

Eugenia Gospodarek, Patrycja Zalas-Więcek

## NOROWIRUSY – TAKTYKA ROZPRZESTRZENIANIA SIĘ\*

### NOROVIRUSES – TACTIC OF SPREAD

Katedra i Zakład Mikrobiologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy  
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Kierownik: Eugenia Gospodarek

#### STRESZCZENIE

Norowirusy są najczęstszym czynnikiem etiologicznym niebakteryjnego *acute gastroenteritis* w populacji ludzkiej na całym świecie. Należą do rodziny *Caliciviridae*. Źródło zakażeń stanowi żywność i woda. Zakażenia norowirusami mają charakter zbiorowy i dotyczą, np.: szpitali, domów opieki, szkół. Transmisja norowirusów zwykle następuje przez kontakt człowiek-człowiek, chociaż zakażenie wiąże się z zanieczyszczoną żywnością i środowiskiem lub transmisją drogą kropelkową. Norowirusy są zróżnicowane genetycznie. Należą do 5 grup genetycznych (GI-GV). Różnorodność wśród norowirusów wiąże się z gromadzeniem mutacji punktowych powiązanych z naturą replikacji i rekombinacji genetycznej wpływającej na zmiany sekwencji między wirusami. Mechanizmy ewolucyjne sprzyjające utrzymaniu i rozwojowi nowych szczepów w populacji ludzkiej są nieznane. Większość epidemii powodowanych jest przez szczepy typu genetycznego GII.4, które po raz pierwszy rozpoznano jako szczepy epidemiczne w połowie lat 90. XX wieku. Niektóre norowirusy wywołują zakażenie u ludzi z genem kodującym alfa-1,2-fukozylotransferazę (*FUT2*) i grupa ta ekspozuje antygeny ABH (*histo-blood group antigens*, HBGAs), wysoce heterogenne powiązane z węglowodanami na powierzchni śluzówki. Osoby z defektami w genie *FUT2* są odporne na zakażenie wirusem Norwalk. Ligandy węglowodanowe ekspozowane na powierzchni śluzówki wiążą reszty aminokwasów kapsydu norowirusów w wyniku presji immunologicznej i prawdopodobnie wpływają na dryft antygenowy w zetknięciu z odpornością populacyjną. Zmiana węglowodanów jest tolerowana, ponieważ podobnych i odmiennych receptorów węglowodanowych HBGA na powierzchni błon śluzowych występuje wiele, które mogą reagować ze zmienioną architekturą kapsydu norowirusów.

**Słowa kluczowe:** norowirusy, ostre zapalenie żołądka i jelit, biegunka

#### ABSTRACT

Noroviruses are the commonest cause of nonbacterial *acute gastroenteritis* worldwide. Food and water are considered as the main source of the food-borne infections in humans. Noroviruses outbreaks are frequently associated with semiclosed or closed institutions such as hospitals, homes for the elderly, schools. Transmission of noroviruses is usually person-to-person, although food and environmental or airborne contamination have all been implicated in transmission and are members of the *Caliciviridae* family. The genomic diversity noroviruses includes 5 genogroups (GI-GV). Diversity among noroviruses is maintained through the accumulation of point mutations associated with nature RNA replication and genetic recombination involving the exchange of sequence between two related RNA viruses. The evolutionary mechanisms governing the persistence and emergence of new norovirus strains in human populations are unknown. The majority of norovirus outbreaks are caused by viruses from the GII.4 genocusters, which was first recognized as the major epidemic strain in the mid-1990s. Some noroviruses readily infect humans who carry a gene encoding a  $\alpha$ -1,2-fucosyltransferase (*FUT2*) and they express ABH histo-blood group antigens (HBGAs), a highly heterogeneous group of related carbohydrates on mucosal surface. Individuals with defects in the *FUT2* are resistant to Norwalk virus infection. Surface-exposed carbohydrate ligand binding domain in the norovirus capsid is under heavy immune selection and likely evolves by antigenic drift in the face of human herd immunity. Variation in the capsid carbohydrate-binding domain is tolerated because of the large repertoire of similar, yet distinct HBGA carbohydrate receptors available on mucosal surfaces that could interface with the remodeled architecture of the capsid ligand-binding pocket.

