean ve ark., 1996; Ustaçelebi, 1999; Bosch ve ark., 2016). Hepatit A virüsü diğer Picornavirüslere oranla olumsuz çevre koşullarına oldukça dayanıklıdır. Düşük pH seviyelerinde stabildir. Oda sıcaklığında ve pH 1'de virülens özelliklerini 5 saat kadar koruyabilmektedir. Hepatit A virüsü normal kaynatma işlemi ile (~100°C) 5 dakikada inaktive olurken, nötral pH'da 60°C'de 60 dakikada etkilenmemektedir. Hepatit A virüsü başlıca fekal-oral yolla bulaşmakta, bulaşma ya kişiden kişiye direkt temasta ya da kontamine su veya gıdanın alınmasıyla olmaktadır (Ustaçelebi, 1999; Fiore, 2004; İncili ve Çalıcıoğlu, 2016).

Hepatit E virüsü *Hepeviridae* ailesi içerisinde, *Hepevirüs* genusunda sınıflandırılmaktadır ve bu ailenin tek üyesidir. Hepatit E virüsü 27-34 nm çapında, tek iplikli RNA taşıyan, zarfsız bir virüstür (Mizuo ve ark., 2005; Panda ve ark., 2007; Mushahwar, 2008; İncili ve Çalıcıoğlu, 2016; Bosch ve ark., 2016). Ilıman iklime sahip ülkelerde genellikle Kasım, Aralık, Ocak aylarında kendini gösterirken, virüsün endemik olarak bulunduğu coğrafyalarda ise yıl boyu görülmektedir. Su kaynaklı salgınlarda büyük çoğunluğu yağmur sezonlarında ya da hemen sonra ortaya çıkmaktadır (Balayan, 1997; Mushahwar, 2008). Gıdalar dışında, kan ve kan ürünleriyle, kişiden kişiye, anneden bebeğe ve zoonotik bulaşma ile görülebilmektedir. Hepatit E esas olarak su kaynaklı salgınlara neden olmaktadır. Korunma için alınacak önlemlerin başında temiz su kaynaklarına erişimin sağlanması ve içilebilir su kaynaklarının atık sularla bulaşmasının engellenmesi gelmektedir. İçme sularının kullanımdan önce kaynatılması, uygun şekilde klorlanması gibi önlemler salgınlarda görülme riskini azaltabilmektedir (Emerson ve ark., 2005; İncili ve Çalıcıoğlu, 2016).

Kabuklu deniz ürünleri, ahududu, çilek, pastacılık ürünleri, salatalar, sandviçler, çiğ sebzeler, dondurma, peynir, sütlaç, meyve suları, ekmek, krema, çiğ süt gibi ürünler Hepatit A salgınlarında önemli rol oynamaktadır. Kirli sularda yetiştirilen veya avlanan deniz kabukluları, Hepatit A ve E salgınları açısından önemli bir kaynaktır. Çiğ sebze ve meyvelerin kontaminasyonu ise ürünlerin yetiştirilmesi, işlenmesi, dağıtımı ve hazırlanması gibi aşamalarda gerçekleşmektedir (Crocì ve ark., 2005; Terio ve ark., 2010; İncili ve Çalıcıoğlu, 2016; Li ve ark., 2018).

Norovirüs

Norovirüslerin genom analizleri; bunların *Caliciviridae* ailesi içinde klasik insan enterik virüslerden

ayrı bir alt grup olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Norovirüs virüs ilk kez 1969 yılında Norwalk Ohio'da epidemik gastroenteritli kişilerin dışkılarında tanımlanmıştır. Bu nedenle Norwalk ajanı, Norwalk virüsü Norwalk-Like virüs olarak da adlandırılmıştır. Zarfsız, 27-32 nm çapında, tek iplikli RNA ve 150 baz çiftlik RNA polimeraz geni içeren virüslerdir (Ustaçelebi, 1999; Hardy ve ark., 2005; Morillo ve ark., 2011; Gülen ve Hacimustafaoglu, 2013; Katayama ve ark., 2014; Robilotti ve ark., 2015; Vinjé 2015; Bosch ve ark., 2016; Ettayebi ve ark., 2016; Jaxsens ve ark., 2017). Deterjan, kuruluk, ısı ve asitlere oldukça dayanıklı ve etere karşı dirençlidir. Oda sıcaklığında pH 2.7'de 3 saat, nötral pH'da 60°C'de 1 saat enfektif olarak kalabilmektedir (Ustaçelebi, 1999). Calicivirüsler ağırlıklı olarak oral yoldan enfeksiyona neden olurlar. Virionlar aside dayanıklı olup ve mideden geçerek hayatta kalabilirler (Morillo ve ark., 2011).

Norwalk virüsü, akut bakteriyel olmayan insan gastroenteritinin ana nedeni olup, gıdadan veya dışkıdan kişiye fekal-oral yolla bulaşarak tüm dünyada yetişkinleri ve çocukları etkilemektedir (Leclerc ve ark., 2008; Morillo ve ark., 2011; Robilotti ve ark., 2015; Vinjé 2015; Ettayebi ve ark., 2016; Jaxsens ve ark., 2017; Li ve ark., 2018). Hastaneler, okullar, üniversiteler, kamp alanları, taşıtlar ve dinlenme tesisleri, oteller ve lokantalarda görülen büyük akut diyare salgınlarında bu virüse sıkça rastlanmaktadır ancak gıda kalite kontrolünün ağırlıklı olarak bakteri kirliliğine dayalı olmasından dolayı virüs bulaşmaları pek bildirilmemektedir (Kurugöl ve Devrim, 2014).

Enterovirüsler

Enterovirüsler, izometrik çıplak virüslerdir. Virüs 28-30nm çapında ve ikozahedral simetridir ve virüs genomu düz, tek iplikli RNA şeklindedir. Enterovirüsler içerisinde yer alan ve gıda kaynaklı enteritlere sebep olan iki virüs grubu bulunmaktadır. Bunlardan, Poliovirüsler, enterovirüslerin morfolojik ve kimyasal özelliklerini göstermektedir. Oda sıcaklığında günlerce, +4°C'de haftalarca ve -20°C'de yıllarca canlı kalabilirler. Deterjanlara ve pH 3 ile 5 arasında asite dirençlidir. Süt, krema ve dondurma içerisinde canlı kalabilirler, ancak pastörizasyona duyarlıdır. UV ve kuruluğa karşı dayanıksızdır. Ağız yoluyla alınan bu virüs, ilk üremesini mide-bağırsak sisteminde gerçekleştirir (Ustaçelebi, 1999).

Echovirüsler, doku kültür yöntemlerinin gelişmesini takiben tanımlanmış, fizik ve epidemiyolojik özelliklerinin Poliovirüs'lara benzemesinden dolayı Enterovirüs grubuna alınmış ancak laboratuvar hayvanları için patojen olmaması ve serolojik farklılık göstermesi ile bunlardan farklı olan virüslerdir. Yaşlılarda ve bağışıklık sistemi yetmezliği olanlarda önemli hastalık etmeni olabilmektedirler. Özellikle Echovirüs 18 ve Echovirüs 20 bebeklerde diyareye neden olmaktadır (Ustaçelebi, 1999; Şimşek, 2007).

Astrovirüsler

Virütik gastroenterit rahatsızlıklarının bir diğer sorumlusu olarak da Astrovirüsler gösterilmektedir. 28-30 nm büyüklükte, 5 ya da 6 köşeli yıldız şeklinde görülen virüslerdir. İsmi Latince astron (yıldız) kelimesinden

gelmektedir. Astrovirüs salgınları incelendiğinde kontamine olmuş suların ve gıdaların tüketilmesi ile meydana geldiği ve bunlara ek olarak da fekal-oral yollarla da bulaşabileceği görülmüştür (Ustaçelebi, 1999; Kapoor ve ark., 2009; Var ve Çelik, 2017). Astrovirüsler, ince bağırsaklarda villiler üzerinde matür (olgun) enterositleri (bağırsak lümeninde emilimden sorumlu hücreler) enfekte ederek öldürürler. Birkaç gün sonra kriptlerde (bağırsak bezlerinin içeriye doğru yaptığı kıvrımlar) yeni enterositler gelişir onların yerini alır. Enfeksiyon sonrasında, insan vücudunda koruyucu olabilecek antikolar oluşturulabilir. Astrovirüs rahatsızlıklarında kusma olmaksızın aşırı sulu diyare oluşturabilirler. Hastalık süresi genel olarak 2-3 gündür olmakla birlikte 7-14 gün kadar uzayabilmektedir (Ustaçelebi, 1999).

Gıdalarda Bulunan Virüslerin İnaktivasyonu Ve Önlenmesi

Gıda ya da su yolu ile insanlara bulaşan virüslerin büyük çoğunluğu insan bağırsaklarından kaynaklanmaktadır. İnsan dışkıdaki virüslerin bulaştığı üç ana nokta bulunmaktadır. Bunlar; yıkanmamış eller tarafından dokunulan gıda veya çevre yüzeyleri, insan dışkılarının toprak veya suya arıtma olmadan direk kontaminasyon yoluyla ve atık suyun yetersiz bir şekilde muamele edilmesinden kaynaklanmaktadır. Genel olarak, yeterli seviyede el yıkamasının, diğer insanlara, gıdaya veya çevresel yüzeylere kontamine parmaklardan virüs bulaştırma riskini büyük oranda ortadan kaldıracığı düşünülmektedir (Cliver, 2009; Bosch ve ark., 2016).

Virüslerin elimine edilmesi fiziksel, kimyasal veya biyolojik yollarla olabilir. Isıl işlem uygulaması, (pişirme gibi), virüsleri inaktive etmek için genellikle etkili bir fiziksel yöntemdir, buna karşın soğutma/dondurma işlemleri aynı etkiye sahip değildir (Crocı ve ark., 2005; Cliver, 2015). Hepatit A dışındaki virüslerin büyük çoğunluğu süte uygulanan pastörizasyon işlemi ile tamamen etkisiz hale getirilebilmektedir. UV virüslere karşı etkili ancak gıdanın iç kısmına nüfuz edememesi bu yöntemin bir dezavantajıdır. İyonize radyasyon ise gıdaya iyi nüfuz eder, ancak kullanılan dozlarda virüslere karşı çok etkili değildir. Virüs sayısının düşük olduğu durumlarda, kabuklu deniz hayvanları gibi ürünlerde virüsleri inaktive etmek amacıyla iyonize radyasyon uygulaması, pişirilmelerinden daha etkili olabilmektedir (Cliver, 1990). Bunun haricinde sıkça uygulanan kurutma ile bazı enterik virüsler kolaylıkla inaktif hale getirilebilirler. Ancak Hepatit A ve Norovirüs için bu durum geçerli değildir. Klor, ozon vb. güçlü oksitleyici ajanlar bakterileri öldürmek için geliştirilmiş olmakla birlikte hem kimyasal hem de UV dezenfeksiyonu, su içindeki virüslere ve uygun şekilde işlenmiş atık sulara karşı virüs dezenfeksiyonunda etkili olabileceği düşünülmektedir (Deng ve Cliver 1995; Cliver, 2015).

Asitliği yüksek gıdalar, nötrale yakın pH'ya sahip gıdalara kıyasla, çeşitli depolama sıcaklıklarında, virüs bulundurma ihtimali açısından daha düşüktürler. Isı ile veya dondurularak kurutulmuş gıdalarda ise genellikle virüs inaktivasyonu sağlanabilmektedir (Cliver, 1990). Gıda kaynaklı virüsler fekal-oral yolla ya da meyve ve sebzelerin hasat öncesi aşamada kirli sulama suyu veya

organik gübre ile kirletilebilirler. Kabuklu deniz hayvanlarına ise, kirli sulardan virüs bulaşması potansiyel bir tehlikedir (Lees, 2000). Taze ürünler ve kabuklu deniz ürünleri bu nedenle yüksek riskli gıdalar olarak kabul edilmektedirler (Beart ve Uyttendaele, 2009).

Calicivirüsünün hayatta kalma süresini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, marul ve çilek diskleri (çapı 1 cm) üzerine 10^5 PFU (plak oluşturma birimi) olacak şekilde virüs inoküle etmişlerdir. 4°C 'de 7 gün sonrasında marul üzerinde yaklaşık 2 log-kob/mL azalma gözlemlenirken çilek de 6 gün sonra 2,5 log-kob/mL'den fazla bir azalma gözlemlenmiştir (Mattison ve ark., 2007). Hepatit A ve Calicivirüs üzerine yapılan bir çalışmada ise ticari olarak hazırlanmış, marine edilmiş midye içinde Hepatit A ve Calicivirüs aşılama ve 4°C 'de 4 hafta depolanmışlardır. 1 hafta sonra, Hepatit A'da 1,7 log-kob/mL, Calicivirüs de ise 7 log-kob/mL azalma gözlemlenmiştir (Hewitt ve Greening, 2004).

Yapılan çalışmalarda, bazı enterik virüsler için 72°C 'de 15 sn'lik pastörizasyon işleminde 1 log-kob/mL birimden daha az bir azalma olduğu tespit edilmiş, 3 log-kob/mL ve daha fazla azalmanın sağlanabilmesi için 63°C 'de 30 dak. veya 72°C 'de 2 dak.'lık ısıl işlem koşulları önerilmiştir (Strazyski ve ark., 2001; Beart ve Uyttendaele, 2009).

Sıcaklığın Norovirüslere etkisinin incelendiği bir çalışmada 200°C 'de 12 dakika ısıtılan dondurulmuş pizzada 4 log-kob/mL'lık düşüş tespit etmişlerdir. Asidifikasyonun Norovirüs üzerindeki etkisini incelendiği başka bir çalışmada ise 6°C 'de 58 günlük depolama sonunda, makarna salatasında pH 5'de 0,5 log-kob/mL'lık ketçap da ise pH 4,5'de 0,5 log-kob/mL'lık düşüş olduğu belirlenmiştir (Mormann ve ark., 2010).

Jambon ve taze ürünlerde (çilek) Norovirüs canlılığını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada 4°C 'de 7 gün depolama yapılmış, bu sürenin sonunda yaklaşık 1 log-kob/mL'lık düşme görülmüştür. İki ürün arasında istatistiksel fark bulunamamasına rağmen çalışmacılar jambonun protein ve yağ bakımından zengin olması ve bu bileşiklerin varlığının virüs parçacıklarını koruyacağını ve bu yüzden de virüsü daha fazla koruyacağını düşünmüşlerdir (Mattison ve ark., 2007).

Kıyılmış sebzelerin soğukta muhafaza sonrası Hepatit A virüsünün canlılığının belirlenmesi amacıyla 4°C 'de 9 gün muhafaza edilen örneklerde 2 log-kob/mL azalma saptanmıştır. Ancak havuç ve rezene gibi sebzelerde Hepatit A virüsünün daha uzun süre canlı kalabildiği tespit edilmiş bunun sebebi olarak partikül büyüklüğü ve sebzelerin yapısı olabileceği belirtilmiştir (Crocı ve ark., 2002). Dondurulmuş ahududu, çilek, maydanoz ve fesleğenle yapılan çalışmada Hepatit A sayısının 90 gün boyunca sabit kaldığı ve dondurma yönteminin Hepatit A virüsünü inaktif etmekte etkin bir yöntem olmadığı saptanmıştır (Butot ve ark., 2009). Hepatit A virüsü üzerinde su aktivitesi etkisinin incelendiği bir çalışmada ise inaktivasyonun 20°C 'de por olmayan cansız yüzeylerde 4 saatte sağlanırken, %80 bağıl nem ve %25 bağıl nem kıyaslanmış, %80 bağıl nemde canlılıkta daha fazla azalma olduğu saptanmıştır (Mbithi ve ark., 1991).

Gıdaların muhafazası ve depolanmasında kullanılan dondurarak saklama, kurutma, asitlendirme, modifiye atmosferde paketlenme veya pastörizasyon gibi yöntemler virüsler için çok etkili olmamaktadır (Beart ve

Uyttendaele, 2009). Virüslerin inaktivasyonuna yönelik yapılan çalışmalar sonunda uygulanan yöntemlerin 4 log-kob/mL'lık azalma sağlıyorsa işlemin virüs inaktivasyonunda güvenilir olduğunu, azalma 3 log-kob/mL ise enfeksiyon riskinin düşük olduğu kanısına varılmıştır (Koopmans ve Duizer, 2004).

Gıdalarda Bulunan Virüslerin Tespit Yöntemleri

Virüs tespiti esasen iki ilkeye dayanmaktadır bunlar; hücre kültüründe çoğalma yoluyla bulaşıcı virüslerin saptanması ya da PCR gibi moleküler teknikler ile viral genomların saptanmasıdır. Hücre kültürü ile tespit esas olarak hücreye zarar veren etkilerin oluşumuna dayanır; ardından virüslerin plak tayini, en muhtemel sayı tespiti ile olmaktadır. Son yıllarda, gerçek zamanlı PCR testleri, yüksek hız, hassaslık, tekrarlanabilirlik ve kirliliğin en aza indirgenmesi ile öne çıkmıştır. Bu yöntemler gıda virolojisi alanında yaygın olarak kullanılmakta ve sürekli olarak gelişmektedir (Bosh ve ark., 2011; Hennechart-Collette ve ark., 2015; Marti ve Barardi 2016). Gerçek zamanlı RT-PCR prosedürleri sadece niteliksel değil aynı zamanda niceliksel tespiti de mümkün kılmaktadır (Rutjes ve ark., 2005; Hennechart-Collette ve ark., 2015).

Genel olarak gıdalarda bulunan virüslerin moleküler yöntemlerle belirlenmesinde 3 aşama bulunmakta bunlar sırasıyla; ekstraksiyon, genomik materyalin saflaştırılması ve moleküler yöntemler ile belirleme (RT-qPCR- revers transkriptaz kantitatif PCR) şeklindedir (Summa ve ark., 2012).

Gıdadaki virüs konsantrasyonları düşük olabilir, bu da nispeten büyük hacimde elüsyon tamponunda bulunan virüsün tespit edilmeden önce konsantre edilmesi gerektiğini gösterir. Virüs konsantrasyon yönteminin seçimi, gıda matrisi ve eluant'a bağlıdır. Sık kullanılan konsantrasyon yöntemleri, ultrafiltrasyon ve ultrasantrifüjleme, immunomanyetik ayırma ve presipitasyon (polietilen glikol (PEG) ile) teknikleridir (Bosch ve ark., 2011; Summa ve ark., 2012).

Gıdalardaki enterik virüslerin tespiti esas olarak moleküler tekniklerle yapılır, ancak birkaç sınırlama vardır. Bunlar yanlış negatif sonuçlara yol açabilmektedir. Bu amaçla örnek dilüsyonlarının, daha küçük numune boyutlarına getirilmesi, tween, BSA (sığır serum albümin) veya ticari reaktiflerin ilave edilmesi gibi ön işlemler ile bu durumun üstesinden gelinebileceği düşünülmektedir (Butot ve ark., 2007; Bosch ve ark., 2011). Ancak bazı gıda örneklerinin bir bütün olarak mı yoksa kıyılmış olarak mı analiz edilmesi konusunda fazla literatür bulunmamaktadır. Çoğu viral kontaminasyon, püskürtme ya da sulama sırasında dış kaynaklardan kaynaklanacağı için, sebzeleri bütün ya da kıyılmış analiz etme kararı kritik bir faktör olarak görülmektedir (Bosch ve ark., 2011).

Taze üretilen, az işlenmiş veya hazır gıdalar üzerindeki viral yük düşük olabilir, ancak yine de bir enfeksiyon ve hastalık kaynağı olabilirler örneğin Hepatit A ve Norovirüs gibi virüsler için bulaşıcı dozun yaklaşık 10-100 parçacık olduğu tahmin edilmektedir. Kirli kabuklu deniz hayvanı örneklerinde, Hepatit A virüsünün son zamanlarda gramda 10^3 ila 10^5 genom arasında değişen miktarlarda olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, gıda numuneleri üzerindeki virüslerin tespitine yönelik

yöntemlerin, yüksek seviyede analitik duyarlılık ve özgünlüğe sahip olması gerekmektedir (Bosch ve ark., 2011).

Sonuç

Virüslerin neden olduğu gastroenteritler gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelerdeki çocuklarda epidemilere ve ölümlere yol açmaktadır. Gelişmiş ülkelerde de çocukluk çağının en önemli hastalıklarından biri viral gastroenteritler sayılmaktadır. Bu enfeksiyonlara karşı genel sağlık kuralları eksiksiz olarak uygulanmalı, sanitasyon ve hijyen seviyesi yükseltilmelidir. Fekal-oral yolla bulaşının sık olmasında özellikle alt yapının yeterli olmaması, temiz su ve güvenli gıdaya erişim düzeyi, hijyenik tedbirlerin alınmaması ve insanların hijyen konusunda yetersiz eğitimleri bu enfeksiyonların görülmesinde başlıca etkindir. Bu sebeple hızlı şekilde tanı konulması ve tedavide gereksiz antibiyotik kullanımının da önüne geçilebilmesi için mevcut tespit yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılmalı ve geliştirilmelidirler.

Kaynaklar

- Altındış M, Beştepe G, Çeri A, Yavru S, Kalaycı R. 2008. Akut ishal yakınmalı çocuklarda Rotavirüs ve enterik Adenovirüs sıklığı. *SDÜ Tıp Fak Derg.*, 15(2): 17-20.
- Baert LJ, Uyttendaele DM. 2009. The efficacy of preservation methods to inactivate foodborne viruses. *Int J Food Microbiol.*, 131: 83-94.
- Balayan MS. 1997. Epidemiology of hepatitis E virus infection. *J Viral Hepat.*, 4: 155-165.
- Bayraktar B, Toksoy B, Bulut E. 2010. Akut gastroenteritli çocuklarda Rotavirüs ve Adenovirüs saptanması. *Klinik Derg.*, 23(1): 15-7.
- Bean NH, Goulding JS, Frederick JF, Angulo J. 1996. Surveillance for foodborne-disease outbreaks-united states. 1988-1992. *Mmwr.*, 45-55.
- Biçer S, Şahin GT, Koncay B. 2011. Incidence assessment of Rotavirus and Adenovirus associated acute gastroenteritis cases in early childhood. *Le Infezioni In Medicina.*, 2, 113-119.
- Bosch A, Sánchez G, Abbaszadegan M. 2011. Analytical methods for virus detection in water and food. *Food Anal Methods.*, 4(1): 4-12. DOI: 10.1007/s12161-010-9161-5
- Bosch A, Pinto RM, Susana G. 2016. Foodborne viruses. *Current Opinion in Food Science.*, 8:110-119.
- Butot S, Putallaz T, Sánchez G. 2008. Effects of sanitation, freezing and frozen storage on enteric viruses in berries and herbs. *Int J Food Microbiol.*, 126: 30-35. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.033
- Butot S, Putallaz T, Sanchez G. 2007. Procedure for rapid concentration and detection of enteric viruses from berries and vegetables. *App Environ Microbiol.*, 73(1): 186-192.
- Cliver DO. 2015. Viral foodborne diseases. *Fava-Oie Joint Symposium On Emerging Diseases.*
- Cliver DO. 1990. Food virology. *Biotechnol Biotechnol Equip.*, 4 (5-6): 35-39. <https://doi.org/10.1080/13102818.1990.10818617>
- Cliver DO. 2009. Control of viral contamination of food and environment. *Food Environ Virol.*, 1, 3-9. DOI 10.1007/s12560-008-9005-2.
- Croci L, Medici D, Scalfaro C, Fiore A, Toti L. 2002. The survival of hepatitis A virus in fresh produce. *Int J Food Microbiol.*, 73: 29-34.

- Croci L, Medici D, Pasquale S, Toti L. 2005. Resistance of hepatitis A virus in mussels subjected to different domestic cookings. *Int J Food Microbiol.*, 105:139-144. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.04.008.
- Çakır İ. 2000. Gıda Kaynaklı Virüsler. Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Ankara, (31): 522.
- Deng MY, Cliver DO. 1995. Persistence of inoculated hepatitis A virus in mixed human and animal wastes. *App Environ Microbiol.*, 87-91.
- Desselberger U, Gray J. 2013. Viral gastroenteritis. *Gastrointestinal Infect. Med.*, 41: 12. DOI:10.5222/TMCD.2014.098
- Emerson UE, Arankalle VA, Purcell RH. 2005. Thermal stability of hepatitis E virus. *J Infec Dis.*, 192:930-3.
- Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR. 2016. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science.*, 353:1387-1393.
- Fiore AE. 2004. Features of hepatitis A. *CID.*, 38: 705-15.
- Fritzinger AE, Walters CC, Kelly ST, Toney DM. 2011. Viral gastroenteritis: pathogenesis and laboratory detection and characterization in the commonwealth of virginia. *Clin. Microbiol. Newsl.*, 33: 4.
- Göktaş Ş, Gökmen A, Şamlıoğlu P. 2018. Akut Gastroenterit Etkenlerinin Moleküler Yöntemlerle Saptanması. *JCEI.*, 9 (1):21-25.
- Gülen A, Hacimustafaoğlu M. 2013. Çocuklarda akut infeksiyöz gastroenterilere genel yaklaşım. *Ankem Derg.*, 27(3):147-157. DOI:10.5222/ankem.2013.147
- Gülsaçan M. 2003. Virüsler. *Bilim ve Teknik Derg.*, 56-59.
- Gültepe B, Yaman G, Çıkman A, Güdücüoğlu H. 2012. Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerde Rotavirüs ve Adenovirüs sıklığı. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 42(1):16-20.
- Hardy ME. 2005. Norovirus protein structure and function. *FEMS Microbiology Letter.*, 253:1-8.
- Hennechart-Collette C, Martin-Latil S, Guillier L, Perelle S. 2015. Determination of which virus to use as a process control when testing for the presence of hepatitis A virus and norovirus in food and water. *Int. J. Food Microbiol.*, 202: 57-65.
- Hewitt Ji, Greening GE. 2004. Survival and persistence of Norovirus, hepatitis A virus, and feline Calicivirus in marinated mussels. *J.Food Protec.*, (67) 8: 1743-1750. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviro.2012.04.006>.
- İncili GK, Çalıcıoğlu M. 2016. Gıda kaynaklı viral hepatitler ve gıda güvenliği. *F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.*, 30 (3): 247 - 252.
- İrvem A, Yücel FM, Yıldırım M, Kadanalı A, Dede B. 2014. Akut gastroenteritli çocuk hastalarda Rotavirüs görülme sıklığı. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 44 (3): 98-100.
- Jacxsens L, Stals A, De Keuckelaere A, Deliens B, Rajkovic A, Uyttendaele M. 2017. Quantitative farm-to-fork human norovirus exposure assessment of individually quick frozen raspberries and raspberry puree. *Int J Food Microbiol.*, 242, 87-97.
- Kapoor A, Victoria LLJ, Oderinde B. 2009. Multiple novel Astrovirus species in human stool. *J Gen Virol.*, 90: 2965-2972. DOI 10.1099/vir.0.014449-0.
- Katayama K, Murakami K, Sharp TM. 2014. Plasmid-based human Norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA. *PNAS.*, 4043-4052.
- Kızıllırmak A, Çalışkan E, Temizkan RC. 2017. Akut gastroenteritli çocuklarda Rotavirüs ve Adenovirüs sıklığı. *Konuralp Tıp Derg.*, 9(2):35-39. DOI:10.18521/kt.296653
- Koopmans M, Duizer E. 2004. Foodborne viruses: an emerging problem. *Int J Food Microbiol.*, 90: 23- 41.
- Kurugöl Z, Devrim İ. 2014. Gastrointestinal Infections. *J. Pediatr Inf.*, 8, 71-81.
- Lakna P. 2017. Difference between bacteria and virus. [<http://pediiaa.com/differencebetweenbacteriaandvirus>] (Erişim tarihi: 2 Mart 2017).
- Leclerc H, Schwartzbrod L, Dei-Cas E. 2008. Microbial agents associated with waterborne diseases. *Crit Rev Microbiol.*, 28 (4): 371-409. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046768>
- Lees D. 2000. Viruses and bivalve shellfish. *Int J Food Microbiol.*, 59: 81-116.
- Li D, Butot S, Zuber S, Uyttendaele M. 2018. Monitoring of foodborne viruses in berries and considerations on the use of RT-PCR methods in surveillance. *Food Control.*, 89: 235-240.
- Marti E, Barardi CRM. 2016. Detection of human adenoviruses in organic fresh produce using molecular and cell culture-based methods. *Int J Food Microbiol.*, 230: 40-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.018>.
- Mattison K, Karthikeyan K, Abebe M. 2007. Survival of calicivirus in foods and on surfaces: experiments with feline Calicivirus as a surrogate for Norovirus. *J Food Prot.*, (70) 2: 500-503.
- Mbithi JN, Springthorpe VS, Sattar SA. 1991. Effect of relative humidity and air temperature on survival of hepatitis A virus on environmental surfaces. *App Environ Microbiol.*, 57(5): 1394-1399.
- Mizuo H, Yazaki Y, Sugawara K. 2005. Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and for the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan *J Med Virol.*, 76: 341-349.
- Morillo SG, Sampaio MC, Timenetsky T. 2011. Norovirus: an overview. *Rev Assoc Med Bras.*, 57(4): 453-458.
- Mormann S, Dabisch M, Becker B. 2010. Effects of technological processes on the tenacity and inactivation of norovirus genogroup II in experimentally contaminated foods. *App Environ Microbiol.*, 536-545. DOI:10.1128/AEM.01797-09
- Mushahwar IK. 2008. Hepatitis E virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *J Med Virol.*, 80:646-658. DOI 10.1002/jmv.21116.
- Öztürk O, Demir B, Yalçın BM, Ünal M, 2014. Birinci basamakta Adenovirüs enfeksiyonları. *Klinik Tıp Aile Hekimliği Derg.*, (6):3: 21-25.
- Panda KS, Thakral D, Rehman S. 2007. Hepatitis E virus. *Rev Med Virol.*, 17: 151-180. DOI: 10.1002/rmv.522.
- Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. 2015. Norovirus. *CMR.* 28 (1): 135-163.
- Rutjes SA, Italiaander R, Van Den Berg HRJ, Lodder WJ, Husman AM. 2005. Isolation and detection of enterovirus RNA from large-volume water samples by using the nucleic acid sequence-based amplification. *App Environ Microbiol.*, 71(7): 3734-3740. DOI:10.1128/AEM.71.7.3734-3740.
- Strazynski M, Kramer J, Becker B. 2001. Thermal inactivation of poliovirus type 1 in water, milk and yoghurt. *Int J Food Microbiol.*, 74: 73-78.
- Summa M, Bonsdorff CR, Maunula L. 2012. Evaluation of four virus recovery methods for detecting noroviruses on fresh lettuce, sliced ham, and frozen raspberries. *J VirolMet.*, 183:154-160.
- Şimşek G. 2007. Viral Enfeksiyonlar. [Diş Hekimliğinde Bitirme Tezi], İzmir, Ege Üniversitesi.
- Terio V, Pinto A, Di Pinto D, Martella V, Tantillo G. 2010. RNA extraction method for the PCR detection of hepatitis A virus in shellfish. *Int J Food Microbiol.*, 142: 198-201.
- Tran A, Talmud D, Lejeune B. 2010. Prevalence of Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, and Astrovirus infections and coinfections among hospitalized children in Northern France. *JCM.*, 48 (5): 1943-1946. DOI:10.1128/JCM.02181-09

- Türk Dağı H, Fındık D. 2014. Akut gastroenteritli hastalarda Rotavirüs ve Adenovirüs antijenlerinin araştırılması. JCEI., 5(2): 256-260. DOI: 10.5799/ahinjs.01.2014.02.0398
- Ustaçelebi Ş. 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara, Türkiye.
- Var I, Çelik Ç. 2017. Salgınlara neden olan bazı gastroenterit virüslerinin irdelenmesi. GIDA, 42 (4): 392-404. DOI: 10.15237/gida.GD16096
- Velebit B, Radin D, Teodorovic V. 2015. Transmission of common foodborne viruses by meat products. Procedia Food Sci., 5: 304-307.
- Vinje J. 2015. Advances in Laboratory Methods for Detection and Typing of Norovirus. J Clin Microbiol., 53(2):373-381.
- Wu Y, Liu X, Chen Q, Liu H, Dai Y, Zhou Y, Wen J, Tang Z, Chen Y. 2018. Surveillance for foodborne disease outbreaks in China, 2003 to 2008. Food Control., 84: 382-388.