

Zmienność genetyczna i rekombinacje norowirusów

EWELINA BIGORAJ, MARTA CHROBOCIŃSKA, EWA KWIT

Zakład Wirusologii Żywności i Środowiska Państwowego Instytutu Weterynaryjnego
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Bigoraj E., Chrobocińska M., Kwit E.

Genetic diversity and recombination of noroviruses

Summary

The epidemic human gastroenteritis can be caused by different factors, including viruses. The World Health Organization reports the increase of foodborne and waterborne disease outbreaks as a result of the contamination of food and water by viruses, especially noroviruses. Norovirus (NoV) are classified in the *Caliciviridae* family, *Norovirus* genus. The genome contains a linear positive-sense, single-stranded RNA. Noroviruses are classified into 5 genogroups (GI-GV), and 31 genotypes: 8 GI, 19 GII, 2 GIII, 1 GIV and 1GV. The human noroviruses belong to GI, GII and GIV. Genetic analysis of norovirus strains has revealed nucleotide and amino acid mutations as well as the existence of recombination between strains. The intragenotype and intragenogroup recombination was recognized most frequently, but intergenogroup recombination was also identified in the last years. Recombination between human and animal strains has not yet been identified. The variants of NoVs GII.4 emerged to be the predominant strains in human populations as a result of norovirus evolution.

Keywords: NoV, genetic diversity, recombination

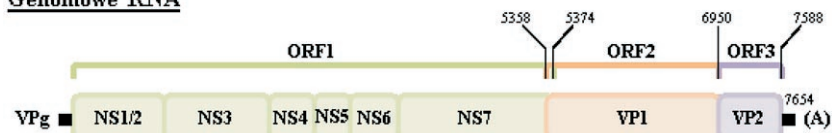
Zakażenia pokarmowe (zwane również „zatruciami pokarmowymi”) są często spotykane w świecie i do tej pory zwykle kojarzone były z bakteriami chorobotwórczymi m.in.: *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter jejunii* (40). W ostatnich latach wykazano, że w wielu przypadkach przyczyną infekcji pokarmowych u człowieka mogą być wirusy, zwłaszcza kaliciwirusy należące do rodzaju *Norovirus* (NoV), przenoszone głównie przez żywność i wodę (tzw. Foodborne viruses). Raporty WHO sygnalizują niepokojący wzrost zachorowań ludzi po spożyciu surowej żywności zanieczyszczonej wirusami, takiej jak: mięczaki (ostrygi, małże), sałatki (warzywne, owocowe), owoce (maliny, truskawki, jagody), warzywa (głównie sałata), lody, ciasta (szczególnie mrożone), woda pitna oraz wody rekreacyjne (baseny, kąpieliska). Głównym zagrożeniem dla człowieka są mięczaki, spożywane na surowo lub po obróbce termicznej niewystarczającej do inaktywacji wirusów. Żywność może być zanieczyszczona norowirusami na etapach jej wytwarzania, pozyskiwania lub w trakcie jej przetwarzania. W związku z tym istnieje konieczność ścisłego przestrzegania zasad higieny wśród osób przygotowujących żywność spożywaną na surowo, podnoszenia świadomości u osób pracujących przy produkcji i dystrybucji

żywności oraz stosowania tzw. dobrej praktyki rolniczej (GAP), produkcyjnej (GMP) oraz higienicznej (GHP) na etapie uprawy, hodowli i zbioru. Norowirusy mogą wywoływać zakażenia sporadyczne lub też ogniska choroby w miejscach wspólnego żywienia (restauracje, catering) i przebywania (szpitale, szkoły, domy opieki, obozy lub wycieczki np. statkiem) (33).

Charakterystyka genetyczna norowirusów

Norowirusy (*Norwalk-like viruses*, NVL) zaliczane do rodziny *Caliciviridae* są bezotoczkowe, posiadają średnicę od 26 do 35 nm, symetrię kubiczną i nie namnażają się *in vitro*. Ich genom stanowi pojedynczą nić RNA (+) o długości od 7300 do 7700 nukleotydów. Jest on zorganizowany w 3 otwartych ramkach odczytu (ORF1-3) (ryc. 1). ORF1 umieszczona na końcu 5' koduje poliproteinę, z której po obróbce posttranslacyjnej powstaje 7 niestrukturalnych białek (NS), a wśród nich RNA-zależna polimeraza RNA (NS7). Pozostałe białka pełnią różne funkcje, np.: białko NS3

Genomowe RNA



Ryc. 1. Schemat organizacji genomu norowirusów oraz lokalizacja poszczególnych ramek odczytu (13)

posiada aktywność NTPazy, białko NS6 aktywność proteazy, natomiast NS5 (VPg) to tzw. białko „cap” (czapeczka) kowalencyjnie związane z końcem 5' i odgrywające istotną rolę podczas replikacji wirusowego RNA. Funkcje białek NS1 oraz NS2 (p48) nie są do końca określone, ale przypuszcza się, że pełnią one rolę podczas formowania kompleksu replikacyjnego. ORF2 koduje główne białko strukturalne kapsydu – VP1. Wirion zawiera 180 kopii lub 90 dimerów tego białka, nadając norowirusom symetrię ikosaedralną. Monomer kapsydu można jeszcze podzielić na domeny: wewnętrzną, bardziej konserwatywną domenę S (shelldomein) oraz zewnętrzną, bardziej zmienną domenę P (protrudingdomein), która układa się na kształt łuku. W domenie P występują podjednostki P1 oraz P2. Podjednostka P2 jest wyeksponowana na powierzchni białek kapsydu, pełniąc funkcję liganda z receptorem komórkowym i jest najbardziej zewnętrznym regionem w obrębie kapsydu (12). ORF3 koduje małe białko kapsydu VP2, które w wirionie występuje w 1-2 kopiach. Jego dokładna funkcja w replikacji wirusa nie jest do końca sprecyzowana, ale są dowody na to, że zwiększa ono poziom białka VP1, stabilizuje VLPs oraz odgrywa rolę w enkapsydacji genomu norowirusa (1).

Taksonomia

Norowirusy od momentu wykrycia (1972 r., Norwalk, Ohio) aż do 1993 r. pozostawały niesklasyfikowane. Analiza sekwencyjna genomu pozwoliła jedynie na ich identyfikację w rodzinie *Caliciviridae*. W kolejnych latach wykryto szereg wirusów określanych jako podobne do wirusa Norwalk, ale dopiero w 2002 r. Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów przedstawił ich klasyfikację. Norowirusy są heterogenne, o czym świadczy liczba genogrup i genotypów. Wyodrębniono pięć genogrup (GI-V), wśród których wyróżniono 31 genotypów: 8 GI, 19 GII, 2 GIII, 1 GIV oraz 1 GV (13, 14). Spośród norowirusów u ludzi najczęściej są wykrywane te, które należą do genogrup I i II, rzadziej genogrupy IV (15). Spośród wymienionych genotypów 25 wywołuje zakażenia u ludzi (15). Norowirusy świń sklasyfikowano w genotypach GII.11, GII.18 i GII.19, a wykryte u psów i lwów w genogrupie GIV. Norowirusy należące do genogrupy III wykrywano u bydła, zaś genogrupy V – u myszy (13). Różnice w sekwencji nukleotydów genu kapsydu między genogrupami wahają się pomiędzy 45% a 61%; między genotypami różnice te mogą sięgać nawet 44%, natomiast szczepy norowirusów należące do jednego genotypu mogą różnić się między sobą nawet w 14% (42). Ten wysoki stopień zmienności utrudnia możliwość opracowania skutecznej szczepionki. Norowirusy charakteryzują się zmiennością polegającą na pojawieniu się mutacji w sekwencji nukleotydowej, która może prowadzić do zmiany aminokwasów. Ponadto obserwuje się rekombinacje w wyniku wymiany materiału genetycznego pomiędzy szczepami. Przyjęto, że na-

Tab. 1. Nomenklatura wariantów dla NoV G.II.4 (35)

Numer dostępu w bazie danych GenBank	Okres epidemii	Nazwa użyta w tym artykule	Inne nazwy
AJ004864	1995-1996	1996	Grimsby, Burwash Landing, GII.4-1997, GII/4-b, GII/4 g
AB294779	-	2001 Japan	GII/4-c, GII/4 a
EU310927	-	2001 Henry	Houston
AY485642	2002-2003	2002	Farmington Hills, GII/4-d, GII/4 e
AB220922	-	2003 Asia	Sakai, GII.4-2005
AY883096	2004-2005	2004	Hunter, GII/4 f
EF126963, EF126964	2006-2007	2006a	Laurens, V4
EF126965, EF126966	2006-2007	2006b	Minerva, Den Haag, GII/4-e, GII/4-f, Kobe034, V6

zwa szczepu norowirusa pochodzi od miejsca, gdzie po raz pierwszy został wykryty np.: NoV GII.4 Farmington Hills jest to norowirus genogrupy II, genotypu 4, po raz pierwszy stwierdzony w Farmington Hills w Michigan (38). Niestety, brak ujednoczonej nomenklatury powoduje problemy w dokładnym prześledzeniu wędrówki konkretnego wariantu norowirusa i utrudnia porównanie dostępnych danych (tab. 1).

Zmienność norowirusów ludzi

Norowirus po raz pierwszy został wykryty u dzieci z biegunką, w badaniu w mikroskopie elektronowym w 1972 r., w miejscowości Norwalk (Ohio, USA). W latach 2000-2007 w Europie, Azji i USA obserwowano pandemiczne rozprzestrzenianie się u ludzi norowirusów, a szczególnie szczepów NoV GII.4, które były odpowiedzialne za 70-80% wszystkich przypadków niebakteryjnych infekcji pokarmowych (35). W tych latach za pośrednictwem sieci NoroNet (sieć internetowa zbierająca dane na temat wybuchów epidemii z udziałem norowirusów na całym świecie) udało się zgromadzić 4988 doniesień na temat infekcji wirusowych, z czego 3089 zostało potwierdzonych jako infekcje norowirusami NoV GII.4 (35). Nie do końca wiadomo, dlaczego właśnie NoV GII.4 zyskał taką dominację w wywoływaniu epidemii. Prawdopodobnie jest to związane ze wzrostem jego stabilności w środowisku oraz zwiększoną zakaźnością i zaraźliwością (8). W sezonie zimowym 1995-1996 w Wielkiej Brytanii szczepem dominującym był wariant Grimsby. Zastąpił on wariant Mexico, który wywoływał epidemie głównie w latach 1993-1994. W kolejnych latach istniały one równocześnie, ale wariant Grimsby jako niezwykle stabilny krążył w krajach Europy przez kilka sezonów (18). W latach 2000-2001 w USA dominował NoV GII.4 2002, który wywołał 16% ognisk chorobowych. W kolejnych latach w ogniskach chorobowych identyfikowano NoV GII.4, odpowiednio: 2001-2 – 11%, 2002-3 – 61%, 2003-4 – 60% (2). Na przełomie lat 2001-2002 stwierdzono w Europie

i Hongkongu sporadyczne przypadki infekcji NoV GII.4 wariantem 1996 (Grimsby), zaś w latach 2002-2003 w Europie (Węgry, Niemcy, Holandia) dominował wariant 2002 (Farmington Hills), podobnie jak w Kanadzie, Australii i USA. W 2004 r. w Australii, Japonii i na Tajwanie zidentyfikowano nowy wariant – Hunter, który był dominujący do 2006 r., do momentu pojawienia się kolejnego. Badania przeprowadzone przez Siebenga i wsp. w latach 2000-2007 doprowadziły do zidentyfikowania 8 wariantów NoV GII.4 i prześledzenia ich drogi infekcji (tab. 1). Warianty 2002, 2004 (Hunter) oraz 2006b były odpowiedzialne za globalne epidemie, ale zauważono pewną zależność. Wariant 2002 powodował epidemie głównie w Europie, USA i Kanadzie, natomiast w Azji i Oceanii zarejestrowano go jedynie sporadycznie (35). W tym samym czasie obserwowano wiele przypadków zachorowań w Nowej Zelandii, które zaklasyfikowano do NoV GII.4. Dalsza klasyfikacja nie była jednak możliwa ze względu na to, że sekwencje obejmowały tylko fragment genu polimerazy. Wariant 2006b jest blisko spokrewniony filogenetycznie z wariantem 2004. Epidemie wywoływane przez norowirusy wykazują sezonowość zimową, chociaż zdarzają się również epidemie w kwietniu czy maju, tak jak to miało miejsce np. w Niemczech czy Holandii w 2002 r. (17). W sezonie 2006-2007 w Europie krążyły jednocześnie dwa warianty NoV GII.4, które oznaczono: GII.4 2006a oraz GII.4-2006b. W sezonie letnim i jesiennym 2007 r. wariant GII.4 2006b stał się wariantem dominującym, powodując większość ognisk zakaźnych w krajach europejskich (np. w Holandii w październiku 2007 r. doniesiono o 29 ogniskach choroby). Po analizie sekwencyjnej 26 wyizolowanych szczepów stwierdzono, że 11,5% należy do wariantu GII.4 2006a, natomiast 46% – do wariantu GII.4 2006b. Z kolei w listopadzie zanotowano 46 ognisk chorobowych, a spośród 30 przeanalizowanych szczepów 10% należało do wariantu GII.4 2006a, natomiast aż 73% – do wariantu GII.4 2006b (32). W 2010 r. w Niemczech przeprowadzono analizę 28 próbek zgromadzonych z ognisk zarejestrowanych w marcu/kwietniu 2006 r. oraz w sezonach zimowych w latach 2006-2008. W większości próbek udało się potwierdzić obecność materiału genetycznego NoV GII.4 wariantu 2006a (były to próbki pobrane wiosną 2006 r.). W następnych latach 2006-2008 wykrywano głównie szczepy podobne do wariantu GII 2006b (11). Wariant 2006a wykazał różnice w 8 aminokwasach w porównaniu do swojego poprzednika 2004, zaś wariant 2006b wykazał już 25 tych różnic (34). W 2010 r. w Australii norowirusy wykryto w 179 spośród 2019 próbek zgromadzonych z ognisk chorobowych w latach 2007-2008 (7). Analiza sekwencji wykazała, że zdecydowana większość (aż 71,51%) należała do wariantu GII.4 2006b, który w tych latach był wariantem dominującym. Zidentyfikowano również inne warianty: GII.4 2008 (wariant zidentyfikowany w 2008 r. w Japonii,

Szwecji, Francji oraz Holandii), wariant GII.4 Osaka 2007 (wyizolowany po raz pierwszy w Osace w Japonii w październiku 2007 r.) i wariant GII.4 Kair 2007. W 2007 r. w Indiach wykryto 7 szczepów wykazujących największe podobieństwo do wariantu GII.4 Osaka 2007, zaś w Południowej Afryce wariant GII.4 2008 (19, 26). W 2010 r. w Korei przeprowadzono analizę 117 szczepów NoV GII wyizolowanych z próbek zgromadzonych między sierpniem 2008 r. i lutym 2010 r. W analizie filogenetycznej zidentyfikowano w większości genotyp GII.4 z dominującym wariantem 2006b oraz nowym wariantem 2008 (10). W Kanadzie przeprowadzono analizę szczepów norowirusów, pochodzących z 707 ognisk wykrytych w latach 2000-2008. Wykazano, że w 617 przypadkach (91,1%) należały one do genotypu GII.4, a 598 szczepów sklasyfikowano jako warianty. W okresie 8 lat wykryto warianty GII.4 1996, GII.4 2002, GII.4 2004, GII.4 2006a i 2006b oraz nowe warianty GII.4 2008a i 2008b (29). Przypuszcza się, że wariant GII.4 2006b jest powoli wypierany przez wariant GII.4 2008. Ten ostatni w stosunku do sekwencji aminokwasowej wariantu GII.4 2006b wykazuje obecność dwóch substytucji w pozycji 393-395, co może mieć wpływ na jego dominację. Analiza sekwencji aminokwasowej białka kapsydu wariantów GII.4 2006b, GII.4 2007 oraz GII.4 2008 wykazała większe podobieństwo wariantu GII.4 2008 do GII.4 2006b niż do GII.4 2007 (33). Oprócz wariantów dominujących notowano zakażenia wariantami, które występowały z niższą częstotliwością. Należały do nich: 2003Asia, 2001Japonia, 2001Henry. Wariant 2003Asia był rekombinantem genetycznym, w którym ORF1 pochodzi od NoV GII.12, natomiast ORF2 i ORF3 pochodzą od NoV GII.4. Ten wariant wywołał wiele epidemii w Azji, jednakże w Hongkongu były to przypadki jedynie sporadyczne. Podobnie wariant 2001Henry, zidentyfikowany w 2001 i 2002 r. w USA i Chinach wywołał niską liczbę przypadków zachorowań. Cechą charakterystyczną wariantów: 2001Henry, 2002, 2003Asia, 2004, 2006a oraz 2006b jest insercja jednego aminokwasu w pozycji 393 w domenie P2 kapsydu norowirusa (35).

Rekombinacje norowirusów ludzi

W norowirusach opisywano rekombinacje występujące między ORF1 i ORF2, w genie RNA-zależnej polimerazy RNA i w genie kapsydu (31). Najczęściej stwierdza się rekombinację w pobliżu wysoce zmiennego regionu, gdzie ORF1 zachodzi na ORF2 (ORF1/ORF2 overlap). W 2007 r. ukazała się praca analizująca 120 sekwencji norowirusowych, jakie udało się zgromadzić w bazie danych GenBank oraz pochodzących z ogólnodostępnej literatury. Spośród tych 120 sekwencji udało się wykryć 20 specyficznych grup rekombinantów należących do trzech różnych genogrup NoV (tab. 2). W każdym rekombinancie genetycznym udało się zidentyfikować, z którego genotypu NoV pochodzą geny polimerazy i kapsydu. Geny

Tab. 2. Specyficzne grupy rekombinantów z identyfikacją pochodzenia genów polimerazy i kapsydu NoV (3)

Geno-grupa	Grupa nantów	Nazwa rekombinantu	Genotyp polimerazy	Genotyp kapsydu	Pierwsza publikacja
I	1	WUGI/01/JP	GI.2	GI.6	Katayama i wsp. 2002
II	1	Picton/03/AU	GII.b	GII.1	Bull i wsp. 2005
	2	Snow Mountain2/76/US	GII.c	GII.2	Hardy i wsp. 1997
	3	E3/97/Crete	GII.4	GII.2	Bull i wsp. 2005
	4	Pont de Roide 673/04/Fr	GII.b	GII.2	Bon i wsp. 2005
	5	SydneyC14/02/AU	GII.b	GII.3	Buesa i wsp. 2002; Lole i wsp. 1999
	6	Sydney2212/98/AU	GII.a	GII.3	Jiang i wsp. 1999
	7	SaitamaT66e/02/JP	GII.d	GII.3	Phan i wsp. 2007
	8	Chiba1/04/JP	GII.4	GII.3	Vidal i wsp. 2006
	9	771/05/IRL	GII.4/GII.d	GII.4	Waters i wsp. 2007
	10	Nyiregyhaza/1057/02/HUN (niepotwierdzony)	GII.b	GII.4	Gallimore i wsp. 2004
	11	S63/99/Fr	GII.2	GII.5	Bull i wsp. 2005
	12	Hokkaido133/03/JP	GII.d	GII.5	Phan i wsp. 2007
	13	Kunming/04/Ch	GII.6	GII.7	Phan i wsp. 2006
	14	Mc37/01/Th	GII.4	GII.10	Hansman i wsp. 2004
	15	SaitamaU1/02/JP	GII.4	GII.12	Katayama i wsp. 2002
	16	Minato14/99/JP	GII.6	GII.15	Sasaki i wsp. 2006
	17	VannesL23/99/US	GII.5	GII.15	Bull i wsp. 2005
III	1	B-1SVD/03/US	GIII.2	GIII.1	Bull i wsp. 2007
	2	CV521-0H/02/US	GIII.1	GIII.2	Han i wsp. 2004; Oliver i wsp. 2004

polimerazy GII.4 oraz GII.b najczęściej występują w szczepach norowirusów ludzkich, stąd też możliwość pojawienia się rekombinantów zawierających te polimerazy jest najwyższa. W następnych latach zidentyfikowano kolejne szczepy będące rekombinantami międzygenotypowymi. W Indiach w latach 2005-2007 były to: GII.b/GII.18 (GII.18 – nowy genotyp, zgodnie z taksonomią podaną przez Phan i wsp. (30)), GII.1/GII.12, GII.3/GII.13, GII.b/GII.3, GII.b/GII.4 i GII.d/GII.3 (4, 5), zaś w 2007 r. zidentyfikowano następne 3: GII.b/GII.7, GII.4/GII.8 i GII.5/GII.12. (31). W Japonii w latach 2001-2006 stwierdzono 5 rekombinantów w genogrupie II: GII.4/GII.12, GII.b/GII.3, GII.4/GII.2 i GII.4/GII.14 oraz 1 w genogrupie I: GI.2/GI.8 (9). W Australii wykryto rekombinant GII.e/GII.12 izolowany w 2008 r. Nowej Zelandii z próbek ostryg, których spożycie spowodowało wystąpienie ogniska chorobowego (7). W Korei w latach 2007-2008 zidentyfikowano 2 rekombinanty: GII.4/GII.3 i GII.b/GII.14 (10), zaś w Japonii w 2007 r. – jeden GII.4 2006b/GII.2 (6). Podane rekombinacje dotyczyły szczepów sklasyfikowanych w obrębie określonej genogrupy. W 2007 r. po raz pierwszy opisano istnienie rekombinantu (szczep Mex 7076/99) pomiędzy genogrupami norowirusów ludzi GII i nowej genogrupy

GVI (genogrupa GVI, zgodna z taksonomią podaną przez Phan i wsp. (30)), zaś w 2008 r. w Indiach zidentyfikowano szczep L8775/Kol z 2006 r. będący rekombinantem pomiędzy GI.3 (gen polimerazy) i GII.4 (gen kapsydu) (25).

Zmienność i rekombinacje norowirusów zwierząt

W norowirusach zwierząt stwierdzono również występowanie zmienności i pojawianie się rekombinantów. U bydła pierwsze norowirusy były wykrywane u cieląt wykazujących biegunkę. Wśród tych wirusów zidentyfikowano dwa genotypy – GIII.1 i GIII.2, reprezentowane, odpowiednio, przez prototypowe szczepy Jena i Newbury Agent. W 2000 r. w Wielkiej Brytanii wykryto rekombinant Bo/Thirsk 10/00/UK między genotypami GIII.1 i GIII.2 (28). W tab. 2 podano inne szczepy zaliczone do rekombinantów pomiędzy tymi dwoma genotypami. Badania stad owiec wykonane w Nowej Zelandii w latach 2006-2007 wykazały obecność norowirusa, dla którego na podstawie analizy filogenetycznej zaproponowano utworzenie nowego genotypu GIII.3 (41).

Norowirusy świń zostały sklasyfikowane w 3 genotypach GII.11, GII.18 i GII.19 (15), przy czym szczepy GII.11 są genetycznie najbardziej podobne do norowirusów ludzi, sklasyfikowanych w innych genotypach genogrupy GII. Szczepy QW170 i QW218 należące do genotypu GII.19 są najprawdopodobniej rekombinantami. W sekwencji genu RNA-zależnej polimerazy wykazują wysokie podobieństwo do szczepu Sw43 genotypu GII.11, natomiast różnią się od innych norowirusów świń w sekwencji genu kapsydu (38). Norowirusy u świń są szeroko rozpowszechnione, jednakże same nie wywołują zachorowań u dorosłych zwierząt (23, 36). W odchodach bydła i świń wykazywano również występowanie ludzkich norowirusów, w tym genotypu GII.4 (21).

Norowirusy występujące u myszy należą do jednej genogrupy (GV) i jednego genotypu. Zakażenie myszy norowirusem wywoływało zupełnie odmienny obraz chorobowy, wśród objawów obserwowano zapalenie mózgu oraz zapalenie wątroby i płuc. Przeprowadzone analizy genetyczne wykazały zróżnicowanie mysich norowirusów sięgające 13% w sekwencji nukleotydowej oraz obecność rekombinantów (14, 24).

Norowirusy psów i lwów sklasyfikowano w genotypie GIV.2 (ludzkie w GIV.1) (20). Ostatnio opisano występowanie u psów szczepów genetycznie najbar-

dziej podobnych do niesklasyfikowanego szczepu ludzkiego i zaproponowano utworzenie nowej genogrupy – GVI (22, 27).

Podsumowanie

Spośród norowirusów występujących u ludzi szczepy sklasyfikowane w GII.4 ewoluowały bardzo szybko, powodując pojawianie się nowych wariantów (32). Powstanie nowego wariantu może się wiązać z mutacjami w obrębie genu polimerazy lub kapsydu, szczególnie podjednostki P2 kodującej epitopy powierzchniowe. Nowy wariant może być bardziej zjadliwy lub bardziej stabilny w środowisku. Nie wiadomo, czy jest to związane ze zmianą właściwości antygenowych, jednak notowano zwiększoną liczbę zakażeń nowym wariantem oraz cięższy przebieg choroby (17). Nie zawsze mutacje punktowe muszą prowadzić do powstania kolejnego wariantu. Szczepy występujące w populacji ludzi mogą powoli akumulować mutacje, aż zmiany genetyczne spowodują zmiany antygenowe mogące wywołać nowe ogniska z dominującym nowym wariantem wirusa. Do rozwoju zakażenia niezbędne jest wiązanie norowirusów (domena P2) z antygenami grupowymi krwi (HBGA, histo-blood group antigens), które znajdują się na powierzchni komórek śluzówki jelita. Badania nad mutacjami białek kapsydu, w tym również domeny P2 białka VP1, wykazały jej istotną rolę w wiązaniu antygenów grupowych krwi (37).

Rekombinacja szczepów norowirusów może zachodzić w obrębie genotypów, pomiędzy genotypami lub pomiędzy genogrupami. Opisano występowanie rekombinantów między szczepami tego samego genotypu lub genogrupy, a w ostatnich latach także pomiędzy genogrupami w odniesieniu do norowirusów ludzkich. W wyniku rekombinacji mogą również powstawać nowe warianty. Pojawienie się rekombinacji między szczepami ludzi i zwierząt może teoretycznie prowadzić do powstania szczepu o potencjalnie odmiennej patogeniezie i zjadliwości (3). Czynnikiem sprzyjającym powstawaniu nowych wariantów może być presja immunologiczna. Przeciwciała na krótki okres dają ochronę, jednakże wielokrotna ekspozycja na ten sam genotyp może przedłużać okres odporności (34). Niektórzy autorzy sugerują, że NoV GII.4 ewoluowały i rozprzestrzeniły się w sposób bardzo podobny do wirusa grypy, tzn. sporadycznie występujące warianty były zastępowane przez kolejne, co wiązało z powstawaniem odporności populacyjnej dla określonego wariantu (16, 35).

Piśmiennictwo

- Bertolotti-Ciarlet A., Crawford S. E., Hutson A. M., Estes M. K.: The 3' End of Norwalk virus mRNA contains determinants that regulate the expression and stability of the viral capsid protein VP1: a novel function for the VP2 protein. *J. Virol.* 2003, 77, 11603-11615.
- Blanton L. H., Adams S. M., Beard R. S., Wei G., Bulens S. N., Widdowson M. A., Glass R. I., Monroe S. S.: Molecular and epidemiologic trends of caliciviruses associated with outbreaks of acute gastroenteritis in the United States, 2000-2004. *J. Infect. Dis.* 2006, 193, 413-421.

- Bull R. A., Tanaka M. M., White P. A.: Norovirus recombination. *J. Gen. Virol.* 2007, 88, 3347-3359.
- Chhabra P., Walimbe A. M., Chitambar S. D.: Complete genome characterization of Genogroup II norovirus strains from India: Evidence of recombination in ORF2/3 overlap. *Infect. Genet. Evol.* 2010, 10, 1101-1109.
- Chhabra P., Walimbe A. M., Chitambar S. D.: Molecular characterization of three novel intergenotype norovirus GII recombinant strains from western India. *Virus Res.* 2010, 147, 242-246.
- Dey S. K., Phan T. G., Mizuguchia M., Okitsua S., Ushijima H.: Novel recombinant norovirus in Japan. *Virus Genes* 2010, 40, 362-364.
- Eden J. S., Bull R. A., Tu E., McIver C. J., Lyon M. J., Marshall J. A., Smith D. W., Musto J., Rawlinson W. D., White P. A.: Norovirus GII.4 variant 2006b caused epidemics of acute gastroenteritis in Australia during 2007 and 2008. *J. Clin. Virol.* 2010, 49, 265-271.
- Friesema I., Vennema H., Heijne J., Jager de C., Teunis P., Linde van der R., Duizer E., Duynhoven van Y.: Differences in clinical presentation between norovirus genotypes in nursing homes. *J. Clin. Virol.* 2009, 46, 341-344.
- Fukuda S., Sasaki Y., Takao S., Seno M.: Recombinant norovirus implicated in gastroenteritis outbreaks in Hiroshima Prefecture, Japan. *J. Med. Virol.* 2008, 80, 921-928.
- Han T. H., Kim C. H., Chung J. Y., Park S. H., Hwang E. S.: Emergence of norovirus GII-4/2008 variant and recombinant strains in Seoul, Korea. *Arch. Virol.* 2011, 156, 323-329.
- Hoffmann D., Seebach J., Foley B. T., Frösner G., Nadas K., Protzer U., Schätzl H. M.: Isolated norovirus GII.7 strain within an extended GII.4 outbreak. *J. Med. Virol.* 2010, 82, 1058-1064.
- Jiang X., Wang M., Graham D. Y., Estes M. K.: Expression, self-assembly, and antigenicity of the Norwalk virus capsid protein. *J. Virol.* 1992, 66, 6527-6532.
- Karst S. M.: Pathogenesis of noroviruses, emerging RNA viruses. *Viruses* 2010, 2, 748-781.
- Kim M., Lee H., Chang K. O., Ko G.: Molecular characterization of murine norovirus isolates from South Korea. *Virus Res.* 2010, 147, 1-6.
- Koopmans M.: Progress in understanding norovirus epidemiology. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008, 21, 544-552.
- Lindesmith L. C., Donaldson E. F., Lobue A. D., Cannon J. L., Zheng D. P., Vinje J., Baric R. S.: Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations. *PLoS Medicine* 2008, 5, 269-281.
- Lopman B., Vennema H., Kohli E., Pothier P., Sanchez A., Negro A., Buesa J., Schreier E., Reacher M., Brown D., Gray J., Iturriza M., Gallimore C., Bottiger B., Hedlund K. O., Torvén M., Bonsdorff von C. H., Maunula L., Poljsak-Prijatelj M., Zimsek J., Reuter G., Szűcs G., Melegh B., Svanen L., Duynhoven van Y., Koopmans M.: Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 2004, 363, 682-688.
- Maguire A. J., Green J., Brown D. W., Desselberger U., Gray J. J.: Molecular epidemiology of outbreaks of gastroenteritis associated with small round-structured viruses in East Anglia, United Kingdom, during the 1996-1997 season. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37, 81-99.
- Mans J., Villiers J. C. de, Plessis N. M. du, Avenant T., Taylor M. B.: Emerging norovirus GII.4 2008 variant detected in hospitalised paediatric patients in South Africa. *J. Clin. Virol.* 2010, 49, 258-264.
- Martella V., Campolo M., Lorusso E., Cavicchio P., Camero M., Bellacicco A. L., Decaro N., Elia G., Greco G., Corrente M., Desario C., Arista S., Banyai K., Koopmans M., Buonavoglia C.: Norovirus in captive lion cub (*Panthera leo*). *Emerg. Infect. Dis.* 2007, 13, 1071-1073.
- Mattison K., Shukla A., Cook A., Pollari F., Friendship R., Kelton D., Bidavid S., Farber J. M.: Human noroviruses in swine and cattle. *Emerg. Infect. Dis.* 2007, 13, 1184-1188.
- Mesquita J. R., Barclay L., Nascimento M. S., Vinje J.: Novel norovirus in dogs with diarrhea. *Emerg. Infect. Dis.* 2010, 16, 980-982.
- Mijovski J. Z., Poljsak-Prijatelj M., Steyer A., Barlic-Maganja D., Koren S.: Detection and molecular characterisation of noroviruses and sapoviruses in asymptomatic swine and cattle in Slovenian farms. *Infect. Genet. Evol.* 2010, 10, 413-422.
- Müller B., Klemm U., Mas Marques A., Schreier E.: Genetic diversity and recombination of murine noroviruses in immunocompromised mice. *Arch. Virol.* 2007, 152, 1709-1719.
- Nayak M. K., Balasubramanian G., Sahoo G. C., Bhattacharya R., Vinje J., Kobayashi N., Sarkar M. C., Bhattacharya M. K., Krishnan T.: Detection of a novel intergenotype recombinant Norovirus from Kolkata, India. *Viol.* 2008, 377, 117-123.
- Nayak M. K., Chatterjee D., Nataraju S. M., Pativada M., Mitra U., Chatterjee M. K., Saha T. K., Sarkar U., Krishnan T.: A new variant of Norovirus GII.4/2007 and inter-genotype recombinant strains of NVGII causing acute watery diarrhoea among children in Kolkata, India. *J. Clin. Virol.* 2009, 45, 223-229.

27. Ntafis V., Xylouri E., Radogna A., Buonavoglia C., Martella V.: Outbreak of canine norovirus infection in young dogs. *J. Clin. Microbiol.* 2010, 48, 2605-2608.
28. Oliver S. L., Brown D. W., Green J., Bridger J. C.: A chimeric bovine enteric calicivirus: evidence for genomic recombination in genogroup III of the Norovirus genus of the Caliciviridae. *Viol.* 2004, 326, 231-239.
29. Pang X. L., Preiksaitis J. K., Wong S., Li V., Lee B. E.: Influence of novel norovirus GII.4 variants on gastroenteritis outbreak dynamics in Alberta and the Northern Territories, Canada between 2000 and 2008. *PLoS One* 2010, 5, 1-8.
30. Phan T. G., Kaneshi K., Ueda Y., Nakaya S., Nishimura S., Yamamoto A., Sugita K., Takanashi S., Okitsu S., Ushijima H.: Genetic heterogeneity, evolution, and recombination in noroviruses. *J. Med. Virol.* 2007, 79, 1388-1400.
31. Rohayem J., Münch J., Rethwilm A.: Evidence of recombination in the norovirus capsid gene. *J. Virol.* 2005, 79, 4977-4990.
32. Siebenga J. J., Kroneman A., Vennema H., Duizer E., Koopmans M.: Food-borne viruses in Europe network report: the norovirus GII.4 2006b (for US named Minerva-like, for Japan Kobe034-like, for UK V6) variant now dominant in early seasonal surveillance. *Euro Surveill.* 2008.
33. Siebenga J. J., Lemey P., Kosakovskiy P., Rambaut A., Vennema H., Koopmans M.: Phylodynamic reconstruction reveals norovirus GII.4 epidemic expansions and their molecular determinants. *PLoS Pathog.* 2010, 6, 1-13.
34. Siebenga J. J., Vennema H., Renckens B., Bruin E. de, Veer B. van der, Siezen R. J., Koopmans M.: Epochal evolution of GII.4 norovirus capsid proteins from 1995 to 2006. *J. Virol.* 2007, 81, 9932-9941.
35. Siebenga J. J., Vennema H., Zheng D. P., Vinjé J., Lee B. E., Pang X. L., Ho E. C., Lim W., Choudekar A., Broor S., Halperin T., Rasool N. B., 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.: Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. *J. Inf. Dis.* 2009, 200, 802-812.
36. Sugieda M., Nakajima S.: Viruses detected in the caecum contents of healthy pigs representing a new genetic cluster in genogroup II of the genus „Norwalk-like viruses”. *Virus Research* 2002, 87, 165-172.
37. Tan M., Fang P., Chachiyo T., Xia M., Huang P., Fang Z., Jiang W., Jian X.: Norovirus P particle: Structure, function and applications in virus-host interaction. *Virology* 2008, 382, 115-123.
38. Wang Q. H., Costantini V., Saif L. J.: Porcine enteric caliciviruses: genetic and antigenic relatedness to human caliciviruses, diagnosis and epidemiology. *Vaccine.* 2007, 2, 5453-5466.
39. Widdowson M., Cramer E. H., Hadley L., Bresee J. S., Beard R. S., Bulens S. N., Charles M., Chege W., Isakbaeva E., Wright J. G., Mintz E., Forney D., Massey J., Glass R. I., Monroe S. S.: Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: Identification of a predominant circulating strain of Norovirus-United States, 2002. *J. Infect. Dis.* 2004, 190, 27-36.
40. Wieczorek K., Denis E., Osek J.: Occurrence of four major food-borne pathogens in cattle slaughtered in Poland. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2009, 53, 439-444.
41. Wolf S., Williamson W., Hewitt J., Lin S., Rivera-Aban M., Ball A., Scholes P., Savill M., Greening G. E.: Molecular detection of norovirus in sheep and pigs in New Zealand farms. *Vet. Microbiol.* 2009, 133, 184-189.
42. Zheng D., Ando T., Fankhauser R. L., Beard R. S., Glass R. I., Monroe S. S.: Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 2006, 346, 312-323.

Adres autora: mgr Ewelina Bigoraj, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: ewelina.bigoraj@piwet.pulawy.pl