**Key words:** noroviruses, acute gastroenteritis, diarrhea

\*Praca przedstawiona na Konferencji Naukowej "Leczenie chorób zakaźnych", 18-20 września 2008, Bydgoszcz

## WSTĘP

Najczęstszymi czynnikami etiologicznymi niebakteryjnymi zakażeń jelitowych są norowirusy, a w dalszej kolejności rotawirusy (grupa A–C), adenowirusy (typ 40 i 41), astrowirusy, enterowirusy i inne, np. koronawirusy i parwowirusy. Wyniki badań przeprowadzonych w USA wskazały, że norowirusy były przyczyną 96% masowych zakażeń jelitowych (1). W Europie podobną sytuację obserwuje się w: Holandii, Szwecji, Finlandii i Wielkiej Brytanii, gdzie wirusy te spowodowały 56–87% masowych zakażeń jelitowych.

Norowirusy są najczęstszym czynnikiem etiologicznym zbiorowych zakażeń jelitowych, występujących w zamkniętych środowiskach, tj.: szpitalach, domach opieki, żłobkach, koloniach, czy miejscach zbiorowego żywienia. Człowiek zakaża się norowirusami drogą pokarmową przez spożycie żywności lub wody zanieczyszczonej fekaliami osób chorych oraz przez styczność z chorym lub siewcą. W ogniskach choroby możliwa jest także transmisja drogą kropelkową. Zakażenie szerzy się przez zanieczyszczoną żywność: mięczaki (głównie ostrygi), owoce (np. maliny, truskawki), warzywa (np. sałata), sałatki (ziemniaczane, z kurczaka, owocowe), lody, ciasta (głównie mrożone), kanapki, mięso, woda pitna oraz rekreacyjna (baseny, kąpieliska) (2).

Po raz pierwszy norowirusy izolowano z próbek kału pobranych od pacjentów z ogniska *acute gastroenteritis* w Norwalk, Ohio, w 1968 roku, gdzie w ciągu 2 dni zachorowało 50% z 232 nauczycieli i uczniów szkoły podstawowej (3).

Aktualnie heterogeny rodzaj *Norovirus* (dawna nazwa *Norwalk-like viruses*, NLV) zaliczony do rodziny *Caliciviridae*, obejmuje 5 grup genetycznych (GI–GV), z których grupa GI, GII i GIV zakaża ludzi, GIII – bydło, a GV – myszy. Norowirusy mają symetrię kubiczną, są bezotoczkowe, pozbawione wypustek, o wielkości 27–40 nm. Nie namnażają się *in vitro*. W obrębie genomu (7,5–7,7 Kb), który stanowi pojedyncza nić RNA(+), wyróżnia się 3 otwarte ramki odczytu (*open reading frames*, ORF): ORF1 zlokalizowana na końcu 5' koduje białka niestrukturalne, w tym RNA-zależną polimerazę RNA, ORF2 koduje główne białko strukturalne kapsydu – VP1 (56–58 kDa), a ORF3 koduje białko kapsydu VP2 (22,5 kDa).

Norowirusy są bardzo stabilne w środowisku. Są odporne na zamrażanie (nawet przez kilka lat), temperaturę 60°C przez 30 minut, wysokie stężenia związków chloru (6,25 mg/L/ przez 30 minut), pH 5–10 oraz większość powszechnie stosowanych środków dezynfekcyjnych (4).

Już bardzo niska dawka norowirusów (10–100 cząstek) może wywołać objawy chorobowe. Po wnikięciu

do organizmu norowirusy replikują się w komórkach nabłonkowych jelita cienkiego, uszkadzają kosmki jelitowe oraz zaburzają wchłanianie D-ksylozy, laktozy i tłuszczów. U osób zakażonych obserwuje się również zaburzenia pasażu przez żołądek i jego opóźnione opróżnianie. Okres wylegania choroby wynosi 1–2 dni (do 60 godzin), a okres objawowy od 2 do 3 dni. Wirus wydalany jest z kałem i wymiocinami. Siewstwo rozpoczyna się już w okresie wylegania (około 15 godzin po zakażeniu) i może trwać do 2 tygodni po ustąpieniu objawów klinicznych.

Na zakażenie podatne są osoby w każdym wieku. Objawy kliniczne obejmują nagłe wystąpienie nudności, wymioty i biegunkę. Wymioty najczęściej stwierdza się u dzieci, u osób dorosłych objawem dominującym jest biegunka. Powyższym objawom mogą towarzyszyć bóle głowy, podwyższenie ciepłoty ciała, dreszcze i bóle mięśniowe. Choroba kończy się samoistnym wyleczeniem. Sporadycznie występują przypadki śmiertelne, które dotyczą głównie osób starszych i niemowląt i przypuszczalnie wynikają ze znacznego odwodnienia organizmu.

## HETEROGENNOŚĆ NOROWIRUSÓW

Norowirusy są wysoce heterogenne, np. szczepy genogrupy GI i GII dzielą się na ponad 25 genotypów, np. GII.4 to grupa genetyczna II genotypu 4. ORF2 „zapewnia”, że sekwencja większego białka kapsydu może różnić się w 60% między grupami genetycznymi i w 20–30% między genotypami danej grupy. Genotyp GII.4 odpowiada za większość epidemii. Jego pandemiczne rozprzestrzenianie obserwowano w połowie lat 90. XX wieku (5). W latach 1995–1996 szczep VS 95/96 odpowiedzialny był za 55% epidemii z udziałem norowirusów w USA, 85% - w Holandii (6). W latach 2000–2004 szczep US 95/96 zastąpiony został przez dwa nowe warianty GII.4, których udział w epidemii *acute gastroenteritis* sięgał 80% (7, 8). W Europie nowy wariant GII.4–GII.4b przyczynił się do epidemii w sezonie zima–wiosna–lato (9, 10). W 2004 roku wykryto wariant *Hunter* GII.4 w Australii, Europie i Azji (11, 12, 13). Ten szczep został zastąpiony na początku 2006 roku przez nowe warianty w USA, Europie i Azji (14). Jeden z nich - *Sakai* – reprezentuje nowy epidemiczny szczep GII.4 powiązany z opieką zdrowotną w południowo-wschodniej Azji (15). Zakażenia z jego udziałem stwierdzono też w USA i Holandii. Natomiast szczep *Minerwa* zidentyfikowano w 2006 roku w USA i Holandii.

Wirusy należące do genotypu GI.1 zakażają osobę z genem, który koduje  $\alpha$ -1,2-fukozylotransferazę (FUT2). Enzym ten pozwala na ekspresję antygenów grupowanych krwi (*histo-blood group antigens*, HBGA)

na powierzchni błon śluzowych, co nadaje fenotyp(+) (16). Osoby z defektem wytwarzania enzymu FUT2 mają fenotyp(-) i są odporne na zakażenie. Powiązanie między ekspresją HGGA i wrażliwością na norowirusy dotyczy szczepów GI i GII włączając GII.4 (17, 18). Inne enzymy mogą nadawać również wrażliwość, ponieważ osoby o fenotypie(-) mają przeciwciała przeciw ludzkim norowirusom, chociaż w niższych mianach niż osoby o fenotypie(+), i u nich rozwijają się objawy kliniczne wywołane przez wirus *Snow-Mountain* (16, 17, 19). Mechanizmy ewolucyjne zarządzające utrzymaniem i rozprzestrzenianiem epidemicznym wirusów GII.4 w populacji ludzkiej są nieznane.

Ekspresja ORF2 większego białka kapsydu wiąże się z wytwarzaniem cząstek podobnych do wirusów (*virus-like particles*, VLP). Tworzenie dimerów jest wymagane do tworzenia struktury złożonej ze 180 podjednostek (20). Monomer ma dwie jednostki połączone giętym zawiasem: osłonę (*shell*, S) - tworzy rdzeń wewnętrzny i uwypuklenie (*protruding*, P), które dzieli się na dwie podjednostki: P1 (226-278 i 406-520) i P2 - region najbardziej eksponowany na zewnątrz powierzchni białek kapsydu (279-405). P1 strukturalnie otacza P2 (20).

Badania mutacji podjednostki P2 potwierdzają jej rolę w wiązaniu HBGA (21) sugerując, że zawiera determinanty specyficzne dla szczepu wiążące receptor (20, 23) i neutralizujące miejsca rozpoznawane na przeciwciałach (22). Złożona struktura jednostki P2 wirusa GII.4 VA387 połączona z trisacharydowymi HBGA antygenów A i B odsłania miejsce interakcji ligand (miejsce 1) w podjednostce P2, gdzie specyficzne reszty kapsydu tworzą silną sieć wiązań wodorowych z  $\alpha$ -fukozą grupy trisacharydów (23). Drugorzędowe interakcje (miejsce 2) na jednostce P2 VA387 nadają stałość wiązania i podwyższone powinowactwo ligandów przez słabsze interakcje na większe odległości z pierścieniem galaktozy ( $\beta$ -gal) trisacharydów (23).

## EWOLUCJA NOROWIRUSÓW GII.4

*Lindesmith* i wsp. (24) wykazali ewolucję norowirusów GII.4, która nastąpiła w latach 1987–2005, kiedy pojawiły się nowe szczepy epidemiczne. Dane wskazują na ewolucję na poziomie molekularnym, w której szczepy GII.4 utrzymały się poprzez dryft antygenowy w regionach podjednostki P2 wiążących receptor węglowodanowy (wskazują na to surowice odpornościowe), w odpowiedzi na selekcję spowodowaną odpornością populacji.

Ewolucja genów kapsydu norowirusów GII.4 jest złożona (24). Podjednostka S sprzyja rozwojowi dryftu antygenowego; tylko 5% zmian ma charakter informacyjny, np. zachowanie stałości w populacji.

Ograniczenie rozległości podjednostki P1 i, w szczególności, podjednostki P2 powstaje przy wyższym tempie ewolucyjnym zgodnie z hipotezą, że reszty eksponowane na powierzchni rozwijają się w obecności selekcji immunologicznej.

Analiza filogenetyczna i ewolucyjna podjednostki P2 ORF2 sugeruje, że wirusy GII.4 rozwijały się przez ponad 20 lat w podobny sposób, jak wirusy grypy, z kolejnym zastąpieniem występujących sporadycznie wariantów, sugerując epokową ewolucję, w której okresy zastoju następują przez nagłą tranzycję (25). Okresy zastoju są wynikiem bariery entropii, która występuje w populacji wysoce wyniszczonych, w której liczne genotypy występują w tym samym fenotypie. Podczas ewolucji wirusów GII.4 długi okres zastoju ( $\geq 8$  lat) występował w klonie *Camberwell*, w okresie rozwoju epidemicznego szczepu *Grimbsby*. Większość miejsc informacyjnych podjednostki S występowało podczas rozwoju klonu *Grimbsby*. Zmiany w podjednostce S są rodzajem zmian strukturalnych koniecznych do łatwiejszego rozwoju klonu GII.4 utrzymującego się przez krótszy okres zastoju, po którym kolejne klony rozwijają się z wcześniejszych w sposób liniowy. Kolejne klony powstawały raz na 1-2 lata od 2002 roku do chwili obecnej. Wszystkie klony są odmienne. Szczepy wcześniejszych klonów mogą utrzymywać się, powodując zakażenie bezobjawowe lub występować w populacji ludzkiej na niskim poziomie przed wygaśnięciem. Analiza profili ewolucyjnych wirusów GII.4 wskazuje, że liczne oddzielne sekwencje są wirusowymi rekombinantami. Zmiany antygenowe ważnych miejsc (329, 333, 340, 355 i 365) sprzyjają powstawaniu specyficznych właściwości fizykochemicznych struktury kapsydu lub interakcji z węglowodanami. Miejsca heterogenności dominują w eksponowanej na zewnątrz podjednostce P2 i w otoczeniu miejsc interakcji z węglowodanami, które stanowią receptor wiążący (20, 23). Miejsce 2 jest najbardziej zmiennym regionem i zmiany w tym regionie wpływają na profil wiązania GII.4 z węglowodanami (24). Uniknięcie odporności wiąże się z presją selekcyjną, która doprowadza do zmian antygenowych w obrębie i wokół miejsca na powierzchni podjednostki P2 ORF2 wirusa GII.4 wiążącego receptor.

## ODPORNOŚĆ POPULACYJNA W STOSUNKU DO NOROWIRUSÓW

Koncepcja odporności populacyjnej w stosunku do norowirusów jest kontrowersyjna. Może występować swoistość szczepowa i długotrwała odporność: 50% ochotników nie ujawnia zakażenia po wielorakich próbach zakażenia norowirusami, a niektórzy ochotnicy wykazują krótkotrwałą odporność. Jest możliwa



długotrwała odporność. Okres przed ekspozycją może wpływać na czas trwania ochronnej odpowiedzi immunologicznej wobec indywidualnych szczepów (16, 19), chociaż wczesna odpowiedź przeciwciał IgA (16) i komórek T (19) może obejmować elementy długotrwałej odpowiedzi immunologicznej u osób niezakażonych (ochotników). Rola surowicznych IgG w odporności jest kontrowersyjna. U ochotników i pacjentów z przypadków epidemii wykazano bardzo wysoki poziom przeciwciał IgG w surowicy, które blokują interakcje VLP-węglowodany specyficznie wobec grupy genetycznej reprezentując długotrwałą odporność. Rozwój nowego epidemicznego szczepu w Europie opisano w związku ze spadkiem liczby epidemii, co wiązano ze wzrostem odporności populacyjnej. Jeśli powstaje odporność populacyjna, norowirusy GII.4 ewoluują.

Niewielkie zmiany w aminokwasach między norowirusami nie wpływają znacząco na zmiany w reaktywacji przeciwciał podczas długiego okresu zastoju, np. różnice między VLP GII.4–1937 i GII.4–1997 dotyczą 7 aminokwasów (24). Szczepy *Camberwell-like* przed 1995 rokiem powodowały zakażenia endemiczne. W połowie lat 90. powstały mutacje, które sprzyjały rozprzestrzenianiu epidemicznych szczepów *Lordsdabe/Grimsby* w populacji ludzkiej po 1996 roku. Nie wykluczone, że poprzez bardziej skuteczne wiązanie z dodatkowymi ligandami HBGA na powierzchni błon śluzowych, norowirusy zmieniają stabilność kapsydu lub promują transmisję. Rozprzestrzenianie epidemicznych szczepów podobnych do GII.4–1997 w populacji ludzkiej jest konsekwencją wyższego poziomu odporności populacji i wyselekcjonowania silniejszych zmian antygenowych.

Odpowiedź serologiczna wobec GII.4–1987/1997 i GII.4–2002/2004 wskazuje na istotne antygenowe różnice. Szczepy epidemiczne GII.4–2004 i GII.4–2005 różnią się od GII.4–1987 i GII.4–1997 i mniej od GII.4–2002, ale nie od 2002a.

