

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΖΩΙΚΗΣ
ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΝΟΡΟΪΟΥ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ
ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ: ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ
ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ»**

ΧΡΥΣΑΝΘΗ ΠΑΠΑΓΟΡΑ

ΒΟΛΟΣ, 2025

**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC
ENVIRONMENT
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION**

**INTERDEPARTMENTAL POSTGRADUATE PROGRAMME
“TECHNOLOGY, QUALITY AND SAFETY OF ANIMAL ORIGIN
FOODS”**

POSTGRADUATE MASTER’S THESIS

**“INACTIVATION OF HUMAN NOROVIRUS (HUNOV) IN FOODS
BY THE HIGH-PRESSURE PROCESSING (HPP): SYSTEMATIC
REVIEW AND META-ANALYSIS”**

CHRYSANTHI PAPAGORA

VOLOS, 2025

**«Αδρανοποίηση του Ανθρώπινου Νοροϊού στα τρόφιμα με την επεξεργασία
υψηλής πίεσης: συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1) Πεξαρά Ανδρεάνα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή

Επιστημών Υγείας, Π.Θ., Επιβλέπουσα.

2) Σολωμάκος Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή

Επιστημών Υγείας, Π.Θ., Μέλος

3) Παρλαπάνη Φωτεινή, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και

Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Π.Θ., Μέλος

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα. Πεξαρά Ανδρεάνα, για την πολύτιμη και έμπρακτη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Σολωμάκο Νικόλαο, και την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Παρλαπάνη Φωτεινή, για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Οι Ανθρώπινοι Νοροϊοί (Human Noroviruses, HuNoVs) αποτελούν την κύρια αιτία οξείας τροφιογενούς γαστρεντερίτιδας παγκοσμίως. Έως μέχρι και πολύ πρόσφατα, η θερμική επεξεργασία αποτελούσε την κύρια μέθοδο για την αδρανοποίηση των HuNoVs στα τρόφιμα. Ωστόσο, το γεγονός ότι πολλά τρόφιμα που μπορεί να είναι δυνητικά μολυσμένα από HuNoVs όπως λαχανικά, φρούτα και οστρακοειδή μπορούν να υποβληθούν σε περιορισμένη μόνο θερμική επεξεργασία πριν από την κατανάλωση οδήγησε την βιομηχανία τροφίμων στην διερεύνηση νέων τεχνολογιών μη θερμικής επεξεργασίας που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αποτελεσματική αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών με μικρότερες επιπτώσεις στα θρεπτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων. Η Επεξεργασία Υψηλής Πίεσης (High Pressure Processing, HPP) αποτελεί σήμερα μία από τις κορυφαίες τεχνολογίες μη θερμικής επεξεργασίας των τροφίμων.

ΣΚΟΠΟΣ: Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της HPP στην αδρανοποίηση των HuNoVs στα τρόφιμα. Μετά από συστηματική ανασκόπηση και τη συλλογή των ερευνητικών δεδομένων από τη διεθνή βιβλιογραφία πραγματοποιήθηκαν διάφορες συσχετίσεις με σκοπό να διεξαχθούν συμπεράσματα σε σχέση με την επίδραση των παραγόντων επεξεργασίας (πίεση, χρόνος, θερμοκρασία επεξεργασίας) και των μη παραγόντων επεξεργασίας (το είδος και τα χαρακτηριστικά του τροφίμου) στην αδρανοποίηση των HuNoVs στα τρόφιμα.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ: Η συγκεκριμένη συστηματική ανασκόπηση διεξήχθη σύμφωνα με τις οδηγίες PRISMA. Οι βάσεις δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν για την αναζήτηση των μελετών ήταν το Scopus, το PubMed και το ResearchGate. Επίσης, η στατιστική

ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με χρήση της γλώσσας προγραμματισμού Python (έκδοση 3.11).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν 21 μελέτες, οι οποίες διερεύνησαν την αδρανοποίηση διαφορετικών στελεχών HuNoVs από την HPP σε διάφορα τρόφιμα, δοκιμάζοντας διαφορετικούς συνδυασμούς πίεσης, θερμοκρασίας και χρόνου. Στη συνέχεια κατηγοριοποιήθηκαν με βάση τα ερευνητικά ερωτήματα που τέθηκαν. Πιο αναλυτικά, εννιά (9) μελέτες διερεύνησαν και συνέκριναν την διαφορετική ευαισθησία στελεχών από διαφορετικές γονοομάδες, και πέντε (5) από αυτές κατέγραψαν αποτελέσματα ερευνών σχετικά με την επίδραση της ενεργότητας νερού (a_w), του pH και της περιεκτικότητας σε NaCl του τροφίμου στην αποτελεσματικότητα της HPP. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι τόσο οι παράμετροι επεξεργασίας (πίεση, θερμοκρασία και χρόνος επεξεργασίας) της HPP όσο και τα διάφορα συστατικά του τροφίμου αλλά ακόμη και ίδιο το στέλεχος του ιού καθορίζουν σε σημαντικό βαθμό την αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP. Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε ότι οι εφαρμοζόμενες πιέσεις από 400 έως 600 MPa καθώς και οι χαμηλές θερμοκρασίες (0-4°C) ήταν περισσότερο αποτελεσματικές. Επίσης, φάνηκε ότι τα στελέχη της γονοομάδας GI ήταν πιο ανθεκτικά από αυτά της GII καθώς χρειάστηκαν μεγαλύτερες πιέσεις για να αδρανοποιηθούν. Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι τα συστατικά ενός τροφίμου μπορεί να επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας όπως το NaCl που αυξάνει την ανθεκτικότητα των ιών. Διαπιστώθηκε επίσης ότι οι HuNoVs. αδρανοποιήθηκαν πιο εύκολα σε τρόφιμα με υψηλό a_w ενώ σε όξινα τρόφιμα παρουσίασαν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα. Τα ευρήματα συμβάλλουν σε μια καλύτερη κατανόηση του πώς οι συνθήκες της HPP και η σύσταση του τροφίμου επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της αδρανοποίησης των HuNoVs στα τρόφιμα.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Ανθρώπινος Νοροϊός (Human Norovirus, HuNoV), Επεξεργασία
υψηλής πίεσης (High-pressure processing, HPP), Παράμετροι επεξεργασίας (Πίεση,
Θερμοκρασία, Χρόνος)

ABSTRACT

Introduction: Human Noroviruses (HuNoVs) are the leading cause of acute foodborne gastroenteritis worldwide. Up until very recently, thermal treatment had been considered the principal method for inactivating HuNoVs in food products. As many potentially HuNoVs contaminated foods such as fruits, vegetables, and shellfish undergo minimal thermal processing prior to consumption, the food industry has increasingly turned to non-thermal processing technologies for effective pathogen inactivation while preserving the nutritional and sensory qualities of food. High Pressure Processing (HPP) is currently one of the most advanced non-thermal food preservation methods.

Aim: The aim of this study was to evaluate the effectiveness of HPP in the inactivation of HuNoVs in food. A systematic review was conducted, and data were collected from the international scientific literature. Various correlations were performed to identify and interpret the effects of both processing parameters (pressure, temperature, and processing time) and non-processing factors (such as the type and characteristics of the food matrix) on HuNoV inactivation.

Methods: A systematic review was conducted following the PRISMA guidelines, with data collected from Scopus, PubMed, and ResearchGate. Statistical analysis was performed using Python (version 3.11).

Results: A total of 21 studies were included, investigating the inactivation of various HuNoV strains in different foods under different combinations of pressure, temperature, and processing time. Studies were categorized according to specific research questions. Nine studies compared the susceptibility of strains from different genogroups, and five examined the effects of food characteristics such as water activity (a_w), pH, and NaCl content on HPP efficacy. The results indicate that both processing parameters (pressure,

temperature, processing time) and food-related factors significantly influence HuNoV inactivation by HPP. Pressures between 400 and 600 MPa, combined with low temperatures (0–4°C), were found to be the most effective. Strains from genogroup GI appeared more resistant than those from GII. Moreover, food composition affected viral resistance: high salt levels increased virus survival, while foods with high water activity facilitated inactivation. A greater viral resistance were revealed in acidic foods. The findings contribute to a better understanding of how HPP conditions and food composition influence the success of viral inactivation.

Keywords: Human Norovirus (HuNoVs), High-pressure processing (HPP), High-pressure processing parameters (pressure, temperature and processing time).

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Human Noroviruses (HuNoVs)	1
1.1.1 Είδη του γένους HuNoVs	1
1.1.2 Ιστορικά στοιχεία	1
1.1.3 Τρόποι μετάδοσης και εστίες	2
1.1.4 Τροφιμογενής μετάδοση	4
1.1.5 Κλινικά συμπτώματα	6
1.1.6 Θνησιμότητα	7
1.1.7 Παθογένεια	8
1.1.8 Επιδημιολογικά στοιχεία	10
1.1.9 Εργαστηριακή διάγνωση	12
1.1.10 Πρόληψη	13
1.2 Μη θερμικές τεχνολογίες επεξεργασίας τροφίμων	14
1.3 Επεξεργασία Υψηλής Πίεσης (High Pressure Processing, HPP)	15
1.3.1 Ιστορική Αναδρομή	16
1.3.2 Αρχές λειτουργίας και Μηχανισμοί δράσης της HHP	17
1.4 Επίδραση της HPP στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων	19
1.4.1 Κρέας & Κρεατοσκευάσματα	20
1.4.2 Φρούτα, Λαχανικά και Χυμοί	22
1.4.3 Οστρακοειδή	23
1.4.4 Γαλακτοκομικά	25
1.5 Ισχύουσα Νομοθεσία	26
1.6 Αδρανοποίηση των ιών στα τρόφιμα με την επεξεργασία της HPP	27

1.7 Μεθοδολογία ερευνών που μελετούν την αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP	28
1.8 Σκοπός	35
2. ΥΛΙΚΑ- ΜΕΘΟΔΟΙ	36
2.1 Στρατηγική Αναζήτησης	36
2.2 Στατιστική Ανάλυση	36
2.3 Ερευνητικό Ερώτημα	36
2.4 Κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού ερευνών	38
2.5 Αποτελέσματα ανασκόπησης της βιβλιογραφίας	38
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	41
3.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP	41
3.2 Διαφορετικά στελέχη ιών	41
3.3 Παράμετροι επεξεργασίας	47
3.3.1 Πίεση (MPa)	47
3.3.2 Θερμοκρασία επεξεργασίας	55
3.4 Παράμετροι μη επεξεργασίας	58
3.4.1 Το είδος του τροφίμου/ μέσο	58
3.4.2 Ενεργότητα νερού (a_w) και περιεκτικότητα σε NaCl	60
3.4.3 pH	62
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	66
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	70

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Human noroviruses (HuNoVs)

1.1.1 Είδη του γένους HuNoVs

Το γένος *Norovirus* ανήκει στην οικογένεια *Caliciviridae* και περιέχει μόνο ένα είδος, τον ιό Norwalk. Οι ιοί HuNoVs είναι γραμμικοί, μονόκλωνοι, μήκους περίπου 7,5 KB, χωρίς περίβλημα που περιέχουν ως γενετικό υλικό μια απλή αλυσίδα RNA (Glass et al., 2009; Thorne et al., 2014). Ταξινομούνται σε 10 γονοομάδες (GI-GX), οι οποίες υποδιαιρούνται σε 49 γονότυπους (Chhabra et al., 2019) εκ των οποίων οι GI, GII και GIV προκαλούν ασθένεια στον άνθρωπο (Kroneman et al., 2013).

Ως τώρα τα περισσότερα κρούσματα τροφιμογενών εστιών γαστρεντερίτιδας που έχουν καταγραφεί, φαίνεται να έχουν προκληθεί από τον γονότυπο HuNoV GII.4 (Kroneman et al., 2008, Siebenga et al., 2009, Vinjé et al., 2015). Συγκεκριμένα αποτελεί το 70-80% όλων των εστιών γαστρεντερίτιδας που οφείλονται σε κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων από HuNoVs (Tran et al., 2013). Επίσης, παρατηρείται αύξηση και σε περιστατικά που εμπλέκονται οι γονότυποι GII.2 και GII.17 (de Graaf et al., 2015, Fu et al., 2015, Parra et al., 2017) καθώς πρόσφατα βρέθηκε ότι οι νεοεμφανιζόμενοι γονότυποι GII.P17–GII.17 αποτελούν κυρίαρχα στελέχη επιδημιών ιογενούς γαστρεντερίτιδας σε ορισμένα μέρη της Ασίας (de Graaf et al., 2016).

1.1.2 Ιστορικά στοιχεία

Οι ιοί αυτοί απέκτησαν το όνομά τους από μια επιδημία σε σχολείο της πόλης *Norwalk* του Οχάιο των ΗΠΑ το 1968, στην οποία είχε προσβληθεί το 50% των παιδιών αλλά και μεγάλος αριθμός συγγενών τους. Για αρκετές δεκαετίες αυτή η ομάδα των ιών που

απομονώθηκαν από τα παραπάνω περιστατικά ονομάστηκαν ως «SRSV, Small Round Structured Viruses, Μικροί Στρογγυλοί Ιοί ή ιοί Norwalk μέχρι πολύ πρόσφατα όπου η ταξινόμησή τους ερευνήθηκε με τη χρήση σύγχρονων μεθόδων μοριακής βιολογίας και ανακαλύφθηκαν και άλλοι Norwalk-like ιοί και η ομάδα ονομάστηκε Norovirus. Η σύγχρονη ταξινόμηση τοποθετεί τους *Noroviruses* μαζί με τους *Sapoviruses* στην οικογένεια των *Calicivirus* (Kroneman et al., 2006).

1.1.3 Τρόποι μετάδοσης και εστίες

Οι *HuNoVs* μεταδίδονται μέσω της εντερο-στοματικής οδού κατά την κατάποση των ενθυλακωμένων ιικών σωματιδίων. Κατά κανόνα η μετάδοση του νοσήματος γίνεται μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων τροφίμων ή νερού αλλά μπορεί να γίνει και από άτομο σε άτομο ή ακόμη και με αερολύματα εμετού (Lee et al., 2013). Η παγκοσμιοποίηση της βιομηχανίας τροφίμων σε συνδυασμό με την τροφιμογενή μετάδοση των *HuNoVs* είχαν ως αποτέλεσμα την εξάπλωση διαφορετικών γονότυπων σε διάφορα μέρη του κόσμου, προκαλώντας εστίες πολλαπλών στελεχών ταυτόχρονα παγκοσμίως και οδηγώντας συχνά σε γεγονότα ιογενούς ανασυνδυασμού (de Graaf et al., 2016).

Επίσης απεκκρίνονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα κόπρανα ($4-9 \log_{10}$ αντίγραφα γονιδιώματος/gr) για τουλάχιστον 2-3 εβδομάδες τόσο σε συμπτωματικές όσο και σε ασυμπτωματικές περιπτώσεις ενώ μπορεί να ανιχνεύονται σε αυτά ακόμα και 2 εβδομάδες μετά την υποχώρηση των συμπτωμάτων (Teunis et al., 2015, Sabrià et al., 2016). Επιπλέον, είναι εξαιρετικά μεταδοτικοί και μολυσματικοί καθώς ο ελάχιστος αριθμός ιικών σωματιδίων που πρέπει να ενοφθαλμιστούν για να προκληθεί μόλυνση, είναι μόλις 10 (10-100 ιικά σωματίδια). Ένα ακόμη χαρακτηριστικό τους είναι ότι

εξελίσσονται διαρκώς και καθώς υπάρχει περιορισμένη διασταυρούμενη ανοσία μεταξύ των στελεχών, τα άτομα μπορούν να μολυνθούν από πολλαπλά στελέχη καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους (Hall et al., 2012). Επιπροσθέτως, χαρακτηρίζονται από υψηλή περιβαλλοντική σταθερότητα καθώς στο περιβάλλον μπορούν να επιβιώσουν τόσο σε θερμοκρασίες κατάψυξης όσο και σε θερμοκρασίες μέχρι 60°C και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε κοινά απολυμαντικά και αντισηπτικά όπως η χλωρίνη σε χαμηλές συγκεντρώσεις, οι ενώσεις τεταρτοταγούς αμμωνίου και η αιθυλική αλκοόλη. Ακόμη καταφέρνουν να επιβιώσουν σε διάφορες επιφάνειες ως και 3 βδομάδες και παραμένουν ανιχνεύσιμοι στα υπόγεια ύδατα για πάνω από 3 χρόνια, με μολυσματικότητα που διαρκεί τουλάχιστον 61 ημέρες (Hall et al., 2012, Lopman et al., 2012). Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν στην επέκταση των επιδημικών εξάρσεων που οφείλονται σε *HuNoVs* καθώς και στην αντιμετώπιση αρκετών προκλήσεων για τον έλεγχο αυτών των λοιμώξεων (Kroneman et al., 2008, Teunis et al., 2008).

Φαίνεται ότι ο επιπολασμός της μόλυνσης από τους διάφορους γονιδιακούς τύπους *HuNoVs* διαφέρει μεταξύ ανθρώπινων πληθυσμών και οδών μετάδοσης (Kroneman et al., 2008). Ο γονότυπος GII.4 συσχετίζεται συχνότερα με μετάδοση που προκαλείται από άτομο σε άτομο, ενώ οι γονότυποι GI.3, GI.6, GI.7, GII.3, Οι GII.6 και GII.12 συνδέονται συχνότερα με τροφιμογενή μετάδοση (Verhoef et al., 2015). Επιπλέον, η μετάδοση των στελεχών της γονομάδας GI γίνεται συχνότερα με υδατογενή τρόπο σε σύγκριση με τα στελέχη της GII, γεγονός που μάλλον συνδέεται με την πεποίθηση ότι τα στελέχη GI έχουν υψηλότερη σταθερότητα στο νερό σε σχέση με τα στελέχη GII (Lysén et al., 2009). Τα περισσότερα κρούσματα που συνδέονται με *HuNoVs* αναφέρονται σε πολυσύχναστα μέρη και κοινόχρηστους χώρους όπου καταναλώνονται κοινά τρόφιμα όπως είναι τα εστιατόρια, τα ξενοδοχεία, τα σχολεία, τα νοσοκομεία, οι στρατιωτικές μονάδες, τα

γηροκομεία, τα κρουαζιερόπλοια (Hall et al., 2011). Είναι αρκετά συχνή η μετάδοση μεταξύ ταξιδιωτών οι οποίοι διαμένουν σε κλειστούς εσωτερικούς χώρους, όπως είναι τα κρουαζιερόπλοια και τα ξενοδοχεία κλπ., λόγω της αλληλεπίδρασης των επιβατών κατά τις διάφορες κοινές δραστηριότητές τους, του αυτοσερβίρισματος γευμάτων από μπουφέ, της χρήσης κοινόχρηστων αποχωρητηρίων και άλλων εγκαταστάσεων και της επαφής με τις διάφορες επιφάνειες, όπως τα κιγκλιδώματα, τα πόμολα, κ.ά. Έτσι σε αυτά τα μέρη υπάρχει μεγάλος κίνδυνος γρήγορης εξάπλωσης του ιού, που μπορεί να εξελιχθεί σε επιδημία (Mead et al., 1999).

1.1.4 Τροφιμογενής μετάδοση

Τα τρόφιμα που εμπλέκονται συχνότερα στην πρόκληση τροφιμογενούς νόσου η οποία οφείλεται σε HuNoVs είναι τα φρέσκα προϊόντα όπως είναι τα φρούτα και τα λαχανικά, τα θαλασσινά, τα δίθυρα μαλάκια, τα έτοιμα προς κατανάλωση φαγητά και γενικότερα τρόφιμα που υφίστανται ελάχιστη επεξεργασία πριν την κατανάλωση (Choi et al., 2020). Τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν σημαντική απειλή για τη δημόσια υγεία όσο αφορά τις λοιμώξεις από HuNoVs προκαλώντας παγκόσμια ανησυχία. Στην συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση των Gao et al., 2024 υποδεικνύεται ο υψηλός κίνδυνος μόλυνσης των λαχανικών από ανθρώπινους HuNoVs παγκοσμίως, με τη γονιδιακή ομάδα GI να είναι η κυρίαρχη. Συγκεκριμένα, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά και τα μαλακά κόκκινα φρούτα όπως τα σμέουρα και οι φράουλες συνδέονται αρκετά συχνά με κρούσματα HuNoVs (Maunula et al., 2009, Ethelberg et al., 2010, Müller et al., 2016). Αυτά τα τρόφιμα συνήθως μολύνονται κατά τη διάρκεια διάφορων γεωργικών πρακτικών, όπως με τη χρήση μολυσμένου νερού για άρδευση, οργανικών λιπασμάτων (π.χ. κοπριά και λίπασμα), την υγιεινή στο αγρόκτημα, τον χειρισμό, την συσκευασία και

την επεξεργασία (Jung et al., 2014). Σύμφωνα με την έρευνα των Callejón et al. (2015) στις Ηνωμένες Πολιτείες, οι HuNoVs έχουν ταυτοποιηθεί ως αιτιολογικός παράγοντας στο 59% των περιστατικών γαστρεντερίτιδας που σχετίζονται με νωπά προϊόντα, ενώ στην Ευρωπαϊκή Ένωση, έχει συσχετιστεί με το 53% αυτών των περιπτώσεων. Επιπλέον, μολυσματικά σωματίδια HuNoVs μπορεί να παραμείνουν για τουλάχιστον επτά ημέρες σε κατεψυγμένα μούρα (Butot 2008, Bartsch et al. 2016, Li et al. 2018). Μεταξύ των αναφερόμενων εστιών που σχετίζονται με οστρακοειδή από το 1998 έως το 2009 σε όλο τον κόσμο, η μόλυνση από πολλαπλά στελέχη HuNoVs αναφέρθηκε στο 65% των εστιών, με τα HuNoVs GI και GII να ανιχνεύονται στο 75% και 92%, αντίστοιχα, των δειγμάτων οστρακοειδών στις έρευνες επιδημιών (Le Guyader et al., 2012).

Αρκετά συχνές είναι και οι εστίες οξείας γαστρεντερίτιδας που συνδέονται με την κατανάλωση μολυσμένων ωμών ή μερικώς μαγειρεμένων δίθυρων μαλακίων όπως στρείδια και μύδια (LeMennec et al., 2016). Σύμφωνα με την έρευνα των Li et al., 2023 ο συγκεντρωτικός επιπολασμός των HuNoVs στα οστρακοειδή ανέρχεται σε ποσοστό 29% παγκοσμίως, με τους γονότυπους GII.4 (92,86%) και GII.2 (46,43%) να είναι οι πιο κυρίαρχοι. Επιπροσθέτως, από το 2003 έως το 2017, σημειώθηκαν συνολικά 51 εστίες μόλυνσης με HuNoVs παγκοσμίως και μια σημαντική πλειοψηφία (61%) συνδέθηκε με κατανάλωση δίθυρων οστρακοειδών (Hardstaff et al., 2018). Τα ακατέργαστα ή ανεπαρκώς επεξεργασμένα λύματα μπορούν να προκαλέσουν μόλυνση στα παράκτια ύδατα, με αποτέλεσμα τα δίθυρα μαλάκια, λόγω της φιλτραριστικής τους ικανότητας, να συσσωρεύουν παθογόνους μικροοργανισμούς σε επίπεδα σημαντικά υψηλότερα από αυτά που βρίσκονται στο περιβάλλον νερό. Ο βαθμός επιπολασμού των HuNoVs στα οστρακοειδή επηρεάζεται από τα διαφορετικά είδη οστρακοειδών, τον γεωγραφικό τόπο, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, την εποχή, τις βροχοπτώσεις, τη

θερμοκρασία και την ποιότητα του νερού (Campos et al., 2017, Rincé et al., 2018, Li et al., 2023).

1.1.5 Κλινικά συμπτώματα

Η νόσος εμφανίζεται περισσότερο τους χειμερινούς μήνες (Heymann, 2008) και η διάρκεια των συμπτωμάτων είναι από 24 έως 48 ώρες. Η αποβολή του ιού στα κόπρανα αρχίζει 18 ώρες ή περισσότερο μετά τη μόλυνση και ο χρόνος επώασης διαρκεί συνήθως 1-2 ημέρες (Trivedi et al., 2012). Συγκεκριμένα, προκαλούν λοιμώξεις του γαστρεντερικού συστήματος που χαρακτηρίζονται από υδαρή διάρροια, έμετο, κράμπες στην κοιλιακή χώρα, ναυτία και σπανιότερα πυρετό που είναι κατά κανόνα χαμηλός. Ακόμη, μερικές φορές, έχει παρατηρηθεί παρουσία βλέννας στα κόπρανα, κεφαλαλγία, ρίγη, μυαλγία και κόπωση τα οποία συνήθως εκδηλώνονται μετά από περίοδο επώασης 12- 48 ωρών (Heymann, 2008). Από τα παραπάνω, η διάρροια είναι το πιο συχνά αναφερόμενο σύμπτωμα στους ενήλικες και ο εμετός στα παιδιά και η συχνότερη επιπλοκή είναι η αφυδάτωση. Επίσης, οξεία έναρξη εμέτου μπορεί να συμβεί από την πρώτη κιόλας ημέρα μετά την έκθεση στον ιό και θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα της καθυστερημένης γαστρικής κένωσης (Tran et al., 2013)

Η ιογενής γαστρεντερίτιδα από HuNoVs χαρακτηρίζεται ως ήπια και αυτοπεριοριζόμενη καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις υποχωρεί μόνη της μέσα σε 1 έως 3 ημέρες (Tran et al., 2013). Επομένως οι ασθενείς αναρρώνουν συνήθως χωρίς επιπλοκές, με εξαίρεση τα βρέφη, τους ηλικιωμένους και τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα που μπορεί να εμφανίσουν βαρύτερη κλινική εικόνα (Parra, 2019). Επιπροσθέτως, έχουν αναφερθεί παρατεταμένες λοιμώξεις από HuNoVs σε άτομα με συγγενείς ανοσοανεπάρκειες, σε μεταμοσχευμένους ασθενείς που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτική θεραπεία, σε

καρκινοπαθείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία και σε άτομα που έχουν μολυνθεί με HIV. Οι χρόνιες λοιμώξεις από HuNoVs στα παραπάνω άτομα επηρεάζουν δυσμενώς την ποιότητα ζωής και την ανάρρωσή τους. (Siebenga et al., 2008, Green, 2014).

Από τα μέχρι τώρα συλλεχθέντα στοιχεία φαίνεται πως δεν είναι όλοι οι γονότυποι HuNoVs εξίσου παθογόνοι και κατά συνέπεια δεν προκαλούν την ίδια κλινική εικόνα. Για παράδειγμα, τα στελέχη GII.4 συσχετίζονται συχνότερα με έμετο καθώς και με διάρροια μεγαλύτερης διάρκειας και ποσότητας κοπράνων (Desai et al., 2012). Επίσης από ορισμένες μελέτες προκύπτει ότι άτομα που έχουν μολυνθεί με στελέχη GII.4 αποβάλλουν υψηλότερες ποσότητες του ιού από ό,τι συμβαίνει σε λοιμώξεις με άλλα στελέχη (Chan et al., 2006). Ωστόσο, είναι πολύ πιθανό η παρατηρούμενη ετερογένεια στην αποβολή του ιού να σχετίζεται περισσότερο με την υποκείμενη κατάσταση υγείας και την ηλικία των μολυσμένων ατόμων παρά με τον γονότυπο του ιού (Milbrath et al., 2013).

Τέλος, δεν είναι απαραίτητο ότι η λοίμωξη από HuNoVs θα οδηγήσει τελικά στην εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων, καθώς η αποβολή του ιού μπορεί να ανιχνευθεί στο 7% των ασυμπτωματικών ατόμων στις ανεπτυγμένες χώρες (Ahmed et al., 2014) και σε πολύ υψηλότερο ποσοστό στις χώρες με περιορισμένα τεχνολογικά μέσα που είναι απαραίτητα για την ανίχνευση των ιών (Huynen et al., 2013).

1.1.6 Θνησιμότητα

Οι HuNoVs προσβάλλουν όλες τις ηλικίες, με τις πιο ευπαθείς ομάδες να είναι τα παιδιά κάτω των πέντε ετών, στα οποία έχουν καταγραφεί τα περισσότερα επιβεβαιωμένα κρούσματα (Chen et al., 2004, Liao et al., 2021) και οι ηλικιωμένοι, οι οποίοι διατρέχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου. Αν και η λοίμωξη από HuNoVs σπάνια καταγράφεται

επίσημα ως αιτία θανάτου, έχει παρατηρηθεί μια συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων ποσοστών θνησιμότητας στους ηλικιωμένους με εποχιακές αυξήσεις περιστατικών λοιμώξεων από HuNoVs (Harris et al, 2008) καθώς και σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνια νοσήματα (Cardemil et al., 2017). Επίσης, τα υψηλότερα ποσοστά νοσηλείας και θνησιμότητας φαίνεται να συσχετίζονται συχνότερα με τον HuNoV GI.4 (Desai et al., 2012, Lysén et al., 2009).

1.1.7 Παθογένεια

Η παθογένεια των HuNoVs χαρακτηρίζεται από ετερογενείς αλληλεπιδράσεις μεταξύ ξενιστή και ιού, με αποτέλεσμα να μην είναι όλα τα άτομα εξίσου ευαίσθητα στις λοιμώξεις και να μην είναι όλοι οι γονότυποι εξίσου παθογόνοι. Στους παράγοντες που επηρεάζουν την παθογένεση των HuNoVs περιλαμβάνονται ο γονότυπος ακόμη και το στέλεχος του ιού, η ιική προσκόλληση στα ανθρώπινα αντιγόνα ιστο-ομάδας αίματος (HBGAs), ο κυτταρικός τροπισμός των διαφορετικών στελεχών, οι ανοσολογικές αποκρίσεις του ξενιστή στη μόλυνση και η βακτηριακή μικροχλωρίδα του ξενιστή (Thorven et al., 2005, Nordgren et al., 2010). Τα HBGAs είναι γλυκάνες που εκφράζονται στην επιφάνεια συγκεκριμένων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων και των επιθηλιακών κύτταρων του εντέρου και λειτουργούν ως υποδοχείς για την προσκόλληση του ιού (Stanley et al., 2011). Έχει παρατηρηθεί σημαντική γονοτυπική και φαινοτυπική ποικιλομορφία στην έκφραση των HBGAs μεταξύ διαφορετικών ανθρώπινων πληθυσμών, γεγονός το οποίο επηρεάζει σημαντικά την ευαισθησία των ατόμων σε λοιμώξεις από τους HuNoVs και στην παθογένεση των στελεχών. Η έκφραση των HBGAs καθορίζεται από γονίδια όπως τα FUT2 (fucosyltransferase 2) και έχει αποδειχθεί ότι οι άνθρωποι, που έχουν αδρανοποιημένο το FUT2, γνωστοί και ως μη-

εκκριτές είναι περισσότερο ανθεκτικοί σε αρκετούς γονότυπους HuNoVs, συμπεριλαμβανομένου του κυρίαρχου στελέχους GII.4 (Friesema et al., 2009, de Rougemont et al., 2011). Περίπου το 20% των Βορειοευρωπαίων είναι μη εκκριτές (Thorven et al., 2005).

Σε βιοψίες που έγιναν σε μολυσμένους ανθρώπους φάνηκε ότι η λοίμωξη από HuNoVs οδηγεί σε δυσλειτουργία του επιθηλιακού φραγμού. Πιο αναλυτικά διαπιστώθηκε αύξηση του αριθμού τόσο των κυτταροτοξικών ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων όσο και των αποπτωτικών επιθηλιακών κυττάρων και μείωση της αφθονίας πρωτεϊνών σε στενές συνδέσεις, σε σύγκριση με τα επίπεδα στην ομάδα ελέγχου. Αυτή η δυσλειτουργία του επιθηλιακού φραγμού πιθανώς οδηγεί στη πρόκληση διάρροιας, μέσω ενός μηχανισμού κατά τον οποίο ιόντα και νερό διαχέονται από τα υποεπιθηλιακά τριχοειδή αγγεία στον εντερικό αυλό (Troeger et al., 2009). Σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, η παθολογία των λοιμώξεων από HuNoVs περιλαμβάνει την άμβλυνση των εντερικών λαχνών, την μικρή αύξηση του αριθμού των αποπτωτικών επιθηλιακών κυττάρων στην επιφάνεια του αυλού του δωδεκαδακτύλου και τη σημαντική αύξηση του αριθμού των ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων (Schwartz et al., 2011). Τέλος, σε υγιή άτομα, οι λοιμώξεις από HuNoVs οδηγούν σε άμβλυνση των λαχνών και διήθηση των μονοπύρηνων κυττάρων στη νήστιδα (Schreiber et al., 1974). Ωστόσο, οι μηχανισμοί με τους οποίους οι HuNoVs μολύνουν την εντερική οδό και προκαλούν ασθένεια δεν είναι πλήρως κατανοητοί (Meeroff et al., 1980, Atmar et al., 2008).

1.1.8 Επιδημιολογικά στοιχεία

Οι HuNoVs είναι ο πιο κοινός αιτιολογικός παράγοντας οξείας ιογενούς γαστρεντερίτιδας καθώς σε αυτούς αποδίδονται περίπου το 90% των επιδημιών γαστρεντερίτιδας μη βακτηριακής αιτιολογίας παγκοσμίως (Greig et al., 2012) και περίπου το 20% από όλες τις περιπτώσεις οξείας γαστρεντερίτιδας (Ahmed et al., 2014). Επομένως είναι υπεύθυνοι για πολλές από τις τροφιμογενείς και υδατογενείς επιδημίες γαστρεντερίτιδας που αναγνωρίζονται κάθε χρόνο στις ανεπτυγμένες χώρες του κόσμου (Cowden et al. 2002, CDC 2008, Greig et al. 2012). Οι γαστρεντερίτιδες που προκαλούνται από τους HuNoVs χαρακτηρίζονται από υψηλή μεταδοτικότητα και καθώς τα συμπτώματα είναι συνήθως ήπια και αυτοπεριοριζόμενα, πολλοί ασθενείς δεν επισκέπτονται τις υπηρεσίες υγείας με αποτέλεσμα να δηλώνονται σπάνια ή με καθυστέρηση και αφού έχουν λάβει ήδη διαστάσεις. Έτσι δημιουργούνται επιδημίες μεγάλης έκτασης, που είναι δύσκολο να αντιμετωπιστούν εγκαίρως από τα συστήματα επιτήρησης των περισσότερων χωρών. Αυτό έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην παγκόσμια οικονομία με υψηλό άμεσο (επισκέψεις σε γιατρό, νοσηλείες, κ.ά.) και έμμεσο κόστος (χαμένες εργατοώρες, διατάραξη κοινωνικού ρόλου, κ.ά.). Δεδομένου ότι στις περισσότερες χώρες του κόσμου δεν επιτηρούνται τα σποραδικά κρούσματα αλλά μόνο οι επιδημίες από ιούς, η ακριβής επίπτωση των ιογενών γαστρεντερίτιδων παραμένει άγνωστη. Ο στόχος της διερεύνησης των επιδημιών αυτών είναι η άμεση λήψη μέτρων, η εκτίμηση της έκτασης της επιδημίας, η ανεύρεση του τρόπου και του αγωγού μετάδοσης του ιού, καθώς και ο εντοπισμός της πιθανής πηγής μόλυνσης (Hall et al. 2013, Shah and Hall 2017).

Ετησίως, συμβαίνουν περίπου 700 εκατομμύρια μολύνσεις που οφείλονται σε HuNoVs, οι οποίες οδηγούν σε πάνω από 200.000 θανάτους και έχουν οικονομική επιβάρυνση

πάνω 64 δισεκατομμυρία δολάρια (Bartsch et al., 2016). Σημαντικές είναι και οι επιπτώσεις στα παιδιά τα οποία αποτελούν μια ευαίσθητη ηλικιακή ομάδα καθώς έχει βρεθεί ότι περίπου 200.000 θάνατοι παιδιών ετησίως οφείλονται σε λοιμώξεις από HuNoVs και πλέον είναι η πιο συχνή αιτία διάρροιας σε παιδιά εμβολιασμένα με ροταϊό (Patel et al., 2008, Becker-Dreps et al., 2014).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, ευθύνεται για περίπου 21 εκατομμύρια περιπτώσεις γαστρεντερίτιδας ετησίως, με περισσότερες από 70.000 νοσηλείες και 800 θανάτους (CDC, 2024). Σε έρευνα που διεξήγαγε το CaliciNet, το εθνικό δίκτυο επιτήρησης επιδημίας HuNoVs στις Ηνωμένες Πολιτείες κατέγραψε στο χρονικό διάστημα μεταξύ της 1ης Σεπτεμβρίου 2023 και 31ης Μαρτίου 2024, 125 εστίες HuNoVs σε εθνικό επίπεδο. Μέσα σε αυτό το χρονικό πλαίσιο, ο γονότυπος GI.5[P5] βρέθηκε να ευθύνεται για έως και το 14,4% αυτών των εστιών (CDC, 2024). Επίσης, σύμφωνα με την έρευνα των Hall et al. (2014), βρέθηκε ότι στο διάστημα 2009-2012, σχεδόν το 50% των επιδημιών τροφιμογενούς αιτιολογίας στις Η.Π.Α. οφείλονταν σε HuNoVs και σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης των Wikswo et al. (2012), μεταξύ 2009–2010, καταγράφηκαν συνολικά 2259 επιδημίες γαστρεντερίτιδας με μετάδοση από άτομο σε άτομο, 89% των οποίων αποδόθηκαν σε HuNoVs.

Σύμφωνα με δεδομένα που συνέλεξε το Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων (ΣΥΔΝ), για το χρονικό διάστημα 2004-2012 στην Ελλάδα δηλώθηκαν συνολικά 36 τροφιμογενείς και υδατογενείς επιδημίες γαστρεντερίτιδας ιογενούς αιτιολογίας. Η πλειονότητα των επιδημιών προκλήθηκε από νοροϊό. Επίσης, οι περισσότερες επιδημίες ήταν μεγάλης έκτασης, με ήπια συμπτώματα και γρήγορη ανάρρωση.

Επιπροσθέτως, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, αφού συνέλεξε δεδομένα και αξιολόγησε όλες τις καταγεγραμμένες περιπτώσεις τροφιμογενών λοιμώξεων για το έτος

2010 κατέληξε ότι οι HuNoVs ήταν ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας αυτών των λοιμώξεων, ενώ αξιοσημείωτο είναι ότι μεταξύ των διαρροϊκών ασθενειών, ήταν υπεύθυνος για τους περισσότερους θανάτους (Kirk, 2015). Επίσης, το 2014 οι HuNoVs ήταν ο πρώτος αιτιολογικός παράγοντας (20,4%) για τα τροφιμογενή κρούσματα στην Ευρώπη (EFSA and ECDC, 2015) και 18% όλων των περιπτώσεων γαστρεντερίτιδας παγκοσμίως (Ahmed et al., 2014).

Τέλος, σύμφωνα με διαθέσιμα δεδομένα μοριακής επιδημιολογίας του δικτύου NoroNet, τα στελέχη του ιού με γονότυπο GII.4 ευθύνονται για την πλειονότητα των επιδημιών και των σποραδικών κρουσμάτων οξείας γαστρεντερίτιδας. Συγκεκριμένα, η παραλλαγή GII.4 2012 Sydney έχει αναφερθεί ως το πιο κυρίαρχο στέλεχος που προκαλεί έως και το 85% των παγκόσμιων επιδημιών HuNoV μεταξύ των ετών 2000 έως 2013 (Lee et al., 2013). Ακόμη, θεωρείται ότι οι διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται στο γονότυπο GII.4 είναι πιθανό να έχουν οδηγήσει στη μείωση του επιπέδου συλλογικής ανοσίας στον πληθυσμό και στην παρατηρούμενη αύξηση της εμφάνισης επιδημιών (Kroneman et al., 2006).

1.1.9 Εργαστηριακή διάγνωση

Η έγκαιρη διάγνωση της νόσου βασίζεται πρωτίστως στην κλινική εικόνα, η οποία στη συνέχεια τεκμηριώνεται εργαστηριακά με μοριακές και ανοσοϊστοχημικές μεθόδους από δείγμα κοπράνων ή από εμέσματα του ασθενή. Επίσης σημαντικό ρόλο στην έγκαιρη διάγνωση του νοσήματος διαδραματίζει η ήδη υπάρχουσα αυξημένη συχνότητα κρουσμάτων γαστρεντερίτιδας στην κοινότητα ιδίως τους φθινοπωρινούς και χειμερινούς μήνες (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ, 2011). Ωστόσο, προκειμένου ο αιτιολογικός παράγοντας να επιβεβαιωθεί σε μια τροφιμογενή ή υδατογενή επιδημία, απαιτείται ανεύρεση του ίδιου

παθογόνου σε κλινικά δείγματα και σε συγκεκριμένα τρόφιμα ή νερό. Οι HuNoVs δεν αναπτύσσονται εύκολα σε κυτταροκαλλιέργειες και επομένως η απομόνωσή τους με αυτή τη μέθοδο δεν μπορεί να αποτελέσει μέθοδο αναφοράς. Η εργαστηριακή διάγνωση των τροφιμογενών νοσημάτων που οφείλονται σε HuNoVs μπορεί να γίνει είτε με την ανίχνευση ιϊκού RNA με RT-PCR (real-time PCR) σε δυνητικά μολυσμένα τρόφιμα καθώς και σε δείγμα κοπράνων ή εμεσμάτων μέχρι και 5 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων (μπορεί να ανιχνευθεί έως και 2 εβδομάδες μετά την ανάρρωση) είτε ορολογικά, όπου απαιτείται τετραπλασιασμός του τίτλου των αντισωμάτων μεταξύ οξείας φάσης και φάσης ανάρρωσης (Vinjé et al., 2015). Μερικές άλλες τεχνικές ανίχνευσης των HuNoVs είναι η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA) η οποία εφαρμόζονται περιορισμένα λόγω μειωμένης ευαισθησίας σε τρόφιμα και νερό χρησιμοποιείται για την ανίχνευση HuNoVs σε δείγματα κοπράνων και αίματος και η ανάλυση αλληλουχίας βάσεων (sequencing) των στελεχών σε κλινικά και περιβαλλοντικά δείγματα (Tian et al., 2006).

1.1.10 Πρόληψη

Επιπροσθέτως, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι για να εξασφαλιστεί πλήρης ασφάλεια των τροφίμων, είναι απαραίτητο να ληφθούν περαιτέρω μέτρα. Σε αυτά, μπορεί να περιλαμβάνονται η εφαρμογή αυστηρών πρακτικών υγιεινής κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, καθώς και ο σχολαστικός καθαρισμός των επιφανειών και των σκευών. Επιπλέον, οι κατάλληλες συνθήκες χειρισμού και αποθήκευσης, συμπεριλαμβανομένης της διατήρησης κατάλληλων ελέγχων θερμοκρασίας, μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του κινδύνου μόλυνσης από HuNoV. Απαιτείται να ακολουθούνται οι κατευθυντήριες

γραμμές και οι κανονισμοί της βιομηχανίας για να διασφαλιστεί το υψηλότερο επίπεδο ασφάλειας των τροφίμων (Roy et al., 2023).

1.2 Μη θερμικές τεχνολογίες επεξεργασίας τροφίμων

Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται κυρίως ως μέθοδοι επεξεργασίας η παστερίωση και η αποστείρωση, οι οποίες στηρίζονται στη θέρμανση. Αν και αυτές οι μέθοδοι εξασφαλίζουν τη μικροβιολογική ασφάλεια των προϊόντων, μπορεί να υποβαθμίσουν σημαντικά ορισμένα θρεπτικά συστατικά και ποιοτικά-οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Για παράδειγμα, με την αύξηση της θερμοκρασίας, οι ιδιαίτερα θερμοευαίσθητες ενώσεις όπως βιταμίνες και πολυφαινόλες, καθώς και χρωστικές ουσίες και αρωματικά συστατικά εξασθενούν, υποβαθμίζοντας τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και κατά συνέπεια την ποιότητα των τροφίμων (Lima et al., 2014). Ταυτόχρονα, παρατηρείται μια ολοένα και αυξανόμενη ζήτηση από το καταναλωτικό κοινό για λιγότερη επεξεργασία στα τρόφιμα που καταναλώνουν, ώστε αυτά να είναι όσο το δυνατό περισσότερο «φυσικά». Αυτή η αυξανόμενη ζήτηση για υψηλής ποιότητας τρόφιμα έχει οδηγήσει τόσο την επιστημονική κοινότητα όσο και τη βιομηχανία τροφίμων στη μελέτη και εφαρμογή νέων μη θερμικών μεθόδων επεξεργασίας οι οποίες δεν υποβαθμίζουν τα οργανοληπτικά, ποιοτικά και διατροφικά χαρακτηριστικά των τροφίμων (Jadhav et al., 2021). Οι σημαντικότερες μη θερμικές τεχνολογίες επεξεργασίας τροφίμων είναι η HPP, τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (Pulsed Electric Fields-PEF), το ψυχρό ατμοσφαιρικό πλάσμα (CP, cold atmospheric plasma), η υπεριώδης ακτινοβολία (Ultraviolet-UV), οι υπέρηχοι (Ultrasounds-US) (Zhang et al., 2018), οι οποίες χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση των τροφίμων, την βελτίωση της ασφάλειας και την παράταση της διάρκειας ζωής χωρίς σημαντικές αλλαγές στα ποιοτικά

χαρακτηριστικά, την απώλεια θρεπτικών συστατικών ή τη χρήση συντηρητικών. Με την ανάπτυξη μεθόδων επεξεργασίας τροφίμων διασφαλίζεται τόσο η ποιότητα τους, μέσω της καταστροφής αλλοιογόνων μικροοργανισμών και της διατήρησης των θρεπτικών συστατικών όσο και η ασφάλεια, με την καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα (Lou et al., 2011). Κατά την εφαρμογή αυτών των μεθόδων, τα τρόφιμα υφίστανται επεξεργασία μικρότερης χρονικής διάρκειας σε ήπιες θερμοκρασίες, ακόμα και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Alexandre et al., 2012). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ασφαλών προϊόντων, υψηλής ποιότητας καθώς τα τρόφιμα δεν υφίστανται τις αρνητικές επιπτώσεις από την έντονη μεταβολή ή αυξημένη θερμοκρασία (Knorr et al. 2011), Επίσης έχει αποδειχτεί ότι μπορούν να ενισχύουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κάποιων τροφίμων, όπως είναι το χρώμα και η γεύση. Αν και κάθε μέθοδος επεξεργασίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί ξεχωριστά για κάθε προϊόν και αναλόγως με το στόχο της επεξεργασίας, υπάρχει μια τάση για μελέτη συνδυασμένων μεθόδων για καλύτερα αποτελέσματα ως προς την ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων (Tsevdou et al., 2022).

1.3 Επεξεργασία Υψηλής Πίεσης (High Pressure Processing, HPP)

Η επεξεργασία υψηλής πίεσης, επίσης γνωστή ως επεξεργασία υψηλής υδροστατικής πίεσης (HHP) ή επεξεργασία εξαιρετικά υψηλής πίεσης (UHP) είναι μια μη θερμική τεχνική συντήρησης τροφίμων που αδρανοποιεί παθογόνους και αλλοιογόνους μικροοργανισμούς. Όσο αφορά τις εμπορικές διεργασίες, η HPP χρησιμοποιείται για την επεξεργασία είτε υγρών είτε στερεών τροφίμων υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία και εφαρμόζεται ισοστατική πίεση, η οποία μπορεί να πάρει τιμές από 300 έως 600 MPa, για ορισμένο χρονικό διάστημα, συνήθως 1,5 έως 6 λεπτά, σε ψυχρές ή ήπιες θερμοκρασίες,

δηλαδή κάτω από 45°C. (Abera, 2019; Koutsoumanis et al., 2022). Το μεγάλο πλεονέκτημα αυτής της τεχνολογίας ψυχρής παστερίωσης είναι ότι τα τρόφιμα καθίστανται μικροβιολογικά ασφαλή, ενώ παράλληλα διατηρούν σε μεγάλο ποσοστό τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες (Patterson, 2005). Τις τελευταίες δεκαετίες, στην βιομηχανία τροφίμων έχουν γίνει πολλές δοκιμές για εφαρμογή της HPP σε φρούτα, λαχανικά, χυμούς, μαρμελάδες, σαλάτες, γαλακτοκομικά προϊόντα, κρέατα και κρεατοσκευάσματα, ψάρια, και θαλασσινά, ποτά, μαριναρισμένα προϊόντα, έτοιμα γεύματα και σάλτσες αναδεικνύοντας την ευελιξία αυτής της τεχνικής επεξεργασίας σε διαφορετικές κατηγορίες τροφίμων. Πολλές από αυτές τις εφαρμογές έχουν σημειώσει αξιοσημείωτη επιτυχία. Στα τρόφιμα που θεωρούνται ακατάλληλα για επεξεργασία με HPP περιλαμβάνονται στερεά τρόφιμα με αέρα όπως, ψωμί και διάφορα αρτοσκευάσματα, συσκευασμένα τρόφιμα σε εντελώς άκαμπτη συσκευασία π.χ. γυάλινη συσκευασία και κονσερβοποιημένα τρόφιμα και τρόφιμα με πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό όπως μπαχαρικά, ξηρά φρούτα και σκόνες (Sharma, 2011). Ωστόσο, απαιτείται ακόμη πρόσθετη έρευνα για την πλήρη υιοθέτησής της (Lou et al., 2015, Huang et al, 2020).

1.3.1 Ιστορική Αναδρομή

Η HPP εμφανίστηκε ως τεχνολογία ήδη από τα τέλη του δέκατου ένατου αιώνα, αλλά μέχρι και τη δεκαετία του 1990 δεν είχε εφαρμοστεί στη βιομηχανία τροφίμων (Balasubramaniam et al., 2016). Πιο αναλυτικά, ο Hite το 1899 μελέτησε για πρώτη φορά την εφαρμογή της ως μέσο διατήρησης του γάλακτος και αργότερα επέκτεινε τη μελέτη για τη διατήρηση των φρούτων και λαχανικών (Farkas & Hoover, 2000). Ωστόσο, λόγω του ότι δεν υπήρχε ο κατάλληλος εξοπλισμός και τα απαραίτητα υλικά συσκευασίας, η

μέθοδος της HHP δεν χρησιμοποιήθηκε στη βιομηχανία τροφίμων για σχεδόν ένα αιώνα. Τα πρώτα επεξεργασμένα τρόφιμα με HHP κυκλοφόρησαν στην ιαπωνική αγορά το 1990 από τη Meidi-ya, η οποία εμπορευόταν μία σειρά από μαρμελάδες, ζελέ και σάλτσες συσκευασμένες και επεξεργασμένες χωρίς θερμότητα (Thakur and Nelson, 1998). Έκτοτε, έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία στο εμπόριο για την επεξεργασία διαφόρων τροφίμων σε πολλές χώρες (Elamin et al., 2015).

1.3.2 Αρχές λειτουργίας και Μηχανισμοί δράσης της HHP

Η λειτουργία της HPP βασίζεται σε τρεις θεμελιώδεις φυσικές αρχές: την αρχή του Le Chatelier, την ισοστατική πίεση και την αρχή της μικροσκοπικής διάταξης. (Barba et al. 2012).

Σύμφωνα με την πρώτη αρχή, όταν μεταβάλλουμε κάποιον από τους συντελεστές σε ένα σύστημα που βρίσκεται σε ισορροπία (συγκέντρωση, πίεση, θερμοκρασία), η θέση της ισορροπίας μετατοπίζεται προς εκείνη την κατεύθυνση που τείνει να αναιρέσει τη μεταβολή που επιφέραμε. Η HPP ευνοεί τις αντιδράσεις που οδηγούν σε μείωση του όγκου (Farkas and Hoover, 2000). Δεύτερη είναι η ισοστατική αρχή, σύμφωνα με την οποία, η πίεση μεταδίδεται στιγμιαία και ομοιόμορφα προς όλες τις κατευθύνσεις τόσο στην επιφάνεια όσο και στο εσωτερικό του τροφίμου ανεξάρτητα από το μέγεθος, το σχήμα και τη γεωμετρία του προϊόντος, με αποτέλεσμα το προϊόν στο σύνολό του να διατηρεί το σχήμα του μετά την αποσυμπίεση. Κατά αυτόν τον τρόπο, επιτυγχάνεται η παστερίωση του τροφίμου καθώς η πίεση διαχέεται ισομερώς σε όλο το προϊόν με αποτέλεσμα να αδρανοποιούνται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που βρίσκονται τόσο στην επιφάνεια όσο και στο εσωτερικό του τροφίμου (Balasubramaniam et al., 2015; Lou et al., 2015). Τέλος, η αρχή της μικροσκοπικής διάταξης περιγράφει την ενίσχυση της

μοριακής διάταξης του υλικού με την αύξηση της πίεσης, σε σταθερή θερμοκρασία (Yordanov and Angelova, 2010). Λόγω όλων των παραπάνω κατέστη δυνατή η επιτυχημένη εμπορευματοποίηση της HPP ως μέθοδος επεξεργασίας των τροφίμων (Kumar et al., 2018).

Ένα τυπικό σύστημα HPP αποτελείται από έναν αεροστεγές θάλαμο, ένα υγρό μεταφοράς της πίεσης, δύο ή περισσότερες αντλίες για την παραγωγή της και τον έλεγχο της θερμοκρασίας. Ως μέσο μεταφοράς της πίεσης χρησιμοποιείται κάποιο υγρό, συνήθως νερό και ανάλογα με την εσωτερική διάμετρο του θαλάμου μπορούν να εφαρμοστούν τιμές πίεσης από 400 έως 600 MPa. Υπάρχουν τρεις κύριοι τύποι εμπορικά διαθέσιμων συστημάτων υψηλής πίεσης, τα συστήματα τύπου παρτίδας που χρησιμοποιούνται πιο συχνά, τα ημισυνεχούς και τα συνεχούς τύπου (van den Berg et al., 2001).

Κατά τη διάρκεια της HPP, πριν τοποθετηθούν τα τρόφιμα στο θάλαμο πίεσης συσκευάζονται σε αεροστεγείς, σφραγισμένους, εύκαμπους περιέκτες όπως μεμβράνες και σακούλες κενού, πλαστικά μπουκάλια. Οι συσκευασίες πρέπει να είναι εύκαμπτα δοχεία, καθώς λόγω των υψηλών πιέσεων που παράγονται μέσα στο θάλαμο μπορούν να σπάσουν. Επίσης, τα τρόφιμα μειώνονται σε όγκο υπό πίεση και επεκτείνονται σε όγκο κατά την αποσυμπίεση. Αυτή η σχολαστική διαδικασία διασφαλίζει την ακεραιότητα και την ασφάλεια του προϊόντος κατά τη διάρκεια της HPP. Μόλις το δοχείο τοποθετηθεί στον θάλαμο, οι αντλίες ξεκινούν τη ροή ενός υγρού υπό πίεση. Με την επίτευξη της επιθυμητής πίεσης, η ροή του υγρού σταματά, διατηρώντας την πίεση για σύντομο χρονικό διάστημα, συνήθως λίγα λεπτά. Στη συνέχεια, απελευθερώνεται η πίεση και το δοχείο μετακινείται έξω από το θάλαμο, επιτρέποντας την εξαγωγή μεμονωμένων συσκευασιών (Ayvaz et al., 2016, Balasubramaniam et al., 2016).

1.4 Επίδραση της HPP στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων

Γενικά, θεωρείται πως η HPP στο εύρος που εφαρμόζεται από την βιομηχανία τροφίμων, δεν αλλοιώνει την πρωτογενή δομή των τροφίμων καθώς οι ομοιοπολικοί δεσμοί δεν επηρεάζονται από την εφαρμογή της HPP. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα τρόφιμα συνήθως να υφίστανται ελάχιστες οργανοληπτικές και διατροφικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της πίεσης (Balny et al., 2002). Επομένως, η γεύση, η υφή και η εμφάνιση των τροφίμων δεν αλλοιώνονται τις περισσότερες φορές ενώ αναλλοίωτη σχεδόν παραμένει και η θρεπτική αξία τους καθώς σημαντικά συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους, όπως οι βιταμίνες διατηρούνται σχεδόν σταθερές κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Ωστόσο, η HPP επηρεάζει τους μη ομοιοπολικούς δεσμούς, όπως οι δεσμοί υδρογόνου, οι ιοντικοί δεσμοί και οι υδρόφοβοι δεσμοί, προκαλώντας αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες και τις λειτουργικές δραστηριότητες των βιομακρομορίων στα τρόφιμα (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λιπίδια). Η υψηλή πίεση μπορεί να επηρεάσει τις τριτοταγείς και τεταρτοταγείς δομές των πρωτεϊνών και να προκαλέσει μη αναστρέψιμες δομικές πρωτεϊνικές αλλαγές στα τρόφιμα, οι οποίες κατά συνέπεια οδηγούν σε μετουσίωση, ζελατινοποίηση ή συσσωμάτωση των πρωτεϊνών (Martinez-Monteagudo & Saldana, 2014). Επίσης μπορεί να προκαλέσει κρυστάλλωση των λιπιδίων και αλλαγές στις βιολογικές μεμβράνες, οδηγώντας σε αυξημένη διαπερατότητα και διαρροή κυτταρικού περιεχομένου, με τελικό αποτέλεσμα την επιταχυνόμενη οξείδωση τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια. Επιπλέον, η συμπίεση των τροφίμων κατά τη διάρκεια της HPP μπορεί να μετατοπίσει το pH ως συνάρτηση της επιβαλλόμενης πίεσης. Στο πλαίσιο αυτό, τα οργανικά οξέα, είναι πιθανό να διαχωριστούν κατά τη διάρκεια της πίεσης και το pH μπορεί να αυξηθεί προσωρινά (Rendueles et al., 2011). Τέλος η HPP προκαλεί

διόγκωση του αμύλου, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ζελατινοποίηση καθώς η υψηλή πίεση μπορεί να τροποποιήσει τα μόρια υδατανθράκων που σχηματίζονται από τη σύνδεση των αλυσίδων ζάχαρης με δεσμούς χαμηλής ενέργειας (Hygreeva & Pandey, 2016). Επομένως, η HPP επιτυγχάνει την ταυτόχρονη παστερίωση των τροφίμων και τη διατήρηση των αυθεντικών φρέσκων γεύσεων.

Παρακάτω αναφέρονται μερικά παραδείγματα, όπου μελετήθηκαν οι επιδράσεις που είχε η εφαρμογή της HPP στα ποιοτικά χαρακτηριστικά διάφορων ειδών τροφίμων.

1.4.1 Κρέας & Κρεατοσκευάσματα

Η HPP μπορεί να προκαλέσει σημαντικές αλλαγές στα χρωματικά χαρακτηριστικά του κρέατος και των προϊόντων κρέατος, ιδιαίτερα του νωπού κόκκινου κρέατος. Μετα από εφαρμογή της, έχει παρατηρηθεί ότι η επιφάνεια του κρέατος γίνεται πιο ανοιχτόχρωμη, γεγονός που αποδίδεται στις αλλοιώσεις των σαρκοπλασματικών και μυοινιδιακών πρωτεϊνών. Στη μελέτη των Argyri et al, (2019), όπου εφαρμόστηκε HPP σε φρέσκα φιλέτα κοτόπουλου, καταγράφηκε επιτυχής μείωση των αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών ενώ ταυτόχρονα παρατηρήθηκε ότι το επεξεργασμένο με HPP κρέας ήταν πιο ανοιχτόχρωμο από το μη επεξεργασμένο. Ωστόσο, όταν μαγειρεύτηκαν, και τα δύο δείγματα δεν υπήρχαν διαφορές στον χρωματισμό. Επίσης στην μελέτη των Radončić et al., (2020) το επεξεργασμένο με HPP στήθος κοτόπουλου, εμφάνισε αλλαγή χρώματος σε σύγκριση με το αρχικό. Επιπλέον, καταγράφηκε αυξημένη περιεκτικότητα σε υγρασία για τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε υψηλότερες τιμές πίεσης, ενώ η εφαρμογή χαμηλής πίεσης είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη τρυφερότητα του κρέατος και τη μείωση της σκληρότητας και της μάσησης σε σύγκριση με το μη επεξεργασμένο δείγμα. Ωστόσο, υψηλότερες πιέσεις αύξησαν την σκληρότητα, τον χρόνο μάσησης και τη δύναμη

διάτμησης σε σχέση με το δείγμα ελέγχου. Μία άλλη αλλαγή που έχει καταγραφεί είναι η μείωση της ερυθρότητας στον κιμά, η οποία οφείλεται πιθανώς στην οξείδωση της μυοσφαιρίνης ή/και στην μετατόπιση και απελευθέρωση της αίμης, με αποτέλεσμα την απώλεια του κόκκινου χρώματος (Bajonic et al., 2012, Canto et al., 2012). Στα νωπά προϊόντα κρέατος, η θεραπεία HPP είναι γνωστό ότι προάγει την οξείδωση των λιπιδίων, η οποία θεωρείται ότι προκαλείται από το σχηματισμό ελεύθερων ριζών λόγω της HPP (Bolumar et al., 2011).

Πρέπει να σημειωθεί ότι η απώλεια χρώματος του κρέατος που προκαλείται από την HPP μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς την αποδοχή του από τους καταναλωτές με αποτέλεσμα την μείωση της εμπορικής του αξίας. Φαίνεται πως η συσκευασία υπό κενό προστατεύει εν μέρει το χρώμα του κρέατος (Bajonic et al., 2012). Επίσης, η χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό στα αλίπαστα προϊόντα κρέατος μπορεί να μειώσει αυτές τις αρνητικές επιδράσεις της HPP (Ferrini et al., 2012) ενώ η χαμηλή θερμοκρασία και το υψηλό pH μπορούν να προστατεύσουν το χρώμα του κρέατος και των προϊόντων κρέατος (Bajonic et al., 2012). Τέλος, η χρήση της HPP μπορεί να συμβάλει στη μείωση του νατρίου σε επεξεργασμένα κρέατα, χωρίς να μειώνεται η ασφάλεια των προϊόντων. Έρευνες δείχνουν ότι η αντικατάσταση μέρους του NaCl με KCl σε αλλαντικά που υφίστανται HPP, μειώνει το αλάτι έως 30% χωρίς αλλοίωση της ποιότητας και της γεύσης (Tamm et al., 2016).

1.4.2 Φρούτα, Λαχανικά και Χυμοί

Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως πολυφαινόλες, φλαβονοειδή, καροτενοειδή, ανθοκυανίνες και λυκοπένιο, που αποτελούν πολύτιμα

θρεπτικά συστατικά για την υγεία του ανθρώπου. Ωστόσο, η θερμική παστερίωση μπορεί να οδηγήσει σε μείωση αυτών των συστατικών λόγω της έκθεσής τους σε υψηλές θερμοκρασίες. Αντιθέτως, η HPP έχει αποδειχθεί πως προστατεύει σε μεγάλο ποσοστό τις φυσικές και θρεπτικές ιδιότητες των προϊόντων, διατηρώντας ταυτόχρονα τη μικροβιολογική τους ασφάλεια (McInerney et al., 2007). Διάφορες έρευνες μελέτησαν τις οργανοληπτικές ιδιότητες διαφορετικών ειδών χυμών πριν και αφού εφαρμόστηκε η HPP και διαπίστωσαν ότι η συγκεκριμένη μέθοδος διατηρεί καλύτερα τα ποιοτικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά σε σύγκριση με τη θερμική επεξεργασία. Στα περισσότερα δείγματα δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στην υφή και την γεύση καθώς δεν επηρεάστηκε το ιξώδες μετά την HPP. Επίσης, τα τρόφιμα κράτησαν αναλλοίωτο το άρωμα τους καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσής τους σε ψύξη, το οποίο οφείλεται στην σταθερότητα των πτητικών ουσιών (Kebede et al., 2018; Wu et al., 2021). Επιπλέον τα προϊόντα διατήρησαν σε ένα μεγάλο βαθμό το χρώμα τους καθώς και τα αντιοξειδωτικά και βιοενεργά συστατικά τους όπως είναι το ασκορβικό οξύ, η βιταμίνη C, οι φαινόλες καθώς δεν επηρεάζει τις χημικές δομές τους και αυξάνει τη διαθεσιμότητά τους με αποτέλεσμα το τελικό προϊόν που παράγεται να είναι το πλησιέστερο στις αρχικές φρέσκες πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν (Aaby et al., 2018). Ωστόσο σε κάποιες έρευνες διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση των ανθοκυανών και της βιταμίνης C και των ολικών φαινολικών (Paciulli et al., 2016, Ali et al., 2019). Εκτός από τη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών, η HPP έχει βρεθεί ότι μειώνει τον γλυκαιμικό δείκτη (GI) ορισμένων φρούτων, συμβάλλοντας στον έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Οι Montemayor et al. (2015) μελέτησαν τις επιδράσεις της HPP σε πουρέ μάνγκο και διαπίστωσαν μείωση του GI έως και 25% σε υγιή άτομα,

γεγονός που αποδίδεται στις δομικές αλλαγές του αμύλου που οδηγούν σε πιο αργή απορρόφηση.

Συνοψίζοντας, οι παραπάνω μελέτες υποδεικνύουν ότι η HPP αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο επεξεργασίας χυμών φρούτων καθώς εκτός από τη αποτελεσματική μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών, συμβάλλει στη διατήρηση των θρεπτικών και λειτουργικών συστατικών, ενώ παράλληλα ενισχύει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων. Γεγονός που την καθιστά μια κατάλληλη τεχνολογία για την παστερίωση αυτών ευαίσθητων στη θερμότητα τροφίμων (Zou et al., 2016; Yildiz et al., 2021; Wu et al. 2021; Dhenge et al., 2022).

1.4.3 Οστρακοειδή

Για παράδειγμα στην έρευνα των Tong et al, (2023) μετρήθηκε το pH, ως δείκτης της φρεσκάδας των στρειδιών πριν και μετά την επεξεργασία με HPP και παρατηρήθηκε ότι με την αύξηση της πίεσης αύξησε του, με αποτέλεσμα να διατηρηθεί η αρχική ποιότητα. Συγκεκριμένα, στα στρείδια που υπέστησαν επεξεργασία με HHP (500 MPa), παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της σκληρότητας, της ελαστικότητας και της ευκολίας στη μάσηση σε σύγκριση με τα φρέσκα. Όσον αφορά τη σκληρότητα, τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στα 300 και 400 MPa ήταν παρόμοια, και αντίστοιχα όσον αφορά την ελαστικότητα, τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στα 400 και 500 MPa ήταν αρκετά παρεμφερή. Κατά την οπτική παρατήρηση διαπιστώθηκε ότι τα στρείδια που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με HHP ήταν ελαφρώς πιο ογκώδη και γεμάτα, ενώ η οπτική τους αίσθηση ήταν καλύτερη σε σύγκριση με τα ανεπεξέργαστα και αυτά που υποβλήθηκαν σε θερμική επεξεργασία. Επίσης, ήταν πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Επίσης, σε αυτή τη μελέτη συγκρίθηκε η επίδραση της

θερμικής επεξεργασίας, και της HPP στη μαλονδιαλδεΐδη (malondialdehyde -MDA). Το MDA είναι ένα μέτρο που δείχνει την οξείδωση των λιπιδίων και χρησιμοποιείται για την εκτίμηση των οξειδωτικών βλαβών στα λιπίδια των κυττάρων. Συγκεκριμένα στα τρόφιμα αυξημένη MDA υποδηλώνει αλλοίωση της ποιότητας (Gawel et al., 2004). Τα αποτελέσματα της έρευνας των Tong et al., (2023) έδειξαν ότι και στις δύο περιπτώσεις παρατηρήθηκε αύξηση της MDA. Ωστόσο, ο παρατεταμένος χρόνος θέρμανσης (100°C, > 6 λεπτά) οδήγησε σε αρκετά μεγαλύτερη αύξηση σε σύγκριση με την πίεση (500 MPa). Τέλος, παρατηρήθηκε ότι όσα στρείδια υποβλήθηκαν σε πίεση 200 και 300 MPa για 5 λεπτά είχαν πλησιέστερη γεύση σε εκείνη των φρέσκων στρειδιών και αυτά που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στα 400 και 500 MPa για 5 λεπτά είχαν αρκετά παρόμοια. Αντίστοιχα, στην έρευνα των Ye et al., (2015) διαπιστώθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα πίεσης στα 450 και 500 MPa στους 0°C δεν επηρέασαν σημαντικά τις αισθητηριακές ιδιότητες των στρειδιών σε σύγκριση με τα 300 MPa.

Τα οστρακοειδή συνιστούν έναν από τους κύριους παράγοντες που οδήγησαν στην διερεύνηση της ένταξης της HPP στη βιομηχανία τροφίμων λόγω της υψηλής ζήτησης για φρέσκα, έτοιμα προς κατανάλωση θαλασσινά προϊόντα, τα οποία είναι ασφαλή αλλά ταυτόχρονα διατηρούν την γεύση, το χρώμα, την υφή, και την μυρωδιά τους.

Στις περισσότερες έρευνες, οι περισσότερες από τις οργανοληπτικές παραμέτρους (χρώμα, οσμή, γεύση, εμφάνιση, φρεσκάδα) δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την επεξεργασία με HPP, διατηρώντας τη φυσική τους όψη (Murchie et al., 2005, Cruz-Romero et al., 2007). Ωστόσο, σε πολύ υψηλές πιέσεις, μπορεί να παρατηρηθούν κάποιες αλλαγές στο χρώμα και την υφή τους (αύξηση σκληρότητα). Επίσης, η μεγάλη αύξηση της πίεσης μπορεί να προκαλέσει σημαντική μείωση του οργανοληπτικού χρώματος του τροφίμου (Ye et al., 2014, Jeon et al. 2024), η οποία μπορεί να αποφευχθεί σε μεγάλο

βαθμό όταν η επεξεργασία γίνεται σε θερμοκρασία ψύξης (Mootian et al., 2013). Επίσης, η HPP συμβάλει στη διατήρηση της φρέσκιας μυρωδιάς και αλμυρής γεύσης των στρειδιών, καθιστώντας τα πιο ελκυστικά σε σύγκριση με άλλες μεθόδους συντήρησης και φαίνεται ότι τα στρείδια γίνονται πιο χυμώδη μετά από την εφαρμογή της HPP (Cruz-Romero et al., 2007). Ακόμη, έχει βρεθεί ότι μειώνει την πρωτεολυτική δραστηριότητα και τον σχηματισμό της ισταμίνης (Nagarajarao, 2016).

Συνολικά, η HPP μειώνει την ανάπτυξη μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις, επιμηκύνοντας τη διάρκεια ζωής των προϊόντων, ενώ παράλληλα διατηρεί τις οργανοληπτικές και λειτουργικές τους ιδιότητες. Ως εκ τούτου, θεωρείται μια πιθανή και πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση στην τεχνολογία διατήρησης των θαλασσινών (Ye et al., 2014).

1.4.4 Γαλακτοκομικά

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα περιέχουν διάφορους τύπους ανοσοσφαιρινών που είναι ευεργετικές για την ανθρώπινη υγεία, όπως οι ανοσοσφαιρίνες Α (IgA), που υπάρχουν στο πρωτόγαλα και το αγελαδινό γάλα. Οι IgA έχουν αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές και ανοσορυθμιστικές ιδιότητες και παίζουν σημαντικό ρόλο στη προστασία του γαστρεντερικού συστήματος και στη βελτίωση της εντερικής μικροχλωρίδας. Για αυτό, θεωρούνται εξαιρετικά πολύτιμες πρωτεΐνες στη βιομηχανία τροφίμων.

Ως τώρα, για την επεξεργασία των διάφορων γαλακτοκομικών προϊόντων χρησιμοποιείται κυρίως η παστερίωση μικρής διάρκειας υψηλής θερμοκρασίας (High-Temperature Short-Time, HTST) με σκοπό την παράταση της διάρκειας ζωής αυτών των προϊόντων και την αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών. Ωστόσο, οι

ανθρώπινες και ζωικές ανοσοσφαιρίνες εμφανίζουν χαμηλή θερμική σταθερότητα, με αποτέλεσμα να παρατηρείται μετουσίωση μετά τη διαδικασία της παστερίωσης. Η HPP είναι μια τεχνολογία μη θερμικής επεξεργασίας που μπορεί να διατηρήσει σε ικανοποιητικό βαθμό τα επίπεδα λακτοφερρίνης και IgA σε γάλα και φαίνεται πως αυξάνει επίσης τη διαλυτότητα, την αφριστικότητα και τη γαλακτωματοποίηση των ανοσοσφαιρινών (Sousa et al., 2014, Stratakos et al., 2019).

1.5 Ισχύουσα Νομοθεσία

Σε πολλές χώρες παγκοσμίως έχουν θεσπιστεί κανονισμοί σχετικά με τα κριτήρια ασφάλειας και τις απαιτήσεις επισήμανσης των τροφίμων που υφίστανται επεξεργασία με HPP, οι οποίοι διασφαλίζουν ότι αυτά τα προϊόντα πληρούν τα πρότυπα ασφάλειας των τροφίμων, παρέχοντας διαφάνεια στους καταναλωτές (Koutchma, 2014).

Όσο αφορά τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, τα συγκεκριμένα προϊόντα θα πρέπει να φέρουν κατάλληλη σήμανση και να συμμορφώνονται σύμφωνα με τις απαιτήσεις των κανονισμών (ΕΚ) αριθ. 2017/2470 και (ΕΥ) 2015/2283. Συγκεκριμένα ο Κανονισμός (ΕΕ) 2017/2470 θεσπίζει έναν ενιαίο κατάλογο νέων τροφίμων, που είναι εγκεκριμένα προς πώληση στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στηρίζεται στον Κανονισμό (ΕΕ) 2015/2283, ο οποίος καθορίζει ποια είναι τα νέα τρόφιμα και περιγράφει αναλυτικά τους όρους υπό τους οποίους μπορούν να διατεθούν στην αγορά της ΕΕ, διασφαλίζοντας ότι είναι ασφαλή για κατανάλωση, με κατάλληλη σήμανση. Επομένως εάν το HPP δεν αλλοιώνει σημαντικά τα χαρακτηριστικά ενός τρόφιμου, η επισήμανση ως "επεξεργασμένο με HPP" δεν είναι γενικά υποχρεωτική αλλά εάν αλλάζει σημαντικά τη σύνθεση, τη θρεπτική αξία ή τις αισθητηριακές ιδιότητες, τότε αυτό ταξινομείται ως νέο τρόφιμο, για το οποίο απαιτείται άδεια σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΕ) 2015/2283.

Στις ΗΠΑ, η επεξεργασία υψηλής πίεσης HPP έχει εγκριθεί τόσο από το Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA) όσο και από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ως ασφαλής και αποτελεσματική μέθοδος για την συντήρηση τροφίμων. Σύμφωνα με το USDA επιτρέπεται η χρήση HPP σε προϊόντα κρέατος, πουλερικών και αυγών, υπό την προϋπόθεση ότι ακολουθούνται αυστηρά οι οδηγίες Ανάλυσης Κινδύνου και Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου (HACCP- Hazard Analysis and Critical Control Points) ώστε να διασφαλιστεί ότι τα τροφιμογενή παθογόνα όπως η *Listeria monocytogenes*, η *Salmonella enteritica* και η *E. coli* αδρανοποιούνται αποτελεσματικά. Από την άλλη ο FDA αναγνωρίζει την HPP ως μια μορφή παστερίωσης που χρησιμοποιείται συνήθως για ποτά, γαλακτοκομικά, φρούτα, λαχανικά και θαλασσινά (Daryaei et al., 2016).

1.6 Αδρανοποίηση των ιών στα τρόφιμα με την επεξεργασία της HPP

Ένας ιός αποτελείται από το γονιδίωμα, το οποίο μπορεί να είναι είτε DNA είτε RNA και ένα καψίδιο πρωτεΐνης που περιβάλλει το γονιδίωμα. Η γενετική σύνθεση του ιού και συγκεκριμένα οι διαφορές στη σταθερότητα του RNA και του DNA μπορεί να επηρεάσουν την ευαισθησία του στην επίδραση της πίεσης. Επιπλέον ορισμένοι ιοί περιέχουν ένα λιπιδικό περίβλημα που περιβάλλει το καψίδιο πρωτεΐνης. Έτσι, οι δυναμικοί μηχανισμοί αδρανοποίησης του ιού μπορεί να περιλαμβάνουν βλάβη στο ιικό γενετικό υλικό, διαταραχή της δομής και των λειτουργιών των ιικών πρωτεϊνικών στρωμάτων και διαταραχή του ιικού περιβλήματος (Buckow et al., 2008, Lou et al. 2011).

Η HPP δεν επηρεάζει άμεσα το ιικό γονιδίωμα. Ο μηχανισμός δράσης της βασίζεται κυρίως στη διαταραχή του ιικού καψιδίου και στην απώλεια της ικανότητας σύνδεσης του ιού με τον κυτταρικό υποδοχέα. Αυτό συνάδει με το γεγονός ότι η HPP δεν διασπά

τους ομοιοπολικούς δεσμούς στο επίπεδο που εφαρμόζεται για την επεξεργασία των τροφίμων αλλά προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών (Tang et al., 2010, Lou et al., 2011). Συγκεκριμένα, η καταστροφή του ιικού καψιδίου έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη διαπερατότητα και διαρροή ενδοκυτταρικών συστατικών και κατ' επέκταση την έκθεση του ιικού γενετικού υλικού και τελικά την αποικοδόμηση του ιού. Έτσι εμποδίζεται η προσκόλληση και η διείσδυσή των ιών στα κύτταρα ξενιστές (Buckow et al., 2008, Roos 2020, Govaris & Pexara, 2021, Gyawali et al., 2019). Φαίνεται πως οι ιοί χωρίς περίβλημα όπως είναι οι HuNoVs, ο ιός της ηπατίτιδας Α (HAV) και οι εντερικοί αδενοϊοί, τείνουν να είναι πιο ανθεκτικοί στη HPP σε σύγκριση με τους ιούς με περίβλημα. Οι ιοί χωρίς περίβλημα έχουν ένα πιο σταθερό πρωτεϊνικό καψίδιο που τους βοηθά να αντέχουν στην υψηλή πίεση. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω πειραματικές έρευνες για τον ακριβή προσδιορισμό του τρόπου δράσης της HPP στην αδρανοποίηση των ιών (Baert et al., 2009, Lou et al., 2011).

1.7 Μεθοδολογία ερευνών που μελετούν την αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP

Για την ανίχνευση των HuNoVs στα τρόφιμα και το νερό, έχουν αναπτυχθεί και εφαρμοστεί διάφορες μέθοδοι εκχύλισης του ιικού RNA, συμπύκνωσης και ανίχνευσης. Η διαδικασία εκχύλισης και συγκέντρωσης που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε έρευνα διαφέρει ανάλογα με τα συστατικά του τροφίμου. Μία μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνά τα τελευταία χρόνια για την ανίχνευση των HuNoV GI και GII σε τρόφιμα όπως τα μαλακά φρούτα, τα φυλλώδη λαχανικά, το εμφιαλωμένο νερό και τα δίθυρα μαλακία είναι η ISO 15216-2:2019, η οποία περιλαμβάνει την έκλυση των ιών από τα τρόφιμα χρησιμοποιώντας ένα ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης, έπειτα γίνεται ανάδευση και τελικά

κατακερματισμός και η συγκέντρωση των ιικών σωματιδίων γίνεται με καθίζηση χρησιμοποιώντας πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) (ISO, 2019). Στα δίθυρα μαλάκια, οι ιοί συνήθως ανακτώνται μετά από ομογενοποίηση αδένων πέψης και επεξεργασία με πρωτεΐνάση K (Comelli et al., 2008; Gyawali et al., 2019; Chandran and Gibson, 2024). Η πλειοψηφία των μελετών που διερευνήσαν την επίδραση της HPP σε μικροοργανισμούς στα τρόφιμα έγιναν πάνω σε βακτήρια και λιγότερο σε ιούς (Kingsley et al., 2002). Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια όλο και αυξάνονται οι μελέτες σχετικά με την επίδραση της HPP στους τροφιμογενείς ιούς.

Μεταξύ των μελετών που διερευνήσαν την επίδραση της HPP στους HuNoVs υπάρχουν κοινά στοιχεία ως προς μεθοδολογία που επιλέχθηκε για τον έλεγχο της αδρανοποίησης των ιών. Οι περισσότερες προκειμένου να βγάλουν κάποια συμπεράσματα σχετικά με την ευαισθησία των HuNoVs χρησιμοποίησαν μοριακές μεθόδους ή καλλιεργήσιμα ιικά υποκατάστατα (surrogates).

Οι ιοί που χρησιμοποιούνται συνήθως ως surrogate σε αυτές τις έρευνες είναι ο νοροϊός ποντικού Murine Norovirus - MNV), ο ιός Tulane (TV) και ο καλκοϊός αιλουροειδών (FCV) (Kingsley et al., 2007, Lou et al., 2011, Li et al., 2013, Jones et al., 2014, Huang et al., 2016, DiCaprio et al., 2019). Τα surrogates εξυπηρετούν στην πειραματική προσομοίωση της αδρανοποίησης των HuNoVs καθώς δεν μπορούν να καλλιεργηθούν εύκολα σε κυτταροκαλλιέργειες και δεν υπάρχουν ζωικά μοντέλα που να αναπαράγουν αξιόπιστα τη μόλυνση στους ανθρώπους, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη μελέτη της επιβίωσης και της αδρανοποίησής τους στα τρόφιμα. Για αυτόν τον λόγο, χρησιμοποιούνται ιοί -surrogates, οι οποίοι έχουν παρόμοια χαρακτηριστικά με τους HuNoVs αλλά μπορούν να καλλιεργηθούν στο εργαστήριο. και παρέχουν αξιόπιστα δεδομένα που μπορούν να συγκριθούν με πραγματικές συνθήκες μόλυνσης. Ο MNV-1

ανήκει στην ίδια οικογένεια με τους HuNoVs (Caliciviridae) και έχει παρόμοια δομή, καθιστώντας τον έναν από τους πιο αξιόπιστους αντικαταστάτες. Ενδεικτικά κάποιες μελέτες που χρησιμοποίησαν MNV-1 ως surrogate είναι των Kingsley et al., (2007) που εξέτασε την αδρανοποίηση του μέσω HPP στα στρείδια και των Falco et al., (2023), οι οποίοι μελέτησαν την αδρανοποίηση του MNV-1 σε χυμούς και εκχύλισμα πράσινου τσαγιού (green tea extract- GTE). Ο TV είναι ένας RNA ιός που ανήκει στην οικογένεια *Picornaviridae*. Προτείνεται ως surrogate για τους HuNoVs λόγω της δομής του καψιδίου, που είναι ανθεκτικό σε επεξεργασίες όπως η HPP και χρησιμοποιείται ευρέως ως surrogates για HuNoVs. Διάφορες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει τον TV, όπως για παράδειγμα οι DiCaprio et al., (2019), που εξέτασαν την αδρανοποίηση του μέσω HPP σε πουρέ φράουλας. Αν και τα υποκατάστατα προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως η δυνατότητα καλλιέργειας σε κυτταροκαλλιέργειες και η χρησιμότητά τους σε μελέτες αδρανοποίησης, παρουσιάζουν ορισμένα σημαντικά μειονεκτήματα που περιορίζουν την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων, όπως ότι διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο γονιδιώματος και πρωτεϊνικής δομής από τους HuNoVs. Αυτό επηρεάζει τη συμπεριφορά τους έναντι εξωτερικών παραγόντων όπως η θερμοκρασία, η πίεση, το pH, οδηγώντας σε διαφορετική ανθεκτικότητα και ευαισθησία. Επομένως, τα surrogates παρέχουν μεροληπτικά δεδομένα και εξακολουθούν να αντιπροσωπεύουν μια έμμεση εκτίμηση για το πραγματικό παθογόνο του ανθρώπινου ιού. (Cannon et al., 2006; Richards GP., 2012; Ye et al. 2014).

Σχεδόν σε όλες τις έρευνες, για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των HuNoVs στα τρόφιμα χρησιμοποιήθηκε η αντίστροφη μεταγραφάση (RT)-qPCR, μια μοριακή τεχνική ανίχνευσης RNA ιών (Leon et al., 2011; Ye et al., 2014; Ye et al., 2015; Huang et al., 2016; Lou et al., 2016; Sido, 2017). Οι μοριακές μέθοδοι όπως η (RT)-qPCR αποτελούν

μέθοδοι αναφοράς για την ανίχνευση των HuNoVs στα τρόφιμα καθώς είναι γρήγορες, ευαίσθητες και ανιχνεύουν εξαιρετικά μικρές ποσότητες ιικού RNA στα τρόφιμα, το νερό και το περιβάλλον. Ωστόσο, ένας σημαντικός περιορισμός των μοριακών μεθόδων που βασίζονται σε νουκλεϊκά οξέα είναι ότι δεν μπορούν να διακρίνουν μεταξύ RNA από μολυσματικά και μη μολυσματικά ιικά σωματίδια, γεγονός που περιορίζει σημαντικά την ολοκληρωμένη αξιολόγηση του κινδύνου. Αυτό αποτελεί εμπόδιο στην ακριβή αξιολόγηση της αδρανοποίησης των HuNoVs μέσω τεχνολογιών όπως η HPP, καθώς η HPP δεν επηρεάζει τους ομοιοπολικούς δεσμούς του RNA και επομένως δεν προκαλεί αποικοδόμηση του ιικού γονιδιώματος. (Li et al., 2013; Wales et al., 2024; Pandiscia et al., 2024).

Στο σημείο αυτό, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τροφιμογενής λοίμωξη από HuNoVs μπορεί να προκληθεί μόνο από μολυσματικά μόρια. Επομένως, για την αξιολόγηση του κινδύνου των τροφιμογενών εστιών είναι ζωτικής σημασίας η αξιόπιστη και ακριβής ανίχνευση του μολυσματικού ιού στα τρόφιμα (Eshaghi et al., 2021). Εναλλακτικά, έχουν αναφερθεί προσεγγίσεις που βασίζονται στην αξιολόγηση της ακεραιότητας του ιικού καψιδίου σε συνδυασμό με την RT-qPCR (Dancho et al., 2012; Li et al., 2013; Tong et al., 2023; Wales et al., 2024).

Μία από αυτές είναι το Porcine Gastric Mucin Binding Assay, ένα εργαστηριακό τεστ που χρησιμοποιεί μαγνητικά σφαιρίδια συζευγμένα με γαστρική βλέννα χοίρου (Porcine Gastric Mucin- PGM-MB) και εφαρμόστηκε στις μελέτες των Li et al., 2013; Ye et al., 2015; Huang et al., 2016; Lou et al., 2016; Sido et al., 2017; DiCaprio et al., 2019. Η γαστρική βλέννα ουσιαστικά μιμείται την δράση των HBGAs που υπάρχουν φυσιολογικά στο έντερο των ανθρώπων, επιτρέποντας τη διαφοροποίηση μεταξύ ακέραιων και κατεστραμμένων ιικών σωματιδίων καθώς μόνο τα ακεραία (δυννητικά μολυσματικά)

σωματίδια είναι ικανά να προσδεθούν σε αυτή μετά από HPP. Ως εκ τούτου, ο συνδυασμός RT-qPCR και PGM-MB αποτελεί ένα αξιόπιστο εργαλείο για την αξιολόγηση της μολυσματικότητας των HuNoVs μετά από την εφαρμογή της HPP (Ye et al., 2014, Leon et al., 2011, Richards GP., 2012).

Άλλες μελέτες όπως οι Pandiscia et al., 2024 και οι Wales et al., 2024 αξιολόγησαν την μολυσματικότητα του Norovirus μετά από HHP σε κυτταροκαλλιέργειες ανθρώπινων εντεροειδών (Human Intestinal Enteroids, HIE). Τα HIEs είναι τρισδιάστατες (3D) κυτταροκαλλιέργειες που προέρχονται από βιοψίες βλαστοκυττάρων του ανθρώπινου εντέρου και μιμούνται την πολυπλοκότητα, την κυτταρική ποικιλομορφία και τη φυσιολογία του εντερικού επιθηλίου. Αυτό το νέο σύστημα κυτταροκαλλιέργειας επιτρέπει την καλλιέργεια του HuNoVs (Costantini et al., 2018, Wales et al., 2024, Pandiscia et al., 2024). Ωστόσο εμφανίζει κάποιους περιορισμούς όπως ότι δεν υποστηρίζει την καλλιέργεια όλων των στελεχών HuNoVs και απαιτεί υψηλές συγκεντρώσεις του ιού (Chandran & Gibson, 2024).

Μία άλλη μέθοδος είναι η viability RT-qPCR που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ακεραιότητας του ιικού καψιδίου των HuNoVs (Leifels et al., 2020, Wales et al., 2024) με παράλληλη ανίχνευση γονιδιωματικού RNA (Wilkinson et al. 2001, Kingsley et al. 2007, Parshionikar et al., 2010, Huang et al. 2016, Sido et al. 2017, DiCaprio et al. 2019, Roy et al., 2023, Jeon et al., 2024, Rachmadi et al., 2024)

Στην τεχνική αυτή γίνεται προεπεξεργασία του δείγματος με έναν δείκτη βιωσιμότητας που λειτουργεί ως βαφή, όπως το μονοαζίδιο του προπιδίου (Propidium Monoazide - PMA) ή το Propidium Monoazide (PMAxx) (Rachmadi et al., 2024) ή το χλωριούχο λευκόχρυσο (IV) ή το Ethidium Monoazide (EMA) και στη συνέχεια, το ιικό RNA ποσοτικοποιείται χρησιμοποιώντας RT-qPCR. Οι δείκτες βιωσιμότητας δεσμεύονται

ειδικά σε ελεύθερο και προσβάσιμο RNA. Επομένως εισέρχονται μόνο στα ιικά σωματίδια, των οποίων το καψίδιο είναι κατεστραμμένο και εμποδίζουν τελικά την ανίχνευση του RNA των κατεστραμμένων (μη μολυσματικών) ιών από την RT-qPCR (Leifels et al., 2020). Επιπλέον, οι Jeon et al., (2024) εφάρμοσαν PMA και Sarkosyl (Sodium Lauroyl Sarcosinate), ένα ιονικό απορρυπαντικό που αποσταθεροποιεί τα κατεστραμμένα ιικά καψίδια, επιτρέποντας στο PMA να εισέλθει αποτελεσματικότερα για την ανίχνευση της ενεργού (μολυσματικής) μορφής του ιού.

Στις έρευνες των Imamura et al., (2018) και Lou et al., (2015), εφαρμόστηκε η μέθοδος Next-Generation Sequencing (NGS), μια προηγμένη τεχνολογία αλληλούχησης DNA/RNA, που επιτρέπει τη γρήγορη και ακριβή ανάλυση του γονιδιώματος των οργανισμών, όπως στη συγκεκριμένη περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της αλληλουχίας των HuNoVs μετά από επεξεργασία με HPP. Αυτή η τεχνική επιτρέπει τη μελέτη της ποικιλομορφίας και της εξέλιξης ενός ιού (Bartsch et al., 2018).

Οι περισσότερες μελέτες για την διερεύνησή της επίδραση της HPP στους HuNoVs επιλέξαν κυρίως φρούτα και θαλασσινά. Επίσης σε κάποιες χρησιμοποιήθηκαν εργαστηριακά υγρά υποστρώματα (PBS, MEM, H₂O). Πιο αναλυτικά, τα φρούτα και λαχανικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν φράουλες (ολόκληρες, κομμένες) (Huang et al., 2016), μύρτιλλα (ολόκληρα, πολτοποιημένα, υγρά, ξηρά), σμέουρα (ολόκληρα, πολτοποιημένα) (Huang et al., 2016), μούρα (Huang et al., 2016), πράσινο κρεμμύδι Sido et al. (2017) και μαρούλι. Άλλες έρευνες χρησιμοποίησαν οστρακοειδή όπως στρείδια (*Crassostrea gigas*, *C. virginica*) (Leon et al., 2011; Li et al., 2013; Ye et al., 2015; Imamura et al. 2017; Imamura et al. 2018; Rachmadi et al., 2024; Ye et al., 2014), αχιβάδες (*Mercenaria mercenaria*) (Ye et al., 2014), κορεάτικα ζυμωμένα οστρακοειδή Jeotgal (αλατισμένο ζυμωμένο τρόφιμο που παρασκευάζεται από διάφορα είδη

θαλασσινών όπως γαρίδες, στρείδια, οστρακοειδή, αυγά και εντόσθια ψαριών και καταναλώνεται στην Κορέα και σε ορισμένες ασιατικές χώρες) (Jeon et al., 2024) και ωμά καβούρια (Roy et al., 2023). Επίσης χρησιμοποιήθηκαν επεξεργασμένα προϊόντα όπως σάλτσα Sido et al. (2017) και πουρές φράουλας (DiCaprio, 2019; Pandiscia et al., 2024; Wales et al., 2024). Αρκετές έρευνες εκτός από τρόφιμα, μελέτησαν την αδρανοποίηση των ιών παράλληλα και σε εργαστηριακά υποστρώματα όπως είναι ο φυσιολογικός ορός με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων (Phosphate Buffered Saline – PBS) (Lou et al., 2016; Sido et al., 2017; DiCaprio, 2019; Wales et al., 2024), MEM (Minimum Essential Medium) αλλά και σε αποσταγμένο νερό (H₂O) (Lou et al., 2016).

Οι ιοί που μελετήθηκαν ήταν οι γονότυποι HuNoV GI και HuNoV GII και συγκεκριμένα τα στελέχη HuNoV GI.1, HuNoV GI.3 [P13], HuNoV GI.3, HuNoV GII.4, HuNoV GII.1-509, HuNoV GII.4 Sydney [P16], HuNoV GII.4-5M, HuNoV GII.4-765, HuNoV GII.6-490, HuNoV GII.7, HuNoV GII.17. Οι περισσότερες μελέτες επικεντρώθηκαν στους GII.4 και GI.1, που είναι οι πιο συχνοί σε τροφιμογενείς επιδημίες.

Τέλος, σχεδόν όλες οι μελέτες διεξήγαγαν την έρευνα τους πάνω σε εργαστηριακά πειράματα εκτός από τους Leon et al., (2011), οι οποίοι ήταν οι μόνοι που διεξήγαγαν τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή σε ανθρώπους που κατανάλωσαν μολυσμένα με HuNoVs στρείδια αφού είχαν επεξεργαστεί πρώτα με HHP.

1.8 Σκοπός

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί μία ενδεδειγμένη ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας που αφορά την επίδραση της HPP στην αδρανοποίηση διαφόρων στελεχών HuNoVs σε ποικίλα τρόφιμα και εργαστηριακά μέσα. Συγκεκριμένα, σκοπός

της εργασίας είναι να συγκεντρωθούν αρκετά δεδομένα για τη μελέτη της επίδρασης των παραμέτρων επεξεργασίας της HPP (πίεση, θερμοκρασία, χρόνο επεξεργασίας) καθώς και το ρόλο που διαδραματίζουν το εκάστοτε στελέχους και η σύσταση του τροφίμου στην αδρανοποίηση των HuNoVs στα τρόφιμα ώστε να εξαχθεί όσο το δυνατόν γίνεται, ένα συνολικό και εμπειριστατωμένο συμπέρασμα.

2. ΥΛΙΚΑ- ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Στρατηγική Αναζήτησης

Η αναζήτηση πραγματοποιήθηκε μέσω των ηλεκτρονικών βάσεων δεδομένων ακαδημαϊκών ερευνών PubMed, Scopus, Researchgate και Google Scholar. Ως κριτήρια για την αναζήτηση τέθηκαν οι εξής συνδυασμοί λέξεων:

- Human Norovirus AND High-pressure processing

Για την επιλογή των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στη δεδομένη βιβλιογραφική ανασκόπηση έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), οι οποίες αποτελούν μία λίστα 27 συστάσεων, με στόχο τη συγγραφή συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων με ορθό τρόπο (Moher et al. 2009). Χρησιμοποιείται κυρίως σε επιστημονικές έρευνες για τη διασφάλιση διαφάνειας και της πληρότητας στη συλλογή, επιλογή και ανάλυση των δεδομένων.

2.2 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση της γλώσσας προγραμματισμού Python (έκδοση 3.11) και αξιοποίηση των βιβλιοθηκών: pandas για διαχείριση και καθαρισμό των δεδομένων, numpy για αριθμητικές πράξεις και matplotlib για τη δημιουργία γραφημάτων.

2.3 Ερευνητικό Ερώτημα

Για την διατύπωση του ερευνητικού ερωτήματος που δύναται να απαντηθεί, κατά την ολοκλήρωση αυτής της συστηματικής ανασκόπησης, χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο της

PICO, με τελικούς στόχους: α) τον προσδιορισμό των κατάλληλων λέξεων κλειδιών, β) τη σωστά δομημένη στρατηγική αναζήτησης και γ) τον εντοπισμό ελλειπόν στοιχείων σε επίπεδο πρωτογενούς έρευνας για το συγκεκριμένο θέμα.

Επομένως, με βάση το ακρωνύμιο PICO:

P: Participants/ Patients/ Population/ Problem - Συμμετέχοντες/ Ασθενείς/

Πληθυσμός/ Πρόβλημα: Ανθρώπινος Νοροϊός (HuNoV)

I: Interventions - Παρεμβάσεις: Επεξεργασία υψηλής πίεσης (High-pressure processing, HPP)

C: CoMParators – Συγκρίσεις: Θερμικές Επεξεργασίες

O: Outcome – Έκβαση: Αδρανοποίηση του Ανθρώπινου Νοροϊού (Human Norovirus, HuNoV) στα τρόφιμα

Τα ερευνητικά ερωτήματα που τέθηκαν ήταν τα εξής:

1. Υπάρχει διαφορά ως προς την ευαισθησία των διαφορετικών στελεχών HuNoV στην δράση της HPP;
2. Επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της HPP οι παράγοντες επεξεργασίας;
 - 2.1. Η πίεση
 - 2.2. Ο χρόνος επεξεργασίας
 - 2.3. Η θερμοκρασία
3. Η σύσταση του τροφίμου παίζει ρόλο στην αποτελεσματικότητα της HPP;
 - 3.1. Ενεργότητα νερού (a_w)
 - 3.2. Περιεκτικότητα σε Χλωριούχο Νάτριο (NaCl)
 - 3.3. Τιμή pH

2.4 Κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού ερευνών

Τα κριτήρια επιλογής για την εισαγωγή των μελετών στην παρούσα συστηματική ανασκόπηση ήταν τα εξής:

1. Οι μελέτες να είναι ερευνητικές εργασίες πλήρους κειμένου,
2. Να είναι δημοσιευμένες είτε στην ελληνική είτε στην αγγλική γλώσσα.

Ενώ συστηματικές ανασκοπήσεις, ανασκοπήσεις, μετα-αναλύσεις και γενικά οποιαδήποτε κλινική δοκιμή δεν ήταν ολοκληρωμένη ή δεν υπήρχε πρόσβαση στα αποτελέσματά, αποκλείστηκαν. Δηλαδή άρθρα που δεν μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για εξαγωγή δεδομένων και δευτερογενείς μελέτες.

Επίσης, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι σε αυτή τη βιβλιογραφική ανασκόπηση συμπεριλήφθηκαν και εξετάστηκαν μελέτες που διερεύνησαν αποκλειστικά και μόνο την αδρανοποίηση στελεχών HuNoVs από την HPP ενώ έρευνες που χρησιμοποίησαν surrogates αποκλείστηκαν.

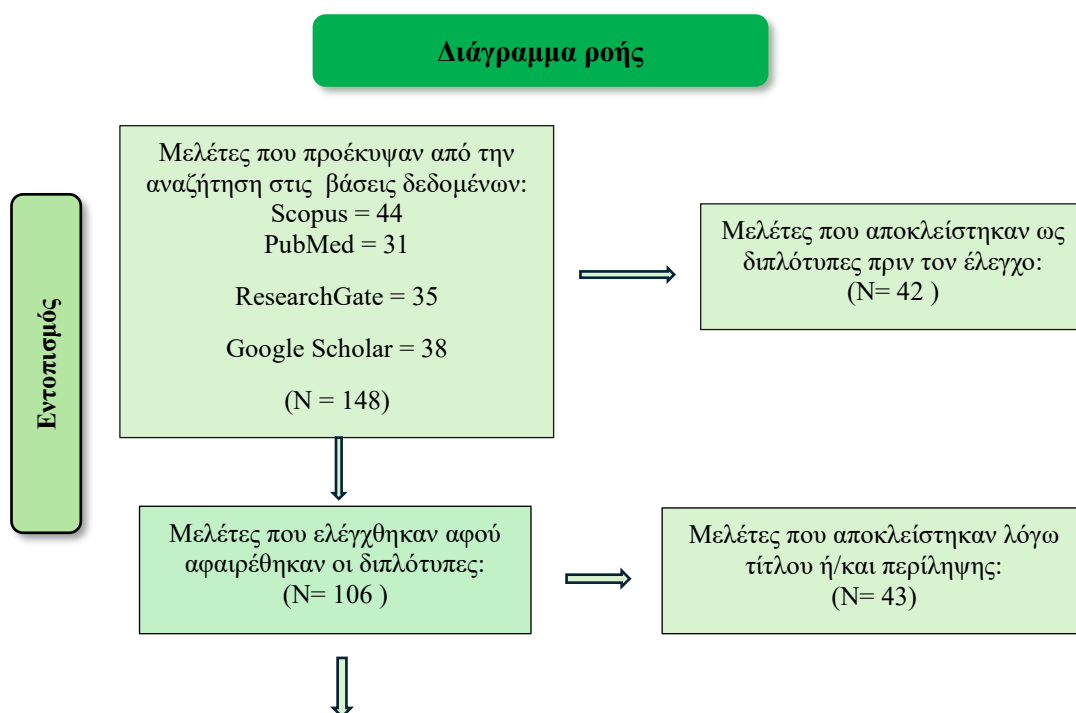
2.5 Αποτελέσματα ανασκόπησης της βιβλιογραφίας

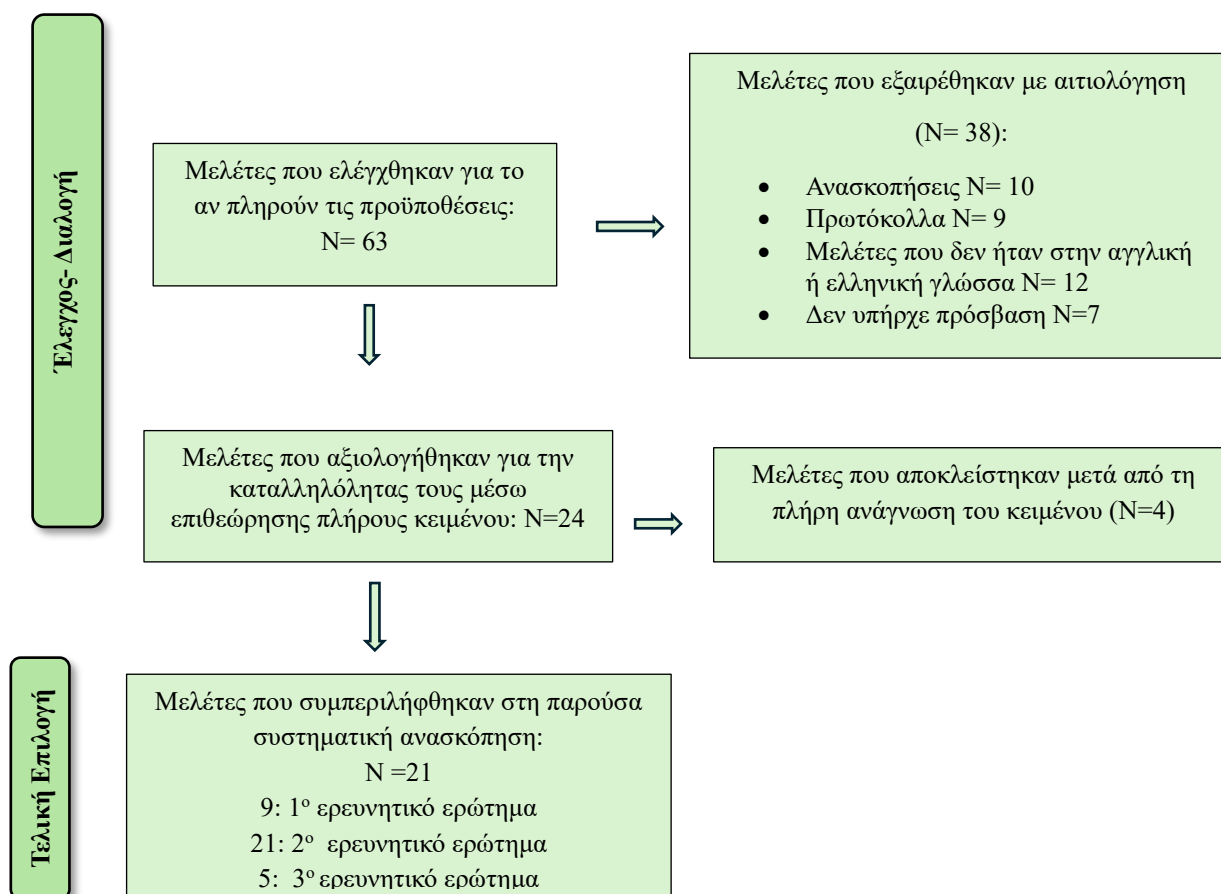
Αρχικά η αναζήτηση στις παραπάνω βάσεις δεδομένων οδήγησε στην ανεύρεση 148 μελετών (44 στο Scopus, 31 στο PubMed/ Medline, 35 στο ResearchGate και 38 στο Google Scholar), από τις οποίες αφού αφαιρέθηκαν 42 διπλότυπες, οι υπόλοιπες που έμειναν, δηλαδή οι 106 αξιολογήθηκαν σε πρώτο στάδιο, ως προς τον τίτλο και την περίληψη. Με αυτή τη διαδικασία αποκλείστηκαν 43 έρευνες, διότι δεν ήταν συμβατές με το θέμα της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης, με αποτέλεσμα να παραμείνουν 63 μελέτες. Πιο συγκεκριμένα αυτές οι 43 έρευνες μελετούσαν την επίδραση της HPP σε surrogate. Έπειτα, απορρίφθηκαν άλλες 38 μελέτες για τους εξής λόγους: οι 10 από αυτές αποτελούσαν ανασκοπήσεις και όχι έρευνες, οι 9 πρωτόκολλα έρευνας οπότε δεν είχαν

μορφή πλήρους κειμένου, οι 12 μελέτες δεν ήταν δημοσιευμένες στην αγγλική ή ελληνική γλώσσα και στις άλλες 7 μελέτες δεν υπήρχε ηλεκτρονική πρόσβαση.

Επομένως, απέμειναν 24 μελέτες στις οποίες έγινε πλήρης έλεγχος του κειμένου. Συγκεκριμένα μελέτες που δεν σχετίζονταν απόλυτα με το αντικείμενο της έρευνας ή που δεν διέθεταν ποιοτικά αποτελέσματα εξαιρέθηκαν. Τελικά, οι μελέτες οι οποίες κρίθηκαν κατάλληλες καθώς πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης ήταν 21. Από αυτές τις 21 μελέτες που τελικά συμπεριλήφθηκαν σχεδόν όλες δίνουν στοιχεία για παραπάνω από ένα ερευνητικό ερώτημα καθώς μελέτησαν παραπάνω από μια συνισταμένη. Πιο αναλυτικά από 9 μελέτες πήραμε δεδομένα για το πρώτο ερευνητικό ερώτημα, από 21 για το 2^ο και από 5 για το 3^ο.

Στην Εικόνα 1, λοιπόν, παρουσιάζεται το συνοπτικό διάγραμμα ροής της διαδικασίας διαλογής της βιβλιογραφίας μέχρι την τελική επιλογή των μελετών και την εισαγωγή τους στην παρούσα συστηματική ανασκόπηση.





Εικόνα 1: Διάγραμμα ροής της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP

Η αποτελεσματικότητα της HPP στην αδρανοποίηση των ιών εξαρτάται τόσο από τις παραμέτρους επεξεργασίας, δηλαδή την πίεση, τη θερμοκρασία και το χρόνο επεξεργασίας όσο και από το στέλεχος του ιού, καθώς και τη σύσταση του τροφίμου, δηλαδή τη συγκέντρωση του NaCl, το pH και το a_w , το ποσοστό λίπους και η σύνθεση των πρωτεϊνών (Buckow et al., 2008; Lou et al., 2011; Li et al., 2013; Roos 2020).

3.2 Διαφορετικά στελέχη ιών

Με βάση τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από τις έρευνες προέκυψε ο Πίνακας 1, στον οποίο η πρώτη στήλη περιλαμβάνει τα στελέχη των HuNoVs που μελετήθηκαν, στη δεύτερη αναφέρονται τα τρόφιμα και τα εργαστηριακά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν, στην τρίτη αναγράφονται οι παράμετροι επεξεργασίας (πίεση, θερμοκρασία, χρόνος) που εφαρμόστηκαν και στην τέταρτη φαίνεται αν τελικά ο ιός αδρανοποιήθηκε ή όχι.

Πίνακας 1. Αδρανοποίηση διαφορετικών στελεχών HuNoVs με την HPP

Στέλεχος HuNoV	Τρόφιμο/ Υπόστρωμα	Παράμετροι Επεξεργασίας: Πίεση (MPa), Θερμοκρασία (°C), Χρόνος (min)	Αδρανοποίηση/ Μείωση Ιικού Φορτίου	Πηγή
HuNoV GI.3 [P13]	PBS	350 MPa, 10 min 400 MPa, 5 min	Ναι	(Pandiscia et al., 2024)
	Πουρές Φράουλας & PBS	450 MPa, 5 min	Μερική Αδρανοποίηση (Ανιχνεύθηκαν μολυσματικά ιικά μόρια)	
HuNoV GII.4 Sydney [P16]	PBS	350 MPa, 7,5 min ή 400 MPa, 2,5 min ή 450 MPa, 5 min	Ναι	
	Πουρές Φράουλας	400 MPa, 7,5 min ή 450 MPa, 5 min	Ναι	
HuNoV GI.1			>2,9 log ₁₀	(Huang et al., 2016)
HuNoV GII.4		550 MPa, 2 min	> 4,0 log ₁₀	
HuNoV GI.3 [P13]	Πουρές Φράουλας/ PBS	350 MPa, 5 min	Παραμένει μολυσματικό	(Wales et al., 2024)
		400 MPa, 5 min	Παραμένει μολυσματικό	
		450 MPa, 5 min	Πλήρης αδρανοποίηση	
HuNoV GII.4 Sydney [P16]	PBS	350 MPa, 5 min	Παραμένει μολυσματικό	
		400 MPa, 5 min	Μερική αδρανοποίηση	
		450 MPa, 5 min	Πλήρης αδρανοποίηση	
	Πουρές Φράουλας	350 MPa, 5 min	Παραμένει μολυσματικό	
		400 MPa, 5 min	Πλήρης αδρανοποίηση	
		450 MPa, 5 min	Πλήρης αδρανοποίηση	
HuNoV GI.3		600 MPa, 5 min, 20 °C	Ναι	(Rachmadi et al., 2024)
HuNoV GII.4		300 MPa, 5 min, 20 °C	Ναι	
GII.4-5M GII.4-765, GII.1-509 GII.6-490		300 MPa, 4°C, 5 min	2,1 log ₁₀ 3,0 log ₁₀ 0,37 log ₁₀ 0,16 log ₁₀	(Lou et al., 2016)
GII.4-5M GII.4-765, GII.1-509 GII.6-490		500 MPa, 4°C, 5 min	3,29 log ₁₀ 3,40 log ₁₀ 1,06 log ₁₀ 1,17 log ₁₀	
GII.4-5M GII.4-765,		600 MPa, 4°C, 5 min	Πλήρης Αδρανοποίηση	

GI.1	Μύρτιλλα (υγρή κατάσταση)	500 MPa, 2 min 1°C	2,7±0,3 log ₁₀	(Li et al., 2013)
	Μύρτιλλα (υγρή κατάσταση)	600 MPa, 2 min, 21°C	> 3 log ₁₀	
	Μύρτιλλα (ξηρή κατάσταση)	600 MPa, 2 min, 1°C	0,5±0,2 log ₁₀ Παραμένει ανθεκτικό	
	Μύρτιλλα (ξηρή κατάσταση)	600 MPa, 2 min, 21°C	0,9 ± 0,2 log ₁₀ Παραμένει ανθεκτικό	
GII.4	Μύρτιλλα (ξηρή κατάσταση)	500 MPa, 1°C, 2 min	0,4 log ₁₀	
	Μύρτιλλα (ξηρή κατάσταση)	600 MPa, 1°C, 2 min	0,7 log ₁₀	
	Μύρτιλλα (υγρή κατάσταση)	500 MPa, 1°C, 2 min	2,7 log ₁₀	
	Μύρτιλλα (υγρή κατάσταση)	600 MPa, 1°C, 2 min	>3 log ₁₀ Πλήρης αδρανοποίηση	
GI.1	Στρείδια	300 MPa, 5 min, 25°C	0,4 log ₁₀	(Ye et al., 2014)
		400 MPa, 5 min, 25°C	1,0 log ₁₀	
		300 MPa, 5 min, 6°C	0,7 log ₁₀	
		400 MPa, 5 min, 6°C	1,3 log ₁₀	
		600 MPa, 5 min, 6°C	>4,1 log ₁₀	
GII.4	Στρείδια	300 MPa, 5 min, 25°C	1,7 log ₁₀	
		400 MPa, 5 min, 25°C	3,6 log ₁₀	
		300 MPa, 5 min, 6°C	2,9 log ₁₀	
		400 MPa, 5 min, 6°C	3,6 log ₁₀	
		600 MPa, 5 min, 6°C	>4,0 log ₁₀	
GII.4	Στρείδια	300 MPa, 2 min, 25°C	0,7±0,3 log ₁₀	(Ye et al., 2015)
		300 MPa, 2 min, 0°C	3,2±0,2 log ₁₀	
		350 MPa, 2 min, 25°C	3,6 ± 0,1 log ₁₀	
		350 MPa, 2 min, 0°C	>4,2 log ₁₀	
GI.1	Στρείδια	450 MPa, 2 min, 25°C	0,7±0,1 log ₁₀	
		450 MPa, 2 min, 0°C	3,2 ± 0,1 log ₁₀	
		500 MPa, 2 min, 25°C	0,8±0,3 log ₁₀	
		500 MPa, 2 min, 0°C	>4,3 log ₁₀	

Από τον Πίνακα 1 φαίνεται πως ορισμένες μελέτες συνέκριναν την αδρανοποίηση των HuNoV GI.1 και HuNoV GII.4, και απέδειξαν ότι οι ιός GII.4 εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία στην HPP σε σχέση τον GI.1, απαιτώντας χαμηλότερες πιέσεις για την αδρανοποίησή του. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με την έρευνα των Li et al. (2013) για να αδρανοποιηθεί ο GII.4 χρειάστηκε πίεση 250 MPa, ενώ ο HuNoV GI.1 μειώθηκε μόνο κατά 1,7 log₁₀ σε πίεση 400 MPa. Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν οι Ye et al. (2014),

καθώς στα 400 MPa (5 min, 25°C) ο HuNoV GII.4 αδρανοποιήθηκε ενώ ο GI.1 μειώθηκε κατά 1 log₁₀. Επίσης στα 300 MPa (5 min, 25°C) ο GI.1 κατέγραψε μείωση μόνο 0,4 log₁₀ ενώ ο GII.4 1,7 log. Αντίστοιχα, οι Ye et al., (2015) απέδειξαν ότι για να αδρανοποιηθεί ο HuNoV GI.1, απαιτήθηκε πίεση 450 MPa, ενώ ο HuNoV GII.4 αδρανοποιήθηκε στα 300 MPa. Τέλος, τα ευρήματα αυτά ενισχύονται από τους Huang et al. (2016), στην έρευνα των οποίων παρατηρήθηκαν διαφορετικές μειώσεις των HuNoV GI.1 και HuNoV GII.4, στις ίδιες συνθήκες. Συγκεκριμένα στα 550 MPa για 2 λεπτά προσδιορίστηκαν >2,9 και > 4,0 λογαριθμική μείωση των HuNoV GI.1 και HuNoV GII.4 αντίστοιχα.

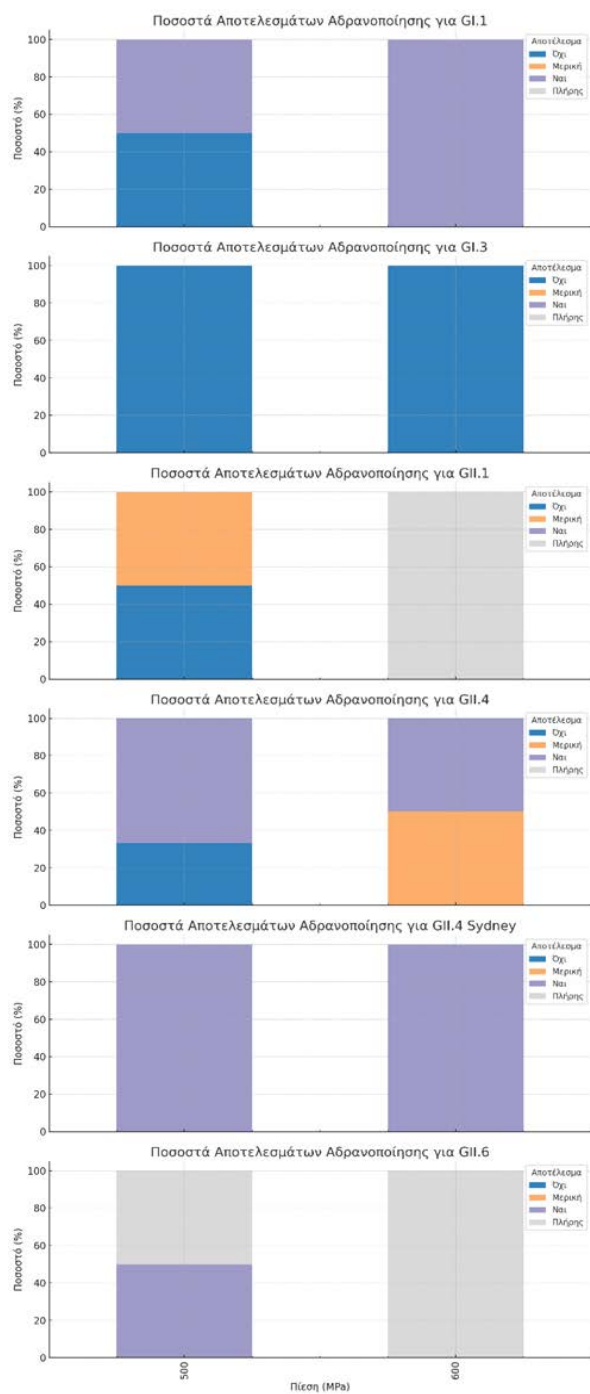
Άλλες μελέτες συνέκριναν τις γονοομάδες GI.3 και GII.4 καθώς και συγκεκριμένα στελέχη τους, αποδεικνύοντας ότι τα στελέχη της ομάδας GI.3 είναι πιο ανθεκτικά από αυτά της GII.4. Συγκεκριμένα στην μελέτη των Pandiscia et al., 2024 αποδείχθηκε ότι ο HuNoV GI.3[P13] είναι πιο ανθεκτικός από τον ο HuNoV GII.4 Sydney [P16] καθώς σε πίεση 350 MPa, ο HuNoV GII.4 αδρανοποιήθηκε πλήρως μετά από 7,5 λεπτά στο PBS, ενώ για τον HuNoV GI.3 απαιτήθηκαν 10 min για να αδρανοποιηθεί. Επίσης, η αύξηση της πίεσης στα 400 MPa, οδήγησε στη πλήρη αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 Sydney [P16] μέσα σε 2,5 λεπτά στο PBS και σε 7,5 λεπτά στον πουρέ φράουλας ενώ ο HuNoV GI.3[P13] αδρανοποιήθηκε μόνο στο PBS στα 5 λεπτά αλλά όχι στον πουρέ φράουλας. Η HPP στα 450 MPa είχε ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 Sydney [P16] εντός 5 λεπτών, τόσο στο PBS όσο και στον πουρέ φράουλας ενώ στις ίδιες συνθήκες εντοπίστηκαν μολυσματικά μόρια του HuNoV GI.3 [P13] και στα δυο μέσα. Ομοίως, οι Wales et al. (2024), ανέφεραν αυξημένη ανθεκτικότητα του GI.3 [P13] σε σύγκριση με το GII.4 Sydney [P16] καθώς το GII.4 [P16] αρχίζει να αδρανοποιείται ήδη στα 400 MPa, ενώ το GI.3 στα 450 MPa. Επίσης, στους Rachmadi et al. (2024), το

στέλεχος GI.3 χρειάστηκε 600 MPa για 5 λεπτά στους 20°C για αδρανοποίηση, σε αντίθεση με το GII.4 που αδρανοποιήθηκε πλήρως στους 300 MPa.

Από την άλλη, οι Tong et al. (2023) απέδειξαν ότι το στέλεχος HuNoV GI.5 είναι πιο ανθεκτικό από το HuNoV GII.4 καθώς παρατηρήσαν μεγαλύτερη μείωση του GII.4 στις ίδιες συνθήκες επεξεργασίας.

Διαφοροποιημένη ευαισθησία στην HPP έχει παρατηρηθεί ακόμη και ανάμεσα σε στελέχη της ίδιας γονομάδας HuNoV (GII). Σύμφωνα με την μελέτη των Lou et al. (2016), ο HuNoV GII.1 είναι ο πιο ανθεκτικός, ο GII.6 παρουσίασε μέτρια ανθεκτικότητα ενώ ο GII.4 είναι ο πιο ευαίσθητος ($GI.1 > GII.6 > GII.4$). Πιο αναλυτικά, συγκρίθηκαν τα στελέχη GII.1-509, GII.4-5M, GII.4-765 και GII.6-490 με το στέλεχος GII.1-509 να είναι το πιο ανθεκτικό στην πίεση και μετά ακολούθησε το GII.6-490. Επίσης, το στέλεχος GII.4-765 φάνηκε να είναι πιο ευαίσθητο από το στέλεχος GII.4-5M σε εύρος πίεσης από 300 έως 400 MPa.

Από τα παραπάνω ευρήματα προκύπτει ότι ορισμένα στελέχη (π.χ. GI.3) είναι ανθεκτικά, ενώ άλλα (π.χ. GII.4 Sydney, GII.6) αδρανοποιούνται πλήρως ακόμα και σε 500 MPa. Η αύξηση της πίεσης από 500 σε 600 MPa γενικά βελτιώνει την αποτελεσματικότητα, αλλά όχι για όλα τα στελέχη. Η ποικιλομορφία στην ευαισθησία των στελεχών του HuNoV στην HPP φαίνεται να σχετίζεται με φυσικοχημικά και δομικά χαρακτηριστικά του ιού. Αυτά περιλαμβάνουν τη θερμοδυναμική σταθερότητα του ιικού καψιδίου, το μέγεθος και το σχήμα των ιικών σωματιδίων, τις διαφορές στη δομή των πρωτεϊνών, τη σύνθεση των αμινοξέων, το ισοηλεκτρικό σημείο καθώς και τις αποκλίσεις στις ιδιότητες σύνδεσης με τους υποδοχείς του ξενιστή. Στην Εικόνα 2 παρουσιάζονται τα ποσοστά αδρανοποίησης διαφορετικών στελεχών HuNoVs υπό την επίδραση της HPP σε δύο εφαρμοζόμενες πιέσεις (500 MPa και 600 MPa).



Εικόνα 2. Ποσοστά αδρανοποίησης διαφορετικών στελεχών HuNoVs μέσω της HPP σε δύο εφαρμοζόμενες πιέσεις (500 MPa και 600 MPa).

3.3 Παράμετροι επεξεργασίας

3.3.1 Πίεση (MPa)

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μείωσης διάφορων στελεχών HuNoVs κάτω από διαφορετικές πιέσεις ενώ οι υπόλοιπες μεταβλητές (χρόνος, θερμοκρασία, pH, τρόφιμο) παραμένουν σταθερές ώστε να εξαχθούν κάποια συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση αποκλειστικά της πίεσης στην αδρανοποίηση των ιών.

Πίνακας 2. Η επίδραση της πίεσης στην αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP.

Στέλεχος	Τρόφιμο/ Υπόστρωμα	Πίεση & Χρόνος	Μείωση Ιικού Φορτιού	Πηγή
HuNoV GI.3 [P13]	PBS	350 MPa, 5 min	$< 1,0 \log_{10}$	(Pandiscia et al., 2024)
		400 MPa, 5 min	$\geq 3,5- 4,0 \log_{10}$	
		450 MPa, 5 min	$2,0- 2,5 \log_{10}$	
	Πουρές φράουλας	400 MPa, 5 min	$< 1,0 \log_{10}$	
		450 MPa, 5 min	$\sim 1,0- 1,2 \log_{10}$	
HuNoV GII.4 [P16]	Πουρές φράουλας	350 MPa, 5 min, 22 °C	$\sim 1,0 \log_{10}$	
		400 MPa, 5 min, 22 °C	$\sim 3,5- 4,0 \log_{10}$	
		450 MPa, 5 min, 22°C	$> 4,0 \log_{10}$	
HuNoV GI.3		300 MPa, 15 °C	$3,4 + 0,6$	(Rachmadi et al., 2024)
		450 MPa, 15 °C	$3,8 + 0,8$	
		300 MPa, 20 °C	$3,3 + 0,6$	
		450 MPa, 20 °C	$3,8 + 0,5$	
		600 MPa, 20 °C	$2,7 + 0,7$	
HuNoV GII.4		300 MPa, 20 °C	$2,9 + 0,6$	
		450 MPa, 20 °C	Δεν Ανιχνεύθηκε	
		600 MPa 20 °C	Δεν Ανιχνεύθηκε	
GI.1		300 MPa, 5 min, 25°C	$0,4 \log_{10}$	(Ye et al., 2014)
		400 MPa, 5 min, 25°C	$1,0 \log_{10}$	
		300 MPa, 5 min, 6°C	$0,7 \log_{10}$	
		400 MPa, 5 min, 6°C	$1,3 \log_{10}$	
		600 MPa, 5 min, 6°C	$> 4,1 \log_{10}$	
GII.4		300 MPa, 5 min, 25°C	$1,7 \log_{10}$	
		400 MPa, 5 min, 25°C	$3,6 \log_{10}$	
		300 MPa, 5 min, 6°C	$2,9 \log_{10}$	
		400 MPa, 5 min, 6°C	$3,6 \log_{10}$	
		600 MPa, 5 min, 6°C	$> 4,0 \log_{10}$	

GI.1		450 MPa, 2 min, 25°C	0,7 log ₁₀	(Ye et al., 2015)
		450 MPa, 2 min, 0°C	3,2 log ₁₀	
		500 MPa, 2 min, 25°C	0,8 log ₁₀	
		500 MPa, 2 min, 0°C	>4,3 log ₁₀	
		300 MPa, 2 min, 25°C	0,7 log ₁₀	
GII.4		300 MPa, 2 min, 0°C	3,2 log ₁₀	(Ye et al., 2015)
		350 MPa, 2 min, 25°C	3,6 log ₁₀	
		350 MPa, 2 min, 0°C	>4,2 log ₁₀	
GII.4-5M		300 MPa, 4°C, 5 min	2,1 log ₁₀	
		500 MPa, 4°C, 5 min	3,29 log ₁₀	
		600 MPa, 4°C, 5 min	Πλήρης Αδρανοποίηση	
GII.4-765		300 MPa, 4°C, 5 min	3,0 log ₁₀	(Lou et al., 2016)
		500 MPa, 4°C, 5 min	3,4 log ₁₀	
		600 MPa, 4°C, 5 min	Πλήρης Αδρανοποίηση	
GII.1-509		300 MPa, 4°C, 5 min	0,37 log ₁₀	
		500 MPa, 4°C, 5 min	1,06 log ₁₀	
GII.6-490		300 MPa, 4°C, 5 min	0,16 log ₁₀	
		500 MPa, 4°C, 5 min	1,17 log ₁₀	
GII.4	Μύρτιλλα (ξηρή κατάσταση)	500 MPa, 1°C, 2 min	0,4 log ₁₀	(Li et al., 2013)
		600 MPa, 1°C, 2 min	0,7 log ₁₀	
	Μύρτιλλα (υγρή κατάσταση)	500 MPa, 1°C, 2 min	2,7 log ₁₀	
		600 MPa, 1°C, 2 min	>3 log ₁₀ (Πλήρης αδρανοποίηση)	
GII.4		500 MPa, 2 min, 4°C	< 1 log ₁₀	(DiCaprio et al., 2019)
		600 MPa, 2 min, 4°C	Πλήρης αδρανοποίηση	
GII.4		100 MPa	0,27 log ₁₀ copies/μL	(Jeon et. al., 2024)
		200 MPa	0,48 log ₁₀ copies/μL	
		300 MPa	0,67 log ₁₀ copies/μL	
		400 MPa	0,79 log ₁₀ copies/μL	
		500 MPa	0,99 log ₁₀ copies/μL	
		600 MPa	1,38 log ₁₀ copies/μL	
GII.4		200 MPa	0,15 log ₁₀	(Roy et al., 2023)
		400 MPa	1,02 log ₁₀	
		600 MPa	1,91 log ₁₀	

Είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη πως οι HuNoVs είναι ιδιαίτερα ανθεκτικοί σε περιβαλλοντικές συνθήκες και παρουσιάζουν μεγάλη αντοχή σε πολλές τεχνολογίες

επεξεργασίας τροφίμων καθώς το καψίδιο τους παραμένει ανθεκτικό ακόμα και σε υψηλές πιέσεις (Lou et al., 2012).

Στις έρευνες που μελέτησαν την αδρανοποίηση των HuNoVs υπό την επίδραση της HPP, το εύρος πίεσης που εφαρμόστηκε κυμάνθηκε μεταξύ 100 και 650 MPa. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες πιέσεις ήταν 300, 400, 500 και 600 MPa, καθώς αυτές αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικές στην αδρανοποίηση των ιών HuNoV.

Από τον Πίνακα 2, προκύπτει ότι οι περισσότερες έρευνες μελέτησαν την δράση της HPP σε διαφορετικά είδη οστρακοειδών και από τα αποτελέσματα τους φαίνεται πως οι πιέσεις από 300 έως 600 MPa για 5 λεπτά, καθώς και οι χαμηλές θερμοκρασίες (1°C - 6°C) ευνόησαν την δράση της HPP. Πιο αναλυτικά, οι Ye et al., (2015) μελέτησαν την αδρανοποίηση των HuNoVs GI.1 και GI.4 σε στρείδια τα οποία υποβλήθηκαν σε πιέσεις από 300 έως 600 MPa, στους 25°C και 0°C επί 2 λεπτά. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η HPP στα 350–500 MPa στους 0°C για 2 λεπτά μπορεί να εξαλείψει τους ιούς σε ωμά στρείδια χωρίς να επηρεάσει την ποιότητα τους, προσφέροντας ασφαλή κατανάλωση. Τέλος παρατηρήθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα πίεσης στα 450 και 500 MPa δεν επηρέασαν σημαντικά την υφή και την γεύση των στρειδιών σε σύγκριση με τα 300 MPa στους 0°C. Επίσης, στη μελέτη των Rachmadi et al., (2024) εξετάστηκαν στρείδια τα οποία είχαν μολυνθεί με τους HuNoV GI.3 και GI.4 και υποβλήθηκαν σε πιέσεις 300 και 450 MPa στους 15°C καθώς και σε πιέσεις 300, 450 και 600 MPa στους 20°C. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για τον GI.3, η συνδυασμένη επίδραση υψηλής πίεσης (450 MPa) και χαμηλής θερμοκρασίας (15°C) έδωσε την υψηλότερη αδρανοποίηση ενώ για τον GI.4 απαιτείται πίεση ≥ 450 MPa ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία. Οι Jeon et al., (2024) μελέτησαν σε οστρακοειδή Jeotgal, την αδρανοποίηση του HuNoV GI.4 σε τιμές πίεσης από 100 έως 600 MPa για 5 λεπτά. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας, η

επεξεργασία από 400 MPa και πάνω, στους 18°C για 5 λεπτά επέφερε την αποτελεσματική μείωση του HuNoV ($\geq 90\%$) χωρίς να παρατηρηθούν σημαντικές αλλαγές στα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Στην έρευνα των Ye et al., (2014), μελετήθηκε η αδρανοποίηση των HuNoV GI.1 και GII.4 σε ομογενοποιημένα στρείδια, τα οποία υποβλήθηκαν σε επεξεργασία από 300 έως 600 MPa στους 25°C, 6°C και 1°C επί 5 λεπτά. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι για να επιτευχθεί σημαντική αδρανοποίηση του HuNoV στα στρείδια (μείωση 4 log₁₀), απαιτείται πίεση ≥ 400 MPa στους 25°C ή 6°C για 5 λεπτά για το στέλεχος GII.4 και για το στέλεχος GI.1 χρειάστηκαν ≥ 450 MPa στους 1°C ή ≥ 500 MPa στους 6°C για 5 λεπτά. Επιπροσθέτως, οι Tong et al. (2023) απέδειξαν την επιτυχή αδρανοποίηση του νοροϊού σε οστρακοειδή, εφαρμόζοντας HHP στα 500 MPa στους 5°C για 5 λεπτά. Στην έρευνα των Imamura et al., (2017) παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του HuNoV GII.17 μετά από HPP στα 400 MPa για 5 λεπτά στους 25°C σε στρείδια. Ωστόσο, ο ιός δεν αδρανοποιήθηκε πλήρως. Στην μελέτη των Imamura et al., (2018) επεξεργασία με HPP στα 400 MPa για 5 λεπτά στους 10°C σε φυσικά μολυσμένα στρείδια κατάφερε να εξαλείψει τους γονότυπους HuNoV GI και GII. Οι Roy et al., (2023) διερευνήσαν την αδρανοποίηση του HuNoV σε ωμά, ακατέργαστα καβούρια χρησιμοποιώντας HPP στα 200, 400 και 600 MPa για 5 λεπτά στους 6°C. Από τα ευρήματα της έρευνας, φάνηκε ότι η επεξεργασία υψηλής πίεσης στα 600 MPa για 5 λεπτά μειώνει τον HuNoV GII.4 έως και 2,23 log₁₀, καθιστώντας την μια αποτελεσματική επεξεργασία για την αδρανοποίηση του ιού, χωρίς να αλλοιώνεται το φυσικό χρώμα και το pH των ωμών καβουριών. Η θερμοκρασία ψύξης, το ουδέτερο pH, η πίεση επεξεργασίας 200-600 MPa και η διάρκεια διατήρησης 5 λεπτών είναι οι καλύτερες συνθήκες για την απενεργοποίηση του HuNoV GII.4 (Roy et al., 2023). Τα αποτελέσματα της μελέτης των Leon et al., (2011) έδειξαν ότι η HPP στα 600 MPa για 5 λεπτά στους

6°C, προκάλεσε πλήρη αδρανοποίηση του HuNoV GI.1, αποτρέποντας αποτελεσματικά τη μόλυνση των ατόμων που κατανάλωσαν τα μολυσμένα στρείδια. Ενώ μόλυνση παρατηρήθηκε σε εθελοντές που κατανάλωσαν στρείδια τα οποία είχαν υποβληθεί σε επεξεργασία με πίεση 400 MPa (6°C, 5 λεπτά) στους οποίους βρέθηκε υλικό από ιικό γονιδίωμα. Οι Li et al., (2013) μελέτησαν την επίδραση της HPP στον HuNoV GII.4 σε μολυσμένα στρείδια. Κατά την ποσοτικοποίηση του ιού καταγράφηκε πλήρη αδρανοποίηση (μείωση κατά 3,7 log₁₀ RNA) σε δείγματα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με πίεση 350 MPa για 2 λεπτά στους 4°C ενώ παρατηρήθηκε μερική αδρανοποίηση (μείωση μόνο 1,2 log₁₀ RNA) όταν τα μολυσμένα στρείδια υποβλήθηκαν σε θεραπεία 350 MPa για 2 λεπτά στους 20°C. Οι Tong et al., 2023 μελέτησαν την αδρανοποίηση των HuNoVs GI.5 και GII.4 σε ομογενοποιημένο πεπτικό αδένιο στρειδιών (*Crassostrea virginica*) (Digestive Gland- DG) και σε PBS σε πιέσεις 200, 300, 400 και 500 MPa στους 5°C για 5 λεπτά. Στα 400 MPa, παρατηρήθηκε ότι ο HuNoV GII.4 μειώθηκε κάτω από το όριο ανίχνευσης στο PBS. Ωστόσο, και οι δύο ιοί αδρανοποιήθηκαν στα 500 MPa για 5 λεπτά τόσο στο DG, όσο και στο PBS. Συγκεκριμένα, ο HuNoV GI.5 μειώθηκε >3,64 log₁₀ στο DG και >3,85 log₁₀ στο PBS, ενώ οι τιμές μείωσης του HuNoV GII.4 στο DG και στο PBS ήταν >3,95 log₁₀ και >4,66 log₁₀, αντίστοιχα (Tong et al., 2023). Τα αποτελέσματα δείχνουν κατά την επεξεργασία με HHP οι ιοί ο οποίοι μειώθηκαν με την αύξηση της πίεσης.

Στη μελέτη των Wales et al., (2024), εξετάστηκαν οι HuNoVs με γονότυπο GI.3 [P13] και GII.4 Sydney [P16] σε PBS και πουρέ φράουλας, τα οποία υποβλήθηκαν σε πιέσεις 300, 400 και 500 MPa HPP για 5 λεπτά. Όσο αφορά τον HuNoV GII.4, όταν εξετάστηκε σε πουρέ φράουλας και σε PBS αδρανοποιήθηκε μετά από εφαρμογή πίεσης στα 450

MPa για 5 λεπτά. Στην ίδια έρευνα όταν εξετάστηκε το στέλεχος HuNoV GI.3 κάτω από τις ίδιες παραμέτρους επεξεργασίας αδρανοποιήθηκε μόνο στο PBS.

Σύμφωνα με την έρευνα των Falco et al., (2023), η αποκλειστική εφαρμογή της HPP σε φράουλες κατάφερε να αναστείλει πλήρως τη μολυσματικότητα του HuNoV GII.4 Sydney [P16] στα 500 MPa για 5 λεπτά. Όταν όμως συνδυάστηκε με εκχύλισμα πράσινου τσαγιού, συγκέντρωσης 3,3 mg/mL ο ιός αδρανοποιήθηκε πλήρως στα 400 MPa ενώ αντίστοιχα όταν εφαρμόστηκε μόνο η HPP στα 400 MPa παρατηρήθηκε μείωση του μολυσματικού τίτλου του ιού αλλά η κυτταρική λοίμωξη δεν απετράπη πλήρως.

Τα ευρήματα της έρευνας των Sido et al., (2017) έδειξαν ότι στα πράσινα κρεμμύδια, για την αποτελεσματική μείωση ($>3 \log_{10}$ μείωση) των HuNoV GI.1 και HuNoV GII.4, χρειάστηκαν 600 MPa (HuNoV GI.1) και 500 MPa (HuNoV GII.4) αντίστοιχα για 2 λεπτά στους 1°C. Επίσης, στη σάλτσα: 500 MPa (HuNoV GI.1) και 300 MPa (HuNoV GII.4) για 2 λεπτά στους 1°C. Η χαμηλότερη αντίσταση του GII.4 στη σάλτσα οφείλεται πιθανά στο χαμηλό pH (~4.0).

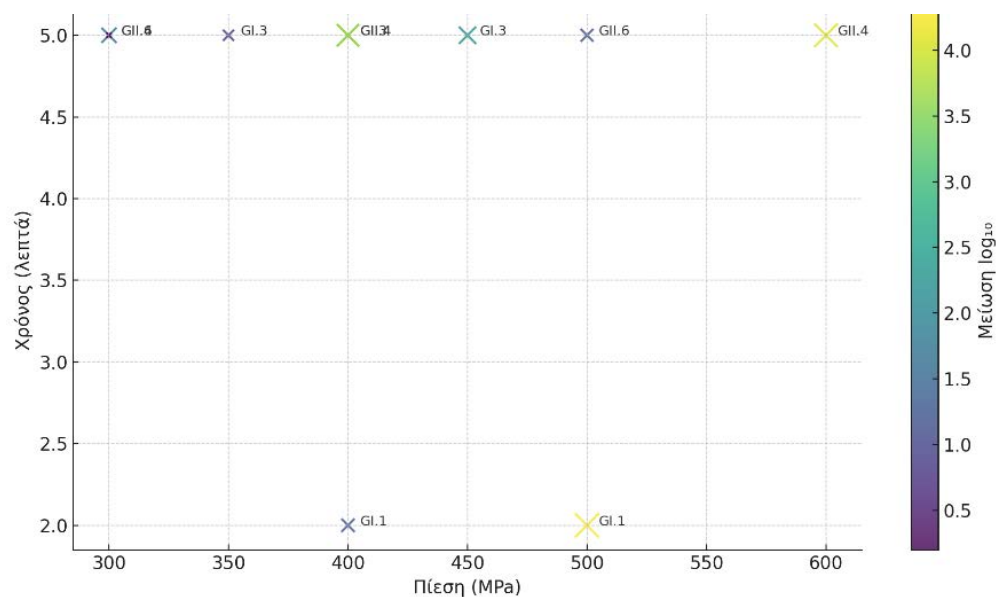
Στην έρευνα των DiCaprio et al., (2019) για να επιτευχθεί αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 σε πουρέ φράουλας, με pH 4, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στα 500 MPa και 600 MPa για 2 λεπτά σε αρχική θερμοκρασία 4°C. Στα 500 MPa παρατηρήθηκε ελαφρά μείωση του ιού, ενώ στα 600 MPa δεν ανιχνεύθηκε, υποδεικνύοντας ότι αυτό το επίπεδο πίεσης είναι επαρκές για την αδρανοποίηση του ιού.

Στην έρευνα των Lou et al., (2015) μελετήθηκε η αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 σε buffer (PBS) και χρησιμοποιήθηκε πίεση 600 MPa για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (20–25°C). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μειώθηκε σημαντικά η λοιμογόνος δύναμη του ιού αλλά δεν αδρανοποιήθηκε πλήρως.

Οι Lou et al., (2016) μελετήσαν την αδρανοποίηση των HuNoVs GII.4-5M, GII.1-509 και GII.6-490 σε PBS, MEM, και νερό (H₂O), σε πιέσεις 200, 400 και 600 MPa τόσο σε χαμηλή θερμοκρασία (π.χ. 4°C) όσο και σε θερμοκρασία δωματίου (π.χ. 20°C) για 2 λεπτά. Το στέλεχος HuNoV GII.4-5M αδρανοποιήθηκε στα 600 MPa, στους 4°C για 5 λεπτά. Στις ίδιες συνθήκες θεραπείας, παρατηρήθηκε μείωση 2,4 log₁₀ για το στέλεχος GII.6. Ωστόσο, το στέλεχος HuNoV GII.1 ήταν ιδιαίτερα ανθεκτικό στην HPP με μόνο μια μείωση περίπου 1 log₁₀ που επιτεύχθηκε στα 600 MPa.

Οι Pandiscia et al., (2024) εξέτασαν σε πουρέ φράουλας και PBS την αδρανοποίηση των HuNoV I (GI.3 [P13]) και II (GII.4 Sydney [P16]) και έδειξαν ότι μια πίεση συγκράτησης 450 MPa και ένας χρόνος έκθεσης ≥ 5 λεπτών είναι αξιόπιστες συνθήκες λειτουργίας για τη διαδικασία HPP για τον επιτυχή έλεγχο της ιογενούς μόλυνσης. Συγκεκριμένα σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης αυτής, η επεξεργασία με HHP στα 450 MPa οδήγησε στην πλήρη αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 Sydney [P16] εντός 5 λεπτών οι εμπορικά αποδεκτές συνθήκες HPP, τόσο στο PBS όσο και στον πουρέ φράουλας. Ωστόσο, στα 450 MPa βρέθηκαν ίχνη του HuNoV GI.3[P13], και στα δυο δείγματα μετά από 5 λεπτά.

Στην Εικόνα 3 παρουσιάζεται γραφικά η σχέση μεταξύ πίεσης και χρόνου επεξεργασίας στην αδρανοποίηση διαφόρων στελεχών HuNoVs, όπου το μέγεθος και το χρώμα κάθε σημείου δείχνει τη μείωση του ιικού φορτίου (log₁₀).



Εικόνα 3. Σχέση μεταξύ πίεσης και χρόνου επεξεργασίας HPP σε διάφορα στελέχη HuNoVs

Συνεπώς προκύπτει ότι η αποτελεσματικότητα της HPP στην αδρανοποίηση των HuNoVs εξαρτάται περισσότερο από την πίεση παρά από τον χρόνο έκθεσης καθώς στις περισσότερες έρευνες η αύξηση της πίεσης HPP ήταν αυτή που οδήγησε σε μεγαλύτερη αδρανοποίηση των ιών παρά η αύξηση του χρόνου εφαρμογής της HPP (π.χ. GI.4 στα 600 MPa είχε ως αποτέλεσμα μείωση $>4 \log_{10}$) (Lou et al., 2012).

3.3.2 Θερμοκρασία επεξεργασίας

Πίνακας 3. Η επίδραση της θερμοκρασίας στην αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP.

HuNoV	Πίεση	Αρχική θερμοκρασία δείγματος (°C)							
		0	1	4	10	20	21	25	40
Στέλεχος	(MPa)	Λογαριθμικές μειώσεις (log ₁₀ RNA copy/mL)							
GI.1	400	-	1,7	0,9	0,4	-	-	-	
	450	-	>3,0	1,8	0,8	-	0,0	-	0,1
	500	-	-	-	-	-	0,5	-	0,1
	550	-	-	-	-	-	2,2	-	0,7
GII.4	200	-	0,6	0,4	0,0	-	-	-	-
	250	-	2,9	2,1	0,9	-	0,1	-	0,0
	300	-	-	-	-	-	1,1	-	0,1
	350	-	-	-	-	-	>4,0	-	0,9
GII.4-765	350	3,7	-	-	-	-	-	3,0	1,0
	400	4,0	-	-	-	-	-	3,8	-
	450	4,2	-	-	-	-	-	4,0	-
GII.4-5M	200			1,8		< 0,1			0,26
GII.1-509	200 MPa, 5 min			1,0 copy/ml		Καμία Μείωση		Καμία Μείωση	
GII. 6-490	200 MPa, 5 min			1,2		Σχεδόν Καμία Μείωση		Σχεδόν Καμία Μείωση	
GII.4	350 MPa, pH 7,0			8,1		4,1			

(Li et al.,
2013)

(Lou et al.,
2015)

(Lou et al.,
2016)

(Roy et al.,
2023)

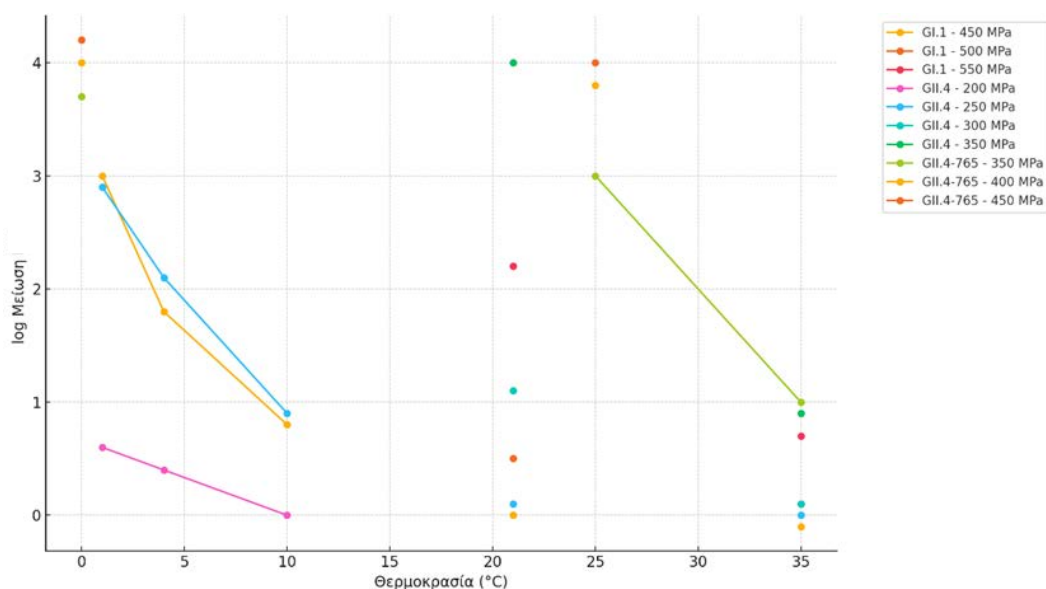
Η θερμοκρασία που επιλέγεται κατά την διάρκεια της HPP έχει σημαντική επίδραση στην αδρανοποίηση των HuNoVs, λειτουργώντας είτε συνεργικά είτε ανταγωνιστικά με την πίεση. Οι θερμοκρασίες που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες κυμάνθηκαν από 0°C έως 40°C, με τις πιο συχνές να είναι 4°C, 20°C και 25°C.

Αρκετές έρευνες συνέκριναν τα αποτελέσματα τους χρησιμοποιώντας τις ίδιες συνθήκες πίεσης και χρόνου αλλά σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Για παράδειγμα, οι Li et al., (2013) διαπίστωσαν ότι η αποτελεσματικότητα της HPP στην αδρανοποίηση τόσο του HuNoV GI.1 όσο και του HuNoV GII.4 σε PBS αυξήθηκε με τη μείωση της θερμοκρασίας (1°C > 4°C > 10°C > 21°C > 35°C). Αντίστοιχα, στην μελέτη των Lou et

al., (2016), για να προσδιοριστεί η επίδραση της θερμοκρασίας στην αδρανοποίηση των HuNoVs, τα στελέχη GII.4-5M, GII.1-509 και GII.6-490 υποβλήθηκαν σε επεξεργασία HPP στα 200 MPa για 5 λεπτά, σε διαφορετικές αρχικές θερμοκρασίες (4°C, 20°C και 40°C). Διαπιστώθηκε ότι και τα τρία στελέχη αδρανοποιήθηκαν ευκολότερα στη χαμηλότερη θερμοκρασία (4°C) σε σύγκριση με τις υψηλότερες θερμοκρασίες (20°C και 40°C), ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ 20°C και 40°C. Συγκεκριμένα, στις ίδιες συνθήκες επεξεργασίας (200 MPa για 5 λεπτά) στους 4°C ο HuNoV GII.4, μειώθηκε κατά 1,8 log₁₀, ενώ παρατηρήθηκε μείωση μικρότερη από 0,1 log₁₀ του στους 20°C και 0,26 log₁₀ στους 40°C. Επίσης στην έρευνα των Dicaprio et al., (2019) παρατηρήθηκε ότι η αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 από την HPP ενισχύθηκε στη χαμηλότερη θερμοκρασία (4°C) και σε ουδέτερο pH (7,0). Οι Leon et al. (2011) συνέκριναν τα αποτελέσματα της αδρανοποίησης του HuNoV GI.1 σε στρείδια σε πίεση 400 MPa για 5 λεπτά στους 6 και στους 25°C και βρήκαν ότι στους 25°C, παρατηρήθηκε ποσοστό μόλυνσης 60%, ενώ στους 6°C, ποσοστό μόλυνσης 21% (Leon et al., 2011). Επίσης, οι Rachmadi et al., (2024) συνέκριναν τα αποτελέσματα της HHP σε πίεση 450 MPa για την αδρανοποίηση του HuNoV GI. στους 15°C και στους 20°C και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο ιός στους 15°C αδρανοποιήθηκε πιο γρήγορα. Και στην έρευνα των Sido et al., 2017 αποδείχθηκε ότι η χαμηλή θερμοκρασία (1°C) βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της HHP. Στην έρευνα των Ye et al., 2014 παρατηρήθηκε ότι η αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 στα στρείδια αυξήθηκε καθώς μειωνόταν η θερμοκρασία (1>6>25°C). Επίσης η χαμηλότερη θερμοκρασία (0°C) βελτίωσε σημαντικά την αδρανοποίηση των HuNoVs GI.1 και GII.4 σε σύγκριση με τα 25°C (Ye et al., 2015). Στην έρευνα των Huang et al., (2016), πουρές φράουλας υποβλήθηκε σε επεξεργασία HHP στα 500 MPa για 2 λεπτά στους 0°C, 4°C και 20°C για την

αδρανοποίηση του HuNoV GI.1 και διαπιστώθηκε ότι το στέλεχος γινόταν πιο ευαίσθητο καθώς η θερμοκρασία μειωνόταν από τους 20°C στους 0°C. Συγκεκριμένα, στους 0°C καταγράφηκε μείωση 2,5 log₁₀, στους 4°C 2,2 log₁₀ και στους 20°C 1,0 log₁₀.

Οι παραπάνω διαπιστώσεις παρουσιάζονται στην Εικόνα 4 όπου απεικονίζεται η επίδραση της θερμοκρασίας της επεξεργασίας HPP στα στελέχη HuNoVs. Από το γράφημα διαπιστώνεται ότι σε χαμηλές θερμοκρασίες (1–4°C), παρατηρούνται σημαντικές μειώσεις (π.χ. 2,9 log₁₀, 3,0 log₁₀, ακόμα και >3,0 log₁₀) για τα περισσότερα στελέχη. Αντίθετα, σε υψηλότερες θερμοκρασίες (20–25°C), σε αρκετές περιπτώσεις η μείωση είναι πολύ μικρότερη ή μηδενική.



Εικόνα 4. Επίδραση της θερμοκρασίας επεξεργασίας HPP στα στελέχη HuNoVs

3.3 Παράμετροι μη επεξεργασίας

3.3.1 Το είδος του τροφίμου/ μέσο

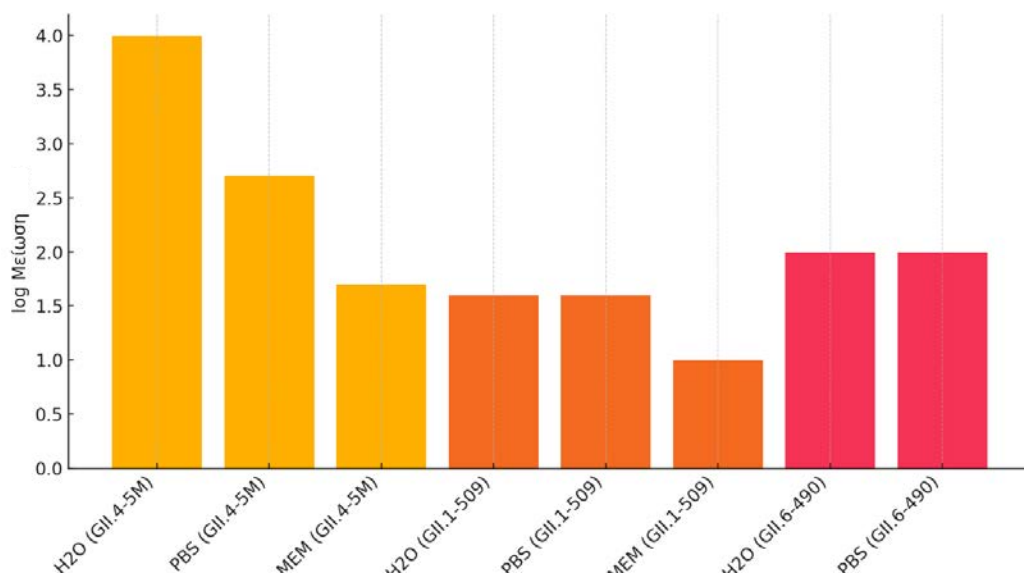
Η σύνθεση ενός τροφίμου είναι ένας άλλος εξίσου σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την αδρανοποίηση του ιού κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας υπό πίεση. Οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες, τα ιόντα, τα λιπίδια, τα άλατα και άλλα συστατικά μπορούν να προσφέρουν προστατευτική δράση στους ιούς, περιορίζοντας την αποτελεσματικότητα της HPP έναντι των ιών. Τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λίπη, όπως τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα θαλασσινά, ενδέχεται να μειώσουν την αδρανοποίηση των ιών κατά της επεξεργασία με HPP. Αντίθετα, ένα υγρό περιβάλλον με ουδέτερο pH φαίνεται να βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου (Balny et al., 2002; Baert et al., 2009; Kingsley and Chen, 2009). Επίσης, η παρουσία κάποιων φυσικών αντιϊικών ενώσεων όπως το GTE έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την αποτελεσματικότητα της HPP και μειώνει τον χρόνο αδρανοποίησης. Ο μηχανισμός δράσης του GTE είναι ακόμη υπό διερεύνηση. Ωστόσο θεωρείται ότι δεν καταστρέφει το RNA αλλά πιθανώς επηρεάζει το καψίδιο του ιού. Συγκεκριμένα η HPP προκαλεί δομική φθορά στο καψίδιο και επιτρέπει στη GTE να διεισδύσει και να δράσει (Falco et al., 2023). Ακόμη, έχει αποδειχθεί ότι διάφορα οργανικά οξέα όπως το κιτρικό και το οξικό οξύ, βελτιώνουν την αδρανοποίηση του ιού (Huang et al., 2016).

Στην έρευνα των Wales et al. (2024) παρατηρήθηκε διαφορετική αντοχή στην HPP μεταξύ των δύο γονότυπων ανάλογα με το μέσο. Συγκεκριμένα, ο HuNoV GI ήταν πιο ευαίσθητος στην HPP από τον GII στο PBS, αλλά πιο ανθεκτικός στον πουρέ φράουλας. Από τα ευρήματα αυτής της έρευνας φαίνεται πως ο πουρές φράουλας παρείχε προστατευτική δράση στον HuNoV GI.3[P13] από την HPP. Επίσης, στην έρευνα των

Tong et al., (2023) διαπιστώθηκε ότι στο PBS η μείωση του HuNoV από την HPP ήταν μεγαλύτερη από ό,τι στα στρεΐδια, πιθανώς λόγω της προστατευτικής δράσης των πρωτεϊνών και του λίπους των στρειδιών (Patterson et al., 2007, Cook et al., 2018). Αντίστοιχα και στην μελέτη των Lou et al., (2016), διαπιστώθηκε ότι το MEM και το PBS λειτούργησαν προστατευτικά για τον HuNoV GII.4-5M έναντι της αδρανοποίησης από την HPP, ενώ η δράση της ενισχύθηκε σημαντικά στο H₂O. Από την άλλη, τα στελέχη GII.1 και GII.6 αδρανοποιήθηκαν πιο ευκολά στο H₂O και στο PBS απ' ό,τι στο MEM. Πιο αναλυτικά, και τα τρία μέσα υποβλήθηκαν στις ίδιες συνθήκες πίεσης, θερμοκρασίας και χρόνου (200 MPa, 5 λεπτά, 4°C). Όσο αφορά τον HuNoV GII.4-5M επιτεύχθηκε μείωση πάνω από 4,0 log₁₀ στο H₂O, ενώ στα MEM και PBS μόνο 1,7 και 2,7 log₁₀, αντίστοιχα. Ο HuNoV GII.1-509 μειώθηκε κατά 1,6 log₁₀ στο H₂O. Παρόμοια μείωση παρατηρήθηκε στο PBS ενώ στο MEM μειώθηκε κατά 1 log₁₀. Τέλος, το HuNoV GII.6-490 κατέγραψε μείωση περίπου 2 log₁₀ στο H₂O και στο PBS, ενώ στο MEM 1 log₁₀. Η μεγαλύτερη ανθεκτικότητα που παρουσιάζουν οι ιοί στο MEM, θεωρείται ότι σχετίζεται με το γεγονός ότι το MEM περιέχει άλατα, αμινοξέα, βιταμίνες και σάκχαρα. Τέλος, στην έρευνα των Pandiscia et al., (2024) φαίνεται ότι ο πουρές φράουλας παρείχε προστατευτική δράση έναντι της αδρανοποίησης του HuNoV GI.3[P13] από την HPP σε σύγκριση με το PBS. Θεωρείται ότι αυτή η προστατευτική δράση οφείλεται σε διάφορες αντιοξειδωτικές ενώσεις που υπάρχουν στις φράουλες, όπως οι πολυφαινόλες ή τα φαινολικά οξέα, τα οποία ενδέχεται να ελαχιστοποιούν τη βλάβη του καψιδίου που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες οδηγώντας σε αυξημένη αντίσταση των ιών στην HPP.

Στην Εικόνα 5 παρουσιάζεται ενδεικτικά η σύγκριση της επίδρασης της HPP σε στελέχη HuNoVs σε τρία διαφορετικά μέσα (H₂O, PBS και MEM). Αυτό που διαπιστώνεται είναι

ότι η μεγαλύτερη μείωση του ιικού φορτίου, καταγράφεται στο νερό (H₂O) ανεξαρτήτως του στελέχους, ενώ τα PBS και MEM φαίνεται να προσφέρουν προστατευτικό ρόλο, ιδιαίτερα στο GI.4-5M.



Εικόνα 5. Σύγκριση της επίδρασης της HPP σε στελέχη HuNoVs στο H₂O, το PBS και το MEM.

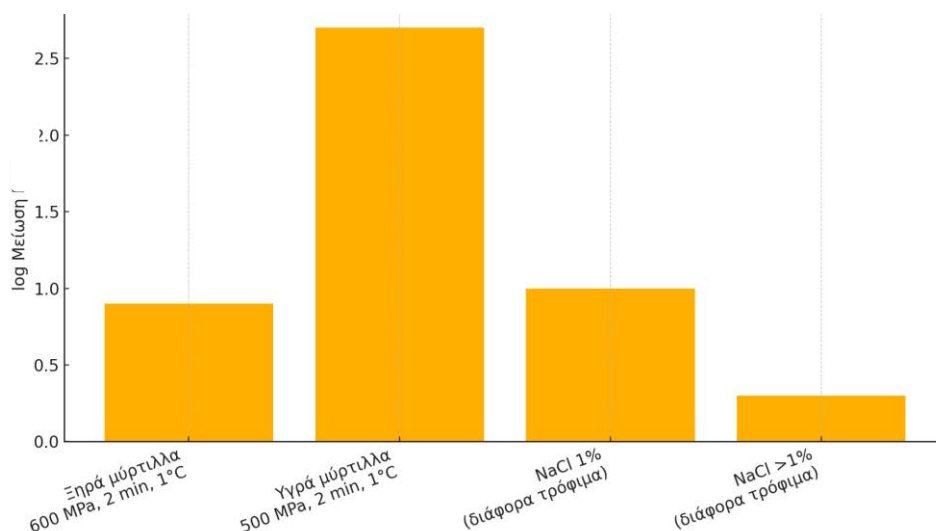
3.3.2 Ενεργότητα νερού (a_w) και περιεκτικότητα σε NaCl

Η αδρανοποίηση των ιών στη HPP φαίνεται πως επηρεάζεται από την περιεκτικότητα των τροφίμων σε a_w και NaCl. Το a_w αποτελεί μέτρο της διαθεσιμότητας του νερού ενός τροφίμου και κατά συνέπεια της συντηρησιμότητάς του και καθορίζει το ελάχιστο όριο του διαθέσιμου νερού για μικροβιακή ανάπτυξη και δράση. Τρόφιμα με υψηλή a_w όπως οι χυμοί και τα στρείδια, ευνοούν τη μετάδοση της πίεσης και ενισχύουν την αποτελεσματικότητα της HPP. Αντίθετα, σε ξηρά τρόφιμα με χαμηλή a_w , ο ιός μπορεί να παρουσιάσει μεγαλύτερη ανθεκτικότητα (Ye et al., 2014). Στην μελέτη των Li et al., (2013) συγκρίθηκε η αδρανοποίηση του HuNoV GI.1 σε ξηρά μύρτιλλα και σε μύρτιλλα σε υγρή κατάσταση και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το νερό διευκόλυνε τη διείσδυση

της πίεσης και την καταστροφή του καψιδίου καθώς στα υγρά μύρτιλλα χρειάστηκε μικρότερη πίεση για να επιτευχθεί μεγαλύτερη μείωση του ιικού φορτίου. Για παράδειγμα, στα ξηρά μύρτιλλα στα 600 MPa για 2 min στους 1°C και 21°C, ο ιός μειώθηκε κάτω από $1 \log_{10}$ ενώ σε εμβαπτισμένα μύρτιλλα στο νερό σημειώθηκε μείωση $2,7 \log_{10}$ στα 500 MPa για 2 λεπτά στους 1°C.

Επιπλέον, η περιεκτικότητα των τροφίμων σε NaCl μπορεί να διαδραματίσει προστατευτικό ρόλο έναντι της αδρανοποίησης των ιών από την HPP. Η προστατευτική δράση του NaCl είναι ακόμα υπό διερεύνηση. Ωστόσο, θεωρείται ότι μπορεί να οφείλεται σε αλληλεπιδράσεις του NaCl με τις πρωτεΐνες του ιού με αποτέλεσμα την αλλαγή της φυσικής υδρόφιλης μορφής των πρωτεϊνών σε μια υδρόφοβη μορφή τους, και κατ' επέκταση την αύξηση της σταθερότητας τους στη δράση της πίεσης. Γι' αυτό, πρέπει να λαμβάνεται ιδιαίτερα υπόψη η ποσότητα του NaCl κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας HPP τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα. Τέλος, σύμφωνα με τα ευρήματα ορισμένων ερευνών φαίνεται ότι οι συγκεντρώσεις NaCl έως 1% δεν προσφέρουν σημαντική προστασία στον ιό, ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις παρουσιάζουν προστατευτικές ιδιότητες (Grove et al., 2006; Kingsley et al., 2007; Kingsley and Chen, 2009).

Στην Εικόνα 6 παρουσιάζεται ενδεικτικά η επίδραση του a_w και της συγκέντρωσης NaCl στην αποτελεσματικότητα της HPP έναντι του HuNoV GI.1, όπου φαίνεται χαρακτηριστικά σημαντική μείωση του ιικού φορτίου ($2,7 \log$) σε υψηλότερη τιμή a_w , και η υψηλότερη συγκέντρωση NaCl >1% οδηγεί σε μειωμένη αποτελεσματικότητα.



Εικόνα 6. Επίδραση του a_w και της συγκέντρωσης NaCl του τροφίμου στην επίδραση της HPP στο HuNoV GI.1.

3.3.3 pH

Το pH του τροφίμου παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα της HPP καθώς επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη και την επιβίωση των μικροοργανισμών. Όλοι οι μικροοργανισμοί έχουν ένα εύρος pH στο οποίο μπορούν να αναπτυχθούν και ένα βέλτιστο pH στο οποίο αναπτύσσονται καλύτερα.

Στον Πίνακα 5 περιλαμβάνονται δεδομένα από διαφορετικές έρευνες που δείχνουν πως το pH ενός τροφίμου επηρεάζει την μείωση των HuNoVs.

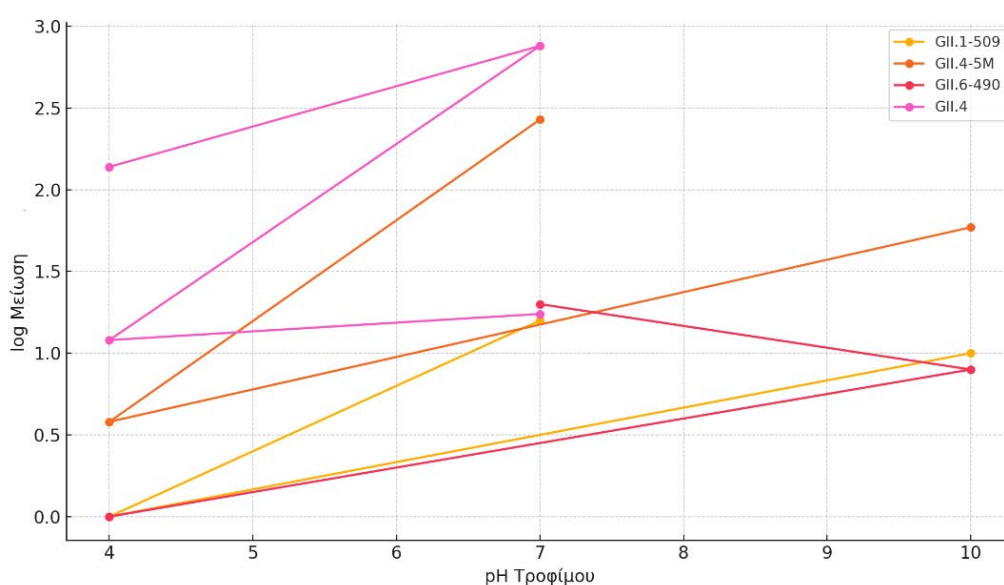
Πίνακας 5. Η επίδραση του pH του τροφίμου στην αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP

Στέλεχος	Παράμετροι Επεξεργασίας	Μείωση Ιικού φορτίου	Πηγή
HuNoV GII.1-509	200 MPa, 4°C, 5 min pH 7,0	1,2 log ₁₀ RNA copy/ml	(Lou et al., 2016)
	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 4,0	Δεν μειώθηκε	
	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 10,0	1,0 log ₁₀ RNA copy/mL	
GII.4-5M	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 7,0	2,43 log ₁₀ RNA copy/mL	
	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 4,0	0,58 log ₁₀ RNA copy/ml	
	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 10,0	1,77 log ₁₀ RNA copy/mL	
GII.6-490	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 7,0	1,3 log ₁₀	
	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 10,0	0,9 log ₁₀	
	200 MPa, 4°C, 5 min, pH 4,0	Δεν μειώθηκε	
GII.4	400 MPa, 4°C, pH 4,0	2,14 log ₁₀	(DiCaprio et al., 2019)
	400 MPa, 4°C, pH 7,0	2,88 log ₁₀	
	400 MPa, 20°C, pH 4,0	1,08 log ₁₀	
	400 MPa, 20°C, pH 7,0	1,24 log ₁₀	

Σε ορισμένες έρευνες συγκρίθηκε η αδρανοποίηση των HuNoVs κάτω από τις ίδιες συνθήκες HPP αλλά σε διαφορετικά pH. Μία εξ αυτών είναι των Li et al., (2013), στην οποία τόσο ο HuNoV GI.1 όσο και ο GII.4 παρουσίασαν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στη HHP σε χαμηλό pH (4,0) από ό,τι σε ουδέτερο (7,2). Συγκεκριμένα, στα 500 MPa παρατηρήθηκε μείωση του GI.1 κατά 2,3 log σε ουδέτερο pH και 0,4 log σε pH 4, ενώ στα 350 MPa σημειώθηκε μείωση του GII.4 πάνω από 3,8 log σε pH 7,0 και 1,2 log σε pH 4,0. Ομοίως στην έρευνα των DiCaprio et al., 2019, η αδρανοποίηση του HuNoV GII.4 από την HPP ενισχύθηκε σε ουδέτερο pH (7,0). Επίσης, στην μελέτη των Lou et al., (2016), η αδρανοποίηση των στελεχών HuNoV GII.4-5M, GII.1-509 και GII.6-490 ενισχύθηκε σε ουδέτερο (7,0) και βασικό pH (10,0) σε σύγκριση με το όξινο (4,0). Στα 200 MPa ο HuNoV GII.1-509 μειώθηκε 1,2 log₁₀ σε pH 7,0 και 1,0 log₁₀ σε pH 10,0, ενώ δεν υπήρξε μείωση του ιού σε pH 4,0. Η αδρανοποίηση του HuNoV GII.6-490 ήταν παρόμοια με αυτήν του GII.1-509 υπό όξινες, βασικές και ουδέτερες συνθήκες καθώς

μειώθηκε $1,3 \log_{10}$ σε pH 7,0 και $0,9 \log_{10}$ σε pH 10,0. Αντίστοιχα ο HuNoV GI.4-5M μειώθηκε $2,43 \log_{10}$ και $1,77 \log_{10}$ σε pH 7,0 και 10,0, αντίστοιχα, ενώ μόνο $0,58 \log_{10}$ σε pH 4,0. Συνολικά, όλα τα στελέχη ήταν πιο ευαίσθητα στην HPP σε ουδέτερο ή βασικό pH παρά σε όξινο pH.

Στην Εικόνα 7 παρουσιάζεται η επίδραση του pH του τροφίμου στην αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας HPP στα στελέχη HuNoVs.



Εικόνα 7. Επίδραση του pH του τροφίμου στην αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας HPP στα στελέχη HuNoVs

Συνολικά, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι οι HuNoVs είναι πιο ανθεκτικοί σε όξινα περιβάλλοντα (pH 4,0) κατά την επεξεργασία με HPP, ενώ αδρανοποιούνται ευκολότερα σε ουδέτερο pH (~7.0). Σε αλκαλικό pH (10,0) η αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας είναι μέτρια ανάλογα με το στέλεχος. Ο ακριβής μηχανισμός αυτής της επίδρασης δεν έχει πλήρως κατανοηθεί, αλλά πιθανώς σχετίζεται με αλλαγές στη δομή των πρωτεϊνών του καψιδίου των ιών (Lou et al., 2015). Επίσης μπορεί να σχετίζεται με το γεγονός ότι ο HuNoV είναι ένας εντερικός ιός, ο οποίος γενικά είναι ανθεκτικός στα οξέα του

στομάχου (Ahmed et al., 2016). Επομένως, είναι σημαντικό να λαμβάνεται υπόψη το pH του τροφίμου καθώς φαίνεται πως η HPP είναι πιο αποτελεσματική σε τρόφιμα με υψηλότερο pH ή στα όξινα τρόφιμα ίσως είναι πιο αποτελεσματική η χρήση υψηλότερης πίεσης ώστε να διασφαλίζεται η ασφάλεια των τροφίμων που υποβάλλονται σε επεξεργασία με HPP (Li et al., 2013).

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι τα ερευνητικά ερωτήματα που τέθηκαν στην παρούσα μελέτη έχουν μελετηθεί μεμονωμένα και από άλλους μελετητές στο παρελθόν. Με την παρούσα εργασία έγινε μια προσπάθεια να συγκεντρωθούν όλα αυτά τα ευρήματα ώστε να εξαχθούν κάποια συνολικά και εμπειριστατωμένα συμπεράσματα. Παρόλο τις παρατηρούμενες διαφορές στην αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP ως συνέπεια του διαφορετικού πειραματικού σχεδιασμού και της μεθοδολογίας που χρησιμοποιήθηκε στις διαφορετικές μελέτες, η επεξεργασία των αποτελεσμάτων των μελετών αυτών οδήγησε σε κάποια συμπεράσματα σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν την αδρανοποίηση των HuNoVs στα τρόφιμα κατά την επεξεργασία με HPP.

➤ Ερευνητικό Ερώτημα 1: Υπάρχει διαφορά ως προς την ευαισθησία των διαφορετικών στελεχών HuNoV στη δράση της HPP:

Διαπιστώθηκε διαφορετική ευαισθησία ως προς την αδρανοποίηση από την HPP όχι μόνο μεταξύ των διαφορετικών γονοομάδων HuNoVs αλλά και μεταξύ στελεχών της ίδιας γονοομάδας. Όλες οι μελέτες που συνέκριναν διαφορετικά στελέχη κάτω από τις ίδιες συνθήκες πίεσης, θερμοκρασίας και χρόνου κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα περισσότερα στελέχη της γονοομάδας GI είναι πιο ανθεκτικά από αυτά της GII κι γι' αυτό χρειάστηκε να χρησιμοποιήσουν μεγαλύτερη πίεση για να αδρανοποιηθούν. Συγκεκριμένα τα στελέχη GI.1 και GI.3 είναι τα πιο ανθεκτικά ενώ τα GII.4 τα πιο ευαίσθητα. Επίσης ανάμεσα στα στελέχη της γονοομάδας GII παρατηρήθηκε ότι τα στελέχη GII.1 είναι τα πιο ανθεκτικά, μετά είναι τα GII.6, ενώ τα GII.4 είναι τα λιγότερο ανθεκτικά.

Αυτό υπογραμμίζει την ανάγκη προσαρμογής των παραμέτρων της HPP (πίεση, χρόνος, θερμοκρασία) ανάλογα με το στέλεχος του HuNoV, προκειμένου να διασφαλιστεί η πλήρης αδρανοποίησή του καθώς οι βέλτιστες συνθήκες για την αδρανοποίηση των HuNoVs διαφέρουν για τον εκάστοτε ιό.

➤ **Ερευνητικό Ερώτημα 2: Επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της HPP οι παράγοντες επεξεργασίας;**

Διαπιστώθηκε ότι η πίεση, ο χρόνος και η θερμοκρασία που υποβάλλεται το τρόφιμο σε επεξεργασία αποτελούν σημαντικοί παράγοντες στην αδρανοποίηση των ιών από την HPP.

Συνοψίζοντας, όσο αφορά την πίεση, στα 300 MPa παρατηρείται ελάχιστη έως μηδαμινή αδρανοποίηση των HuNoVs. Στα 400 MPa καταγράφηκε μερική αδρανοποίηση, αλλά οι ιοί μπορεί να επιβιώσουν υπό ορισμένες συνθήκες. Τέλος στα 500-600 MPa υπήρξε πλήρης αδρανοποίηση των HuNoVs.

Επομένως, οι τιμές πίεσης 400 - 600 MPa είναι οι πιο αποτελεσματικές για την πλήρη αδρανοποίηση των μολυσματικών ιικών μορίων. Αυτό το εύρος πίεσης θεωρείται εμπορικά αποδεκτό στην βιομηχανία τροφίμων για τη χρήση της HPP στην εξυγίανση των διατροφικών προϊόντων από τους HuNoVs. Κάτι ακόμη που συμπεραίνεται από τα αποτελέσματα των ερευνών είναι ότι τα 5 - 7,5 λεπτά σε συνδυασμό με την κατάλληλη πίεση αρκούν για την αδρανοποίηση των ιών. Επίσης οι HuNoVs γίνονται πιο ευαίσθητοι στη HPP καθώς η θερμοκρασία επεξεργασίας μειώνεται. Επομένως, αδρανοποιούνται πιο εύκολα σε θερμοκρασίες ψύξης (0-4°C) παρά σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος (>25°C).

➤ **Ερευνητικό Ερώτημα 3: Η σύσταση του τροφίμου παίζει ρόλο στην αποτελεσματικότητα της HPP;**

Διαπιστώνεται πως υπάρχει μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ των ιών και των συστατικών ενός τροφίμου ή μέσου, τα οποία θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την εφαρμογή της HPP. Τρόφιμα με υψηλό a_w , όπως τα γαλακτοκομικά, το κρέας και τα θαλασσινά, τα φρούτα και τα λαχανικά είναι περισσότερο ευαίσθητα στη HPP και επομένως χρειάζονται μικρότερη πίεση για να μειωθούν αποτελεσματικά οι ιοί. Επιπλέον, τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε NaCl λειτουργούν προστατευτικά για τους ιούς επηρεάζοντας δυσμενώς την δράση της HPP γι' αυτό και σε αυτά τρόφιμα χρειάστηκε μεγαλύτερη πίεση ή/ και χρόνος για να αδρανοποιηθούν οι ιοί. Τέλος οι HuNoVs είναι πιο ανθεκτικοί σε όξινα τρόφιμα ενώ αδρανοποιούνται ευκολότερα σε τρόφιμα με ουδέτερο pH. Αυτή η ιδιότητα των HuNoVs θα πρέπει να εξετάζεται πιο προσεκτικά σε τρόφιμα με χαμηλό pH όπως είναι κάποια φρούτα (π.χ. λεμόνι, πορτοκάλι, ακτινίδιο, φράουλα, ντομάτα) και οι χυμοί τους που υποβάλλονται σε επεξεργασία με HPP, καθώς σε αυτά χρειάζονται υψηλότερες πιέσεις για να αδρανοποιηθούν οι ιοί.

Επομένως, τα συστατικά ενός τροφίμου μπορούν να εισαγάγουν σημαντική μεταβλητότητα ή/ και περιορισμούς στην αποτελεσματικότητα των πρωτοκόλλων που χρησιμοποιούνται για την αδρανοποίηση των HuNoVs από την HPP. Έτσι, είναι σημαντικό να αυξηθεί το επίπεδο πίεσης επεξεργασίας κατά την επεξεργασία σύνθετων προϊόντων διατροφής, προκειμένου να επιτευχθεί υψηλή αποτελεσματικότητα της ικής αδρανοποίησης.

Εν κατακλείδι, η HPP φαίνεται να έχει αρκετές δυνατότητες για τη διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων από τους HuNoVs. Ωστόσο απαιτούνται περισσότερα δεδομένα για να εξακριβωθούν ποιες είναι οι πιο κατάλληλες συνθήκες πίεσης και

θερμοκρασίας που απαιτούνται όχι μόνο για τη μείωση της μολυσματικότητας των συγκεκριμένων ιών αλλά και για τη διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των τροφίμων.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aaby, K., Grimsbo, I. H., Hovda, M. B., & Rode, T. M. (2018). Effect of high pressure and thermal processing on shelf life and quality of strawberry purée and juice. *Food Chemistry*, 260, 115-123.

Abera, G. (2019). Review on high-pressure processing of foods. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1568725.

Ahmed, S.M.; Hall, A.J.; Robinson, A.E.; Verhoef, L.; Premkumar, P.; Parashar, U.D.; Koopmans, M.; Lopman, B.A. (2014) Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet infectious diseases*, 14(8), 725-730. [CrossRef] [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70767-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70767-4)

Alexandre, E.M., Brand~ao, T.R. & Silva, C.L. (2012). Efficacy of non-thermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality retention of strawberries. *Journal of Food Engineering*, 108, 417–426

Ali, N., Popović, V., Koutchma, T., Warriner, K., & Zhu, Y. (2020). Effect of thermal, high hydrostatic pressure, and ultraviolet-C processing on the microbial inactivation, vitamins, chlorophyll, antioxidants, enzyme activity, and color of wheatgrass juice. *Journal of Food Process Engineering*, 43(1), e13036.

Argyri, A. A., Papadopoulou, O. S., Sourri, P., Chorianopoulos, N., & Tassou, C. C. (2019). Quality and safety of fresh chicken fillets after high pressure processing: survival of indigenous *Brochothrix thermosphacta* and inoculated *Listeria monocytogenes*. *Microorganisms*, 7(11), 520.

Atmar, R. L., Opekun, A. R., Gilger, M. A., Estes, M. K., Crawford, S. E., Neill, F. H., & Graham, D. Y. (2008). Norwalk virus shedding after experimental human infection. *Emerging infectious diseases*, 14(10), 1553.

Ayvaz, H., Balasubramaniam, V. M., & Koutchma, T. (2016). High pressure effects on packaging materials. *High pressure processing of food: principles, technology and applications*, 73-93.

Baert, L., Debevere, J., & Uyttendaele, M. (2009). The efficacy of preservation methods to inactivate foodborne viruses. *International journal of food microbiology*, 131(2-3), 83-94. Balasubramaniam, V. M., Martínez, M. S., and Gupta, R. (2015). Principles and application of high pressure-based technologies in the food industry. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 6, 435–462. doi: 10.1146/annurev-food-022814-015539.

Balasubramaniam, V. M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Lelieveld, H. (Eds.). (2016). *High pressure processing of food: Principles, technology and applications*. Springer.

Balny, C., Masson, P., & Heremans, K. (2002). High pressure effects on biological macromolecules: from structural changes to alteration of cellular processes. *Biochimica et biophysica acta*, 1595(1-2), 3-10.

Bajovic, B., Bolumar, T., & Heinz, V. (2012). Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat science*, 92(3), 280-289.

Barba, F. J., Cortés, C., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2012). Study of antioxidant capacity and quality parameters in an orange juice–milk beverage after high-pressure processing treatment. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2222-2232.

Bartsch, C., Höper, D., Mäde, D., & Johne, R. (2018). Analysis of frozen strawberries involved in a large norovirus gastroenteritis outbreak using next generation sequencing and digital PCR. *Food Microbiology*, 76, 390-395.

Bartsch, S. M., Lopman, B. A., Ozawa, S., Hall, A. J., & Lee, B. Y. (2016). Global economic burden of norovirus gastroenteritis. *PloS one*, 11(4), e0151219.

Becker-Dreps, S.; Bucardo, F.; Vilchez, S.; Zambrana, L.E.; Liu, L.; Weber, D.J.; Pena, R.; Barclay, L.; Vinje, J.; Hudgens, M.G.; & Paniagua, M. (2014). Etiology of childhood diarrhea after rotavirus vaccine introduction: a prospective, population-based study in Nicaragua. *The Pediatric infectious disease journal*, 33(11), 1156-1163.

Bolumar, T., Skibsted, L.H., Orlén, V., 2012. Kinetics of the formation of radicals in meat during high pressure processing. *Food Chemistry* 134, 2114e2120.

Buckow, R., Isbarn, S., Knorr, D., Heinz, V., & Lehmacher, A. (2008). Predictive model for inactivation of feline calicivirus, a norovirus surrogate, by heat and high hydrostatic pressure. *Applied and environmental microbiology*, 74(4), 1030-1038.

Cannon, J.L.; Bonifacio, J.; Bucardo, F.; Buesa, J.; Bruggink, L.D.; Chan, M.C.W.; Fumian, T.M.; Giri, S.; Gonzalez, M.D.; Hewitt, J.; & Vinjé, J. (2021). Global trends in norovirus genotype distribution among children with acute gastroenteritis. *Emerging infectious diseases*, 27(5), 1438.

Butot, S., Putallaz, T., & Sanchez, G. (2008). Effects of sanitation, freezing and frozen storage on enteric viruses in berries and herbs. *International journal of food microbiology*, 126(1-2), 30-35.

Cardemil, C. V., Parashar, U. D., & Hall, A. J. (2017). Norovirus infection in older adults epidemiology, risk factors, and opportunities for prevention and control. *Infectious disease clinics of North America*, 31(4), 839.

(CDC) Centers for Disease Control and Prevention. Norovirus Burden and Trends. U.S. Department of Health & Human Services. <https://www.cdc.gov/norovirus/burden.html> (accessed on 15 March)

(CDC) Centers for Disease Control and Prevention (2008). Rotavirus surveillance--worldwide, 2001-2008. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 57(46), 1255-1257.

(CDC) Centers for Disease Control and Prevention. CaliciNet Data—Norovirus US Outbreak Map. Available online: <https://www.cdc.gov/norovirus/reporting/calicinet/data.html> (accessed on 1 May 2024).

Chan, M. C., Sung, J. J., Lam, R. K., Chan, P. K., Lee, N. L., Lai, R. W., & Leung, W. K. (2006). Fecal viral load and norovirus-associated gastroenteritis. *Emerging infectious diseases*, 12(8), 1278.

Chen, R., Neill, J. D., Noel, J. S., Hutson, A. M., Glass, R. I., Estes, M. K., & Prasad, B. V. (2004). Inter-and intragenus structural variations in caliciviruses and their functional implications. *Journal of virology*, 78(12), 6469-6479.

Choi, M.-S.; Jeon, E.B.; Kim, J.Y.; Choi, E.H.; Lim, J.S.; Choi, J.; Ha, K.S.; Kwon, J.Y.; Jeong, S.H.; & Park, S. Y. (2020). Virucidal effects of dielectric barrier discharge plasma on human norovirus infectivity in fresh oysters (*Crassostrea gigas*). *Foods*, 9(12), 1731.

Chhabra, P.; de Graaf, M.; Parra, G.I.; Chan, M.C.; Green, K.; Martella, V.; Wang, Q.; White, P.A.; Katayama, K.; Vennema, H.; & Vinjé, J. (2019). Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. *Journal of General Virology*, 100(10), 1393-1406

Chandran, S., & Gibson, K. E. (2024). Improving the detection and understanding of infectious human norovirus in food and water matrices: A review of methods and emerging models. *Viruses*, 16(5), 776.

Comelli, H. L., Rimstad, E., Larsen, S., & Myrmel, M. (2008). Detection of norovirus genotype I. 3b and II. 4 in bioaccumulated blue mussels using different virus recovery methods. *International Journal of Food Microbiology*, 127(1-2), 53-59.

Cruz-Romero, M., Kelly, A. L., & Kerry, J. P. (2007). Effects of high-pressure and heat treatments on physical and biochemical characteristics of oysters (*Crassostrea gigas*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(1), 30-38.

Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2470 of 20 December 2017 Establishing the Union List of Novel Foods in Accordance with Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council on Novel Foods. OJ Brussels, Belgium, 2008. L 351/72. Available online: https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2017/2470/2018-04-11 (accessed on 30 August 2020).

Cowden, J. M. (2002). Winter vomiting: infections due to Norwalk-like viruses are underestimated. *Bmj*, 324(7332), 249-250.

Campos, C. J., Kershaw, S., Morgan, O. C., & Lees, D. N. (2017). Risk factors for norovirus contamination of shellfish water catchments in England and Wales. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 318-324.

Callejón, R. M., Rodríguez-Naranjo, M. I., Ubeda, C., Hornedo-Ortega, R., Garcia-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2015). Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. *Foodborne pathogens and disease*, 12(1), 32-38.

Canto, A., Lima, B., Cruz, A.G., La 'zaro, C.A., Freitas, D., Faria, J., Torrezan, R., Freitas, M.Q., Silva, T.P., (2012). Effect of high hydrostatic pressure on the color and texture parameters of refrigerated Caiman (*Caiman crocodilus yacare*) tail meat. *Meat Science* 91, 255e260.

Cao, X., Bi, X., Huang, W., Wu, J., Hu, X., Liao, