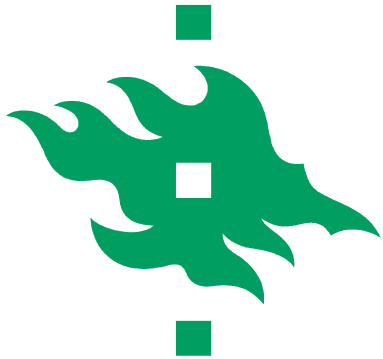


Norovirukset pinnoilla ja niiden leviäminen elintarvikkeita käsiteltäessä

Viruskontaminaatioiden hallinta elintarviketuotannossa –seminaari

Maria Rönnqvist

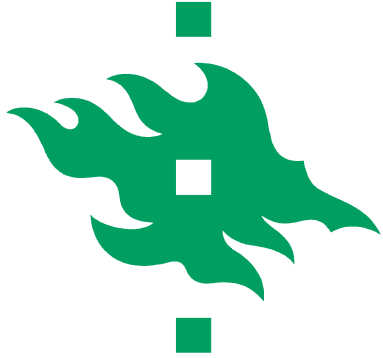
Helsingin yliopisto



Norovirus – miksi se on niin nopea ja tehokas leviäjä?

- Nopeasti alkavat oireet (oksentelu, ripuli)
- Feko-oraalinen tartuntareitti
- Virusta eritetään runsaasti, jopa 10^{10} /g ulostetta
 - Eritetään myös oksennukseen
 - Eritys voi jatkua jopa kolme viikkoa
- Infektioannos on pieni

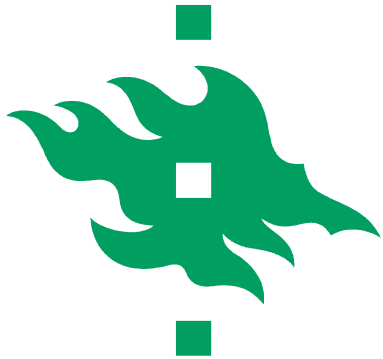
Mikä on ympäristön pintojen (ja ihmiskäsien) rooli noroviruksen leviämisessä?



Virusten osoitus pintanäytteistä

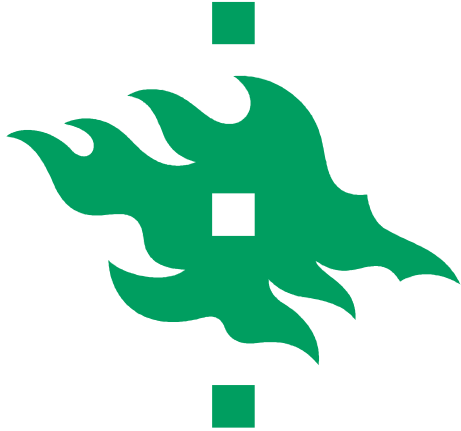
- Etuja:
 - Näytteenotto helppoa, osoitusmenetelmässä vain vähän vaiheita
 - Tukee epidemiologista selvitystä
- Haasteita:
 - Näytteenotto ajoitettava oikein
 - Ei erottele elintarvikevälikkeistä epidemiaa





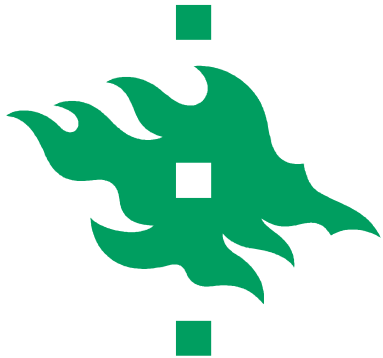
Tutkimuksen tavoitteet

1. Kehittää toimiva pintanäytteiden ottomenetelmä noroviruksille
2. Selvittää noroviruksen esiintymistä elintarviketeollisuuden tiloissa, joissa ei ole (tiedossa) käynnissä olevaa norovirusepidemiaa
3. Selvittää noroviruksen leviämistä elintarvikkeita käsiteltäessä, esimerkkinä kurkkuvoileivän valmistus



Pintanäytemenetelmän kehittäminen norovirukselle



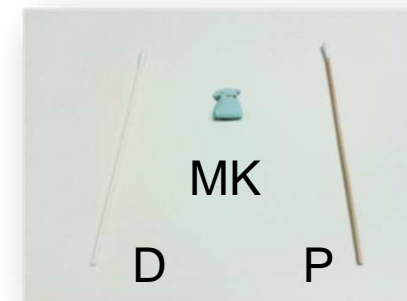


Vertailukoe

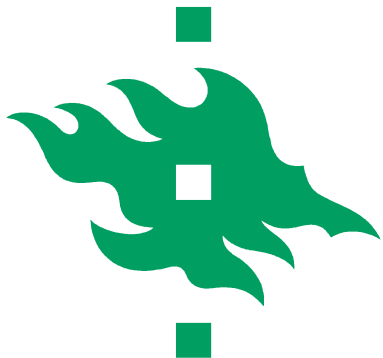
- Näytteenottovälineet:
 - Polyesteritikku
 - Mikrokuituliina
 - Nukkatikku
 - Puuvillatikku

- Tutkittavat pinnat:
 - Latexhanska
 - Muovinen leikkuulauta
 - Ruostumaton terästarjotin
 - Kurkun pinta

- Tutkittavat puskurit:
 - PBS, pH 7
 - Glysiinipuskuri pH 9,5



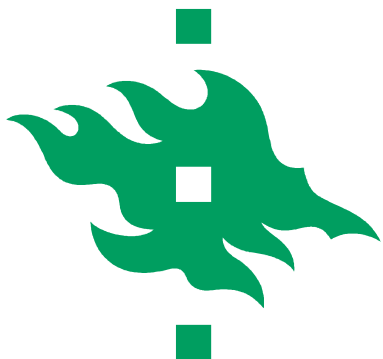
Kuvat: E. Aho



Menetelmä

- Norovirus lisättiin pisaroina 5 x 5 cm pinnalle ja pisaroiden annettiin kuivua 1 h
- Näyte otettiin hankaamalla pintaa kostutetulla näytteenottovälineellä





Menetelmä (2)

- Virus irrotettiin näytteenottovälineestä puskuriliuokseen
- Puskuriliuoksesta eristettiin viruksen RNA
- Viruksen läsnäolo osoitettiin reaaliaikaisella käänteiskopiointi-PCR:llä



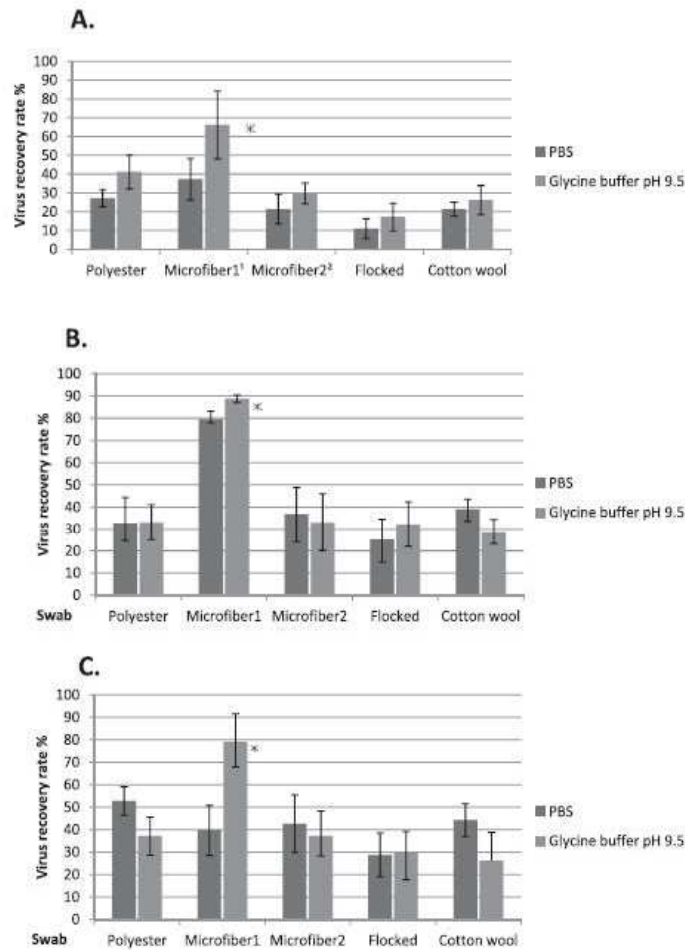


FIGURE 1. Virus recoveries (%; mean \pm SD) of inoculated HuNoV GII.4 (10^2 pcr-u) using the surface swab sampling technique. Inoculated surfaces were latex (A), PELD plastic (B), and stainless steel (C). Microfiber 1, first lot of microfiber cloth, manufactured before 2010; microfiber 2, second lot of microfiber cloth, manufactured in 2011; *, swab implicated with statistical significance ($P < 0.05$).

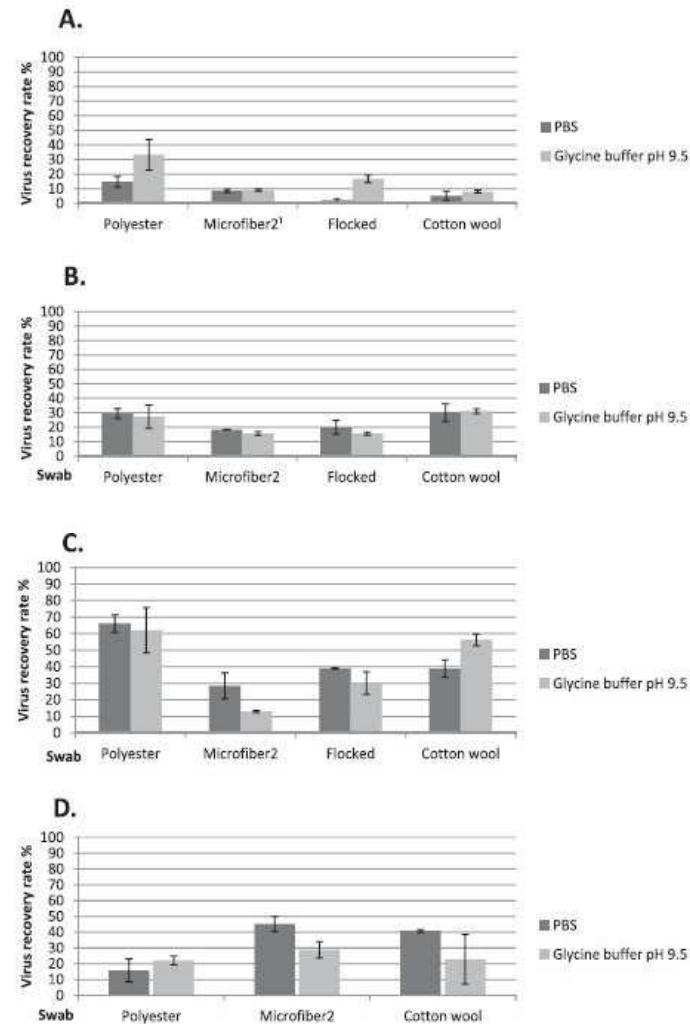
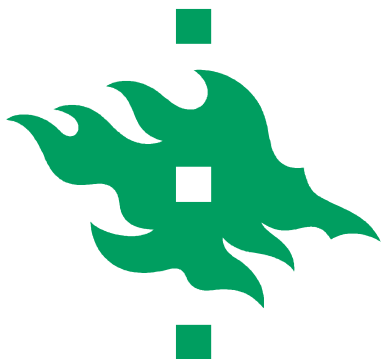


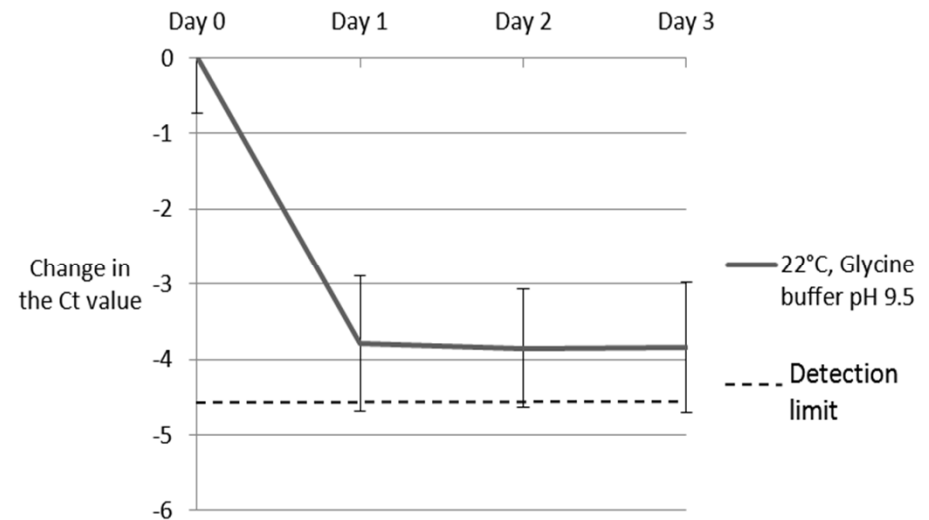
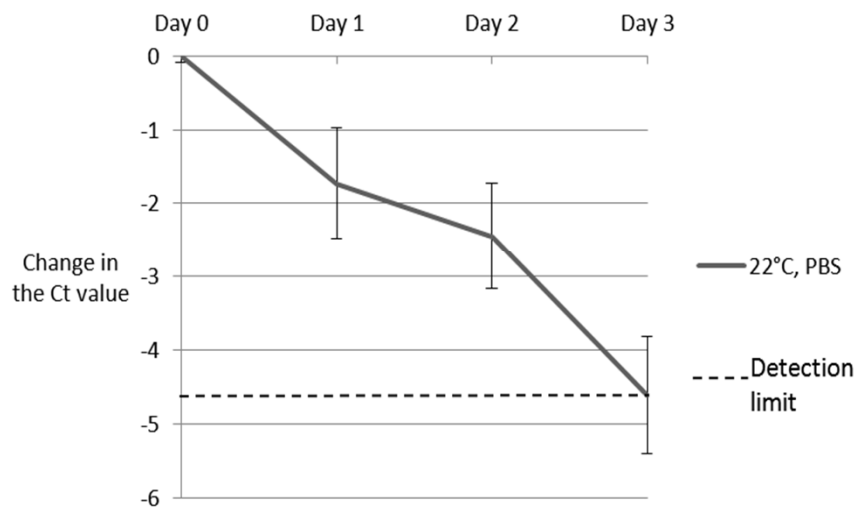
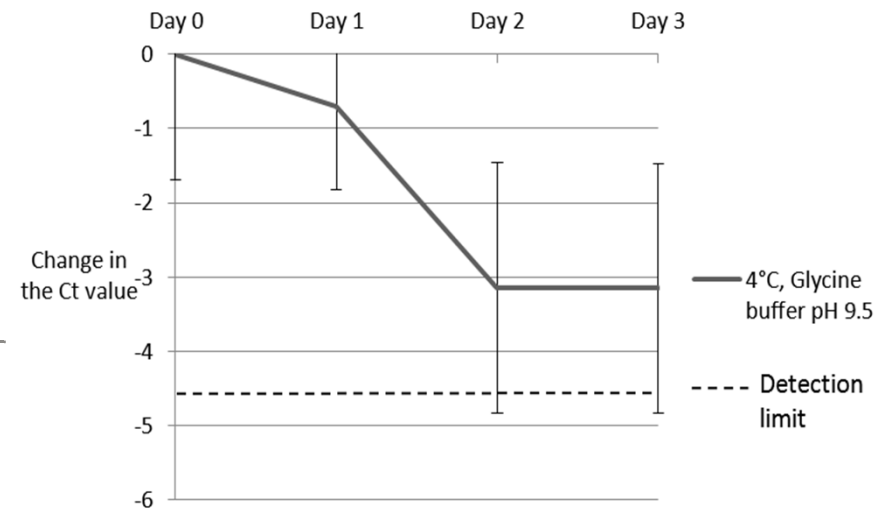
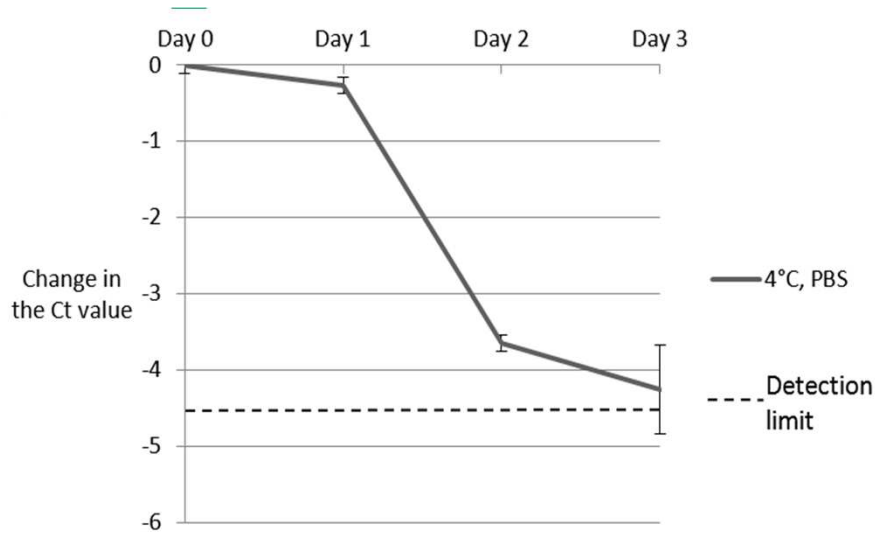
FIGURE 2. Virus recoveries (%; mean \pm SD) of inoculated HuNoV GII.4 (10^4 pcr-u) using the surface swab sampling technique. Inoculated surfaces were latex (A), PELD plastic (B), stainless steel (C), and cucumber (D). Microfiber 2, second lot of microfiber cloth, manufactured in 2011.



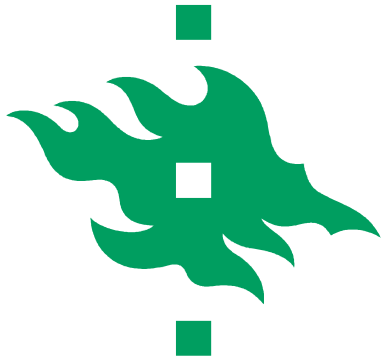
Viruksen säilyvyys näytteenottovälineessä

- Kuinka pitkään pintanäytettä voi säilyttää?
- Miten hyvin virukset selviävät pintanäytteessä
 - Viileässä?
 - Huoneenlämmössä?





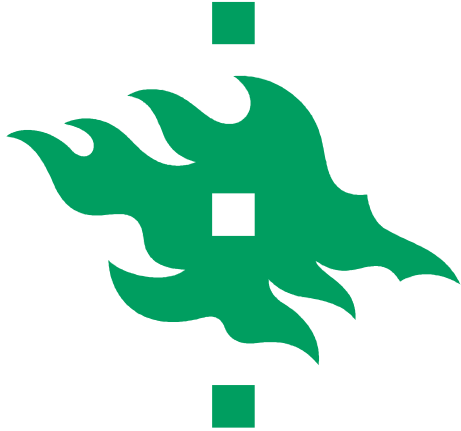
Rönnqvist ym. 2013



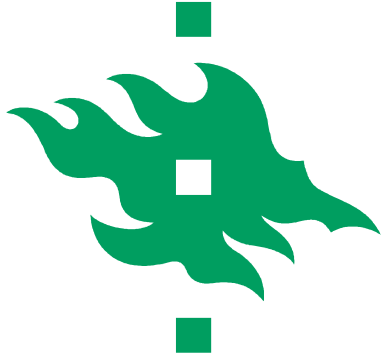
Johtopäätökset

- Norovirusta pystytään osoittamaan erilaisilta ympäristön pinnoilta ja ainakin vahapintaisten elintarvikkeiden pinnoilta
- Virukset säilyvät näytteenottovälineessä parhaimmillaan päiviä, säilytys mielellään viileässä

- Kun näytteet otetaan itse:
 - Mikrokuituliina
 - Glysiinipuskuri pH 9,5
- Kun elintarviketeollisuuden oma henkilökunta ottaa näytteet:
 - Mikrokuituliina
 - PBS



Noroviruksen esiintyminen elintarviketeollisuuden tiloissa, joissa ei tiedossa norovirusepidemiaa



Noroviruksen esiintyminen – ei epidemiaepäilyä

- Näytteitä otettiin sellaisenaan syötäviä elintarvikkeita valmistavien yritysten linjastoista ja taukotiiloista
- Yksittäiset näytteenotokerrat
 - Tutkimuksen aikana kerättiin pieni erä elintarvike- ja vesinäytteitä, joista myös tutkittiin noroviruksen esiintyminen
- Vuoden seurantatutkimus
 - Vuoden seurantatutkimuksen aikana yritysten työntekijät täyttivät puolen vuoden välein kyselylomakkeen, jossa kysyttiin työntekijöiden mahatautisairastumisista

(B) Sairastumisiin liittyvä kysymykset

Ole hyvä ja vastaa kysymyksiin ajanjaksolta 1.1.2011–30.6.2011 (viimeiset 6 kk) rengastamalla sopiva vastausvaihtoehto.

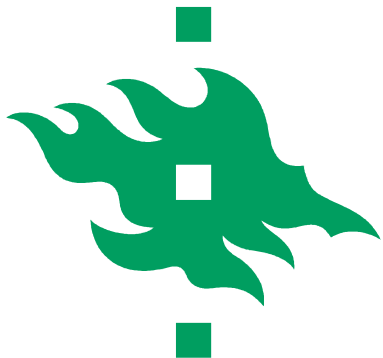
(4) Montako kertaa olet ollut vatsataudissa (oireet: ripuli, vatsakipu, oksentelu tai kuume tai jokin näiden yhdistelmä)?

- a. en kertaakaan
- b. yhden kerran
- c. 2 kertaa
- d. 3 kertaa
- e. 4 kertaa tai useammin

(5) Montako kertaa olet ollut poissa töistä vatsataudin takia?

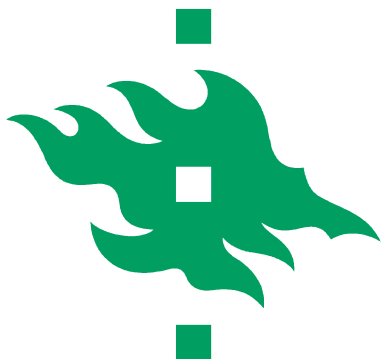
- a. en kertaakaan
- b. yhden kerran
- c. 2 kertaa
- d. 3 kertaa
- e. 4 kertaa tai useammin

(6) Montako kertaa olet joutunut olemaan töissä vatsataudissa (oireet hellittäneet alle vuorokausi ennen töihin tulemistä)?



Kyselytutkimuksen tulokset

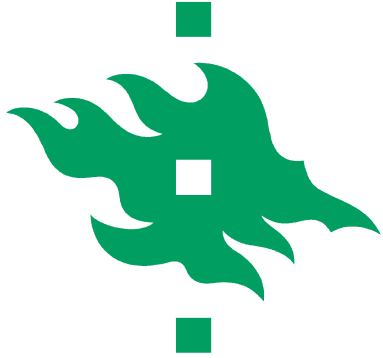
- Vastaajia 90 keväällä ja 51 syksyllä 2011
- Vatsataudin oireita
 - Keväällä 38,9 %:lla
 - Syksyllä 20,3 %:lla
- Noin 50 % vastaajista myönsi työskennelleensä päivinä, jolloin heillä oli ollut vatsataudin oireita



Noroviruksen esiintyminen – tulokset

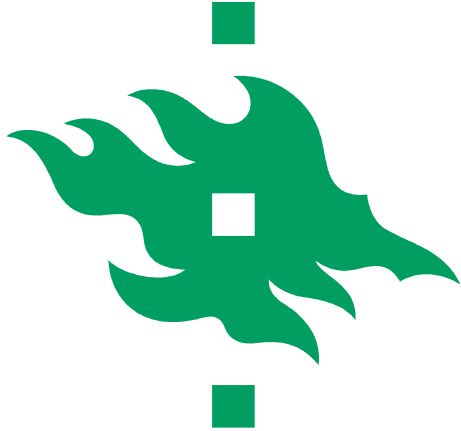
Näytteenotto-kerta	Linja	Taukotila	Työntekijöiden WC	Raaka-aine	Vesi	Valmis elintarvike
Kevät 2010	3/30 (GII)	2/30 (GII)	0/30			
Vuoden seuranta 2011	0/36	4/132 (GII) 2/tammi 1/touko 1/marras	-	0/16	1*/5	
Kevät 2012	0/30	2/30 (GII)	4/30 (GII)	0/5		0/6

* Positiivista tulosta ei saatu toistettua



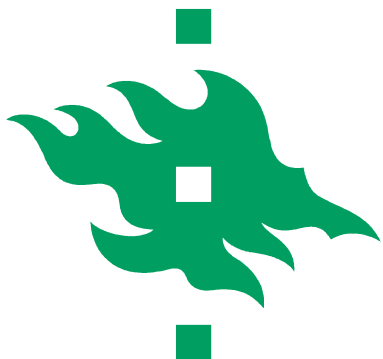
Johtopäätökset

- Noroviruksen genomia esiintyy tiloissa, joissa ei tiedossa olevaa epidemiaa
- Kaikki löydökset genoryhmää II
- Norovirusta esiintyy sellaisilla pinnoilla, joita kosketaan paljon käsin
 - Elintarviketyöntekijöiden käsihygienia erittäin tärkeää
 - Siivoustoimet tulisi kohdistaa myös näihin pintoihin, lattioiden ja pöytäpintojen siivous ei riitä



Noroviruksen leviäminen elintarvikkeita käsiteltäessä

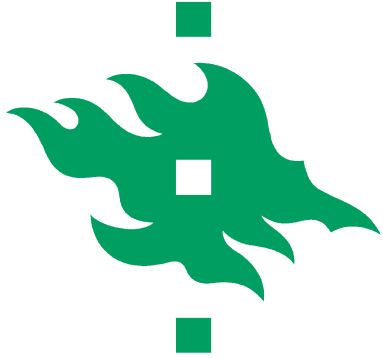
Esimerkkiprosessina kurkkuvoileivän valmistus



Noroviruksen leviäminen

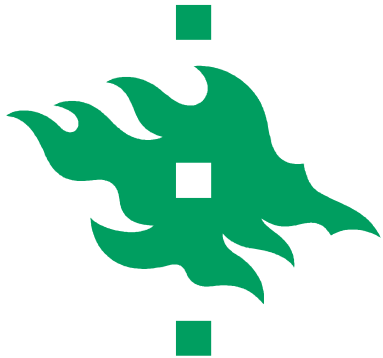
- Elintarvikevälitteisten norovirusepidemioiden taustalla usein virusta erittänyt/levittänyt työntekijä
- Puutteellinen käsihygienia on riski noroviruksen leviämiseksi vaikka elintarvikkeita käsiteltäisiin hanskat kädessä:

Virus			Siirtymä (RT-PCR)		
	Oikea käsi	Vasen käsi		Oikea käsi	Vasen käsi
Kosteassa ympäristössä		X	Kosteassa ympäristössä	2/3	3/3
	X			3/3	3/3
Kuivuneena		X	Kuivuneena	2/3	3/3
	X			2/3	3/3



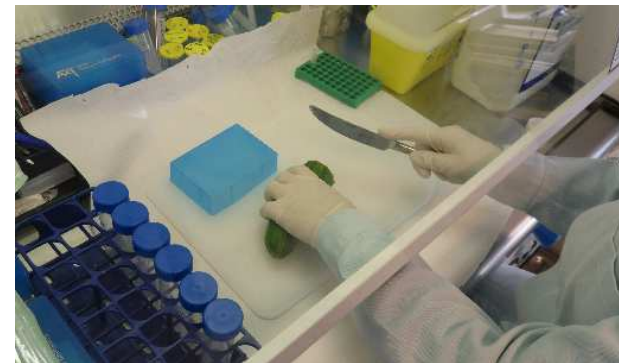
Noroviruksen leviäminen -koeasetelma

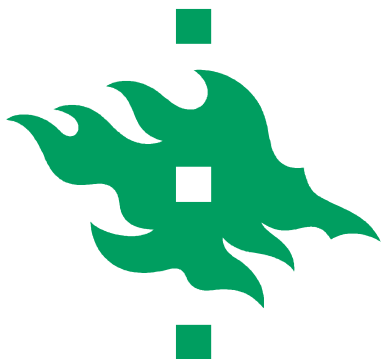
- Norovirusten leviämistä tutkittiin koeasetelmalla, jossa oikeakätinen henkilö demonstrooi kurkkuvoileivän tekoa
- Koesarjat tehtiin sekä hiiren että ihmisen noroviruksella
- Viruksen siirtymät laskettiin prosentteina, ottaen huomioon pinnan materiaalin vaikutuksen kyseiseltä pinnalta näytteenottovälineellä saatuun saantoon (saanto % Rönnqvist ym. 2013)



Noroviruksen leviäminen –koeasetelma (2)

1. Virusta pipetoitiin pisaroina halutulle pinnalle (kurkku, oikea käsi, vasen käsi)
2. Annettiin kuivua 1 h
3. Kurkusta otettiin kiinni vasemmalla kädellä ja veitsellä leikattiin 6 kurkkuviipaletta, jotka aseteltiin ”leivän” eli pipetinkärkirasian kannen päälle





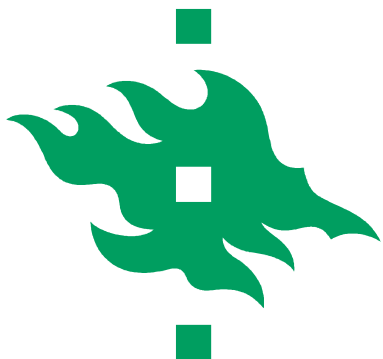
5. Polyesteritikku kastettiin pH 9,5 glysiinipuskuriin ja näytteenottopintaa hangattiin käännellen samalla tikkua

6. Näytteenottopinnat: kurkku, oikea käsi, vasen käsi, veitsi, viipaleet, "leipä" (6 kpl)

7. Näytteille tehtiin nukleiinihapon eristys ja qRT-PCR



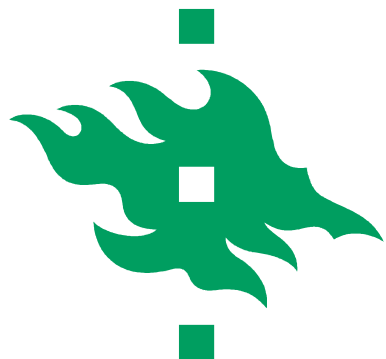
E. Aho 2013



Johtopäätökset

- Norovirus leviää helposti tuoretuotteita käsiteltäessä
- Leviäminen oli tehokkaampaa kädestä tuoretuotteeseen kuin tuoretuotteesta käteen
 - ➔ Tuoretuotteita käsittelevien henkilöiden hyvä käsihygienia erittäin tärkeää





Kiitokset

- Projektin johtoryhmälle
- Yhteistyöyrityksille
- Rahoittajille
- Pro gradun tekijä
Elina Aholle