Norowirusy GII.4 mogą kodować ograniczoną liczbę silnych epitopów dominujących immunologicznie. Norowirusy wiążą HBGA, które są konieczne do rozwoju zakażeń, ponieważ gen FUT2 jest wrażliwym allelem na zakażenie wirusem *in vivo* (16). GII.4 wykazuje odmienne wzory reakcji z węglowodanami typowo regulowanymi przez FUT1 (Le<sup>x</sup>, Le<sup>y</sup>), FUT2 (H typ 3), FUT3, enzym *Lewisa* (Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>) i enzymy A i B. Te odkrycia sugerują, że niektóre norowirusy GII.4 nie tylko wiążą węglowodany regulowane przez allele wrażliwości FUT2, ale także mogą wiązać węglowodany regulowane przez FUT1 i FUT2, jak i allele A i B. Ekspresja FUT1 nie jest demonstrowana przez śluzówkę jelita. Możliwe, że enzym FUT2 lub inna fukozylotransferaza powoduje ekspresję węglowodanów regulowanych przez FUT1 w jelicie, podobnie jak wykazano to w ślinie, gdzie

FUT2 wytwarza Le<sup>x</sup> i Le<sup>y</sup> z łańcucha rdzenia typu 2. Osoby FUT2 negatywne są odporne na zakażenie norowirusami (16) i prawdopodobnie nie wykazują objawów zakażenia po ekspozycji na GII.4 (18) bez względu na obecność innych fukozylotransferaz.

Norowirusy mają zdolność wykorzystywania ogromnej liczby ligandów powiązanych z HBGA. Potencjalna plastyczność miejsc wiążących węglowodany dostarcza wystarczającą liczbę antygenowych dryftów do ucieczki przed odpornością populacyjną podczas, gdy równocześnie zachowują potencjał wiązania węglowodanów i zmieniającą się wrażliwość szczepu na wiele różnych alleli ludzkich, które regulują ekspresję HBGA (24). Dryft antygenowy i zmiana receptora mają funkcje synergistyczne w utrzymaniu odporności populacyjnej w stosunku do norowirusów GII.4. Jest możliwe wytworzenie szczepowo-swoistej odporności ochronnej.

Diagnostyka mikrobiologiczna norowirusów obejmuje mikroskopię elektronową (EM), RT-PCR, RT-PCR z zastosowaniem starterów wewnętrznych (N-PCR), hybrydyzację i sekwencjonowanie. Z racji zmienności antygenowej norowirusów badania serologiczne mają dziś mniejsze znaczenie.

Próbki do badań należy pobrać w czasie od 48 do 72 godzin od wystąpienia objawów klinicznych. Do badań należy pobierać próbki kału od 10 pacjentów. Nie zaleca się natomiast pobierania wymazów kałowych i wymazów z gardła.

Próbki do badań z zastosowaniem EM nie mogą być zamrożone. Jeżeli zachodzi konieczność, należy je transportować i przechowywać w temperaturze 4°C (2–3 tygodnie). Podobne warunki należy stworzyć próbkom przeznaczonym do badań z zastosowaniem RT-PCR. Jeśli będą one przechowywane przez okres dłuższy niż 2 tygodnie, należy je zamrozić w temperaturze –80°C.

## PIŚMIENNICTWO

1. „Norwalk-like viruses” public health consequences and outbreak management. CDC, MMWR (editorial) 2001; 50: 1-13.
2. Rzeżutka A, Kozyra I, Chrobocińska M, i in. Norowirusy w środowisku i żywności – nowe zagrożenie? *Medycyna Wet* 2007; 63: 379-83.
3. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, i in. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972; 10: 1075-81.
4. Duizer E, Bijker P, Rockx B, i in. Inactivation of caliciviruses. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 4538-43.
5. Noel JS, Fankhauser RL, Ando T, i in. Identification of a distinct common strain of “Norwalk-like viruses” having a global distribution. *J Infect Dis* 1999; 179: 1334.

6. Vinje J, Altena S, Koopmans M. The incidence and genetic variability of small round-structured viruses in outbreaks of *gastroenteritidis* in the Netherlands. *J Infect Dis* 1997; 176: 1374-8.
7. Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, i in. Epidemiologic and molecular trends of „Norwalk-like viruses” associated with outbreaks of *gastroenteritidis* in the United States. *J Infect Dis* 2002; 186: 1-7.
8. Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, i in. Outbreaks of *acute gastroenteritidis* on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus – United States. *J Infect Dis* 2004; 190:27-36.
9. Lopman B, Vennema H, Kohli E, i in. Increase in viral *gastroenteritidis* outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 2004; 363: 682-8.
10. Medici MC, Martinelli M, Abelli LA, i in. Molecular epidemiology of norovirus infections in sporadic cases of viral *gastroenteritidis* among children in Northern Italy. *J Med Virol* 2006; 78: 1486-92.
11. Phan TG, Kuroiwa T, Kaneshi K, i in. Changing distribution of norovirus genotypes and genetic analysis of recombinant GIIb among infants and children with diarrhea in Japan. *J Med Virol* 2006; 78: 971-8.
12. Bull RA, Tu ET, McIver CJ, i in. Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of *gastroenteritidis*. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 327-33.
13. Kroneman A, Vennema H, Harris J, i in. Increase in norovirus activity reported in Europe. *Euro Surveill* 2006; 11: EO61214.1 061211.
14. Norovirus activity-United States, 2006-2007. (editorial) *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007; 56: 842-6.
15. Okada M, Tanaka T, Oseto M i in. Genetic analysis of noroviruses associated with fatalities in healthcare facilities. *Arch Virol* 2006; 151: 1635-41).
16. Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, i in. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med* 2003; 9: 548-53.
17. Larsson MM, Rydell GE, Grahn A, i in. Antibody prevalence and titer to norovirus (genogroup II) correlate with secretor (FUT2) but not with ABO phenotype or Lewis (FUT3) genotype. *J Infect Dis* 2006; 194: 1422-7.
18. Kindberg E, Akerlind B, Johnsen C, i in. Host genetic resistance to symptomatic norovirus (GII.4) infections in Denmark. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2720-2.
19. Lindesmith L, Moe C, Lependu J, i in. Cellular and humoral immunity following Snow Mountain virus challenge. *J Virol* 2005; 79: 2900-9.
20. Prasad BV, Hardy ME, Dokland T, i in. X-ray crystallographic structure of the Norwalk virus capsid. *Science* 1999; 286: 287-90.
21. Tan M, Hegde RS, Jiang X. The P domain of norovirus capsid protein forms dimer and binds to histo-blood group antigen receptors. *J Virol* 2004; 78: 6233-42.
22. Chen R, Neill JD, Estes MK i in. X-ray structure of a native calicivirus structural insights into antigenic diversity and host specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 8048-53.
23. Cao S, Lou Z, Tan M i in. Structural basis for the recognition of blood group trisaccharides by norovirus. *J Virol* 2007; 81: 5949-57.
24. Lindesmith LC, Donaldson EF, LoBue AD, i in. Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations. *PLoS Medicine* 2008; 5: 0269-81.
25. van Nimwegen E, Crutchfield JP, Mitchell M. Statistical dynamics of the royal road genetic algorithm. *Theor Comput Sci* 1999; 229: 41-102.

Otrzymano: 9.10.2008 r.

Zakwalifikowano do druku: 15.01.2009 r.

**Adres do korespondencji.**

Eugenia Gospodarek

Katedra i Zakład Mikrobiologii

Collegium Medicum im.L.Rydygiera

w Bydgoszczy,UMK w Toruniu

85-094 Bydgoszcz,ul.M.Skłodowskiej-Curie 9

tel.(52) 5854480

e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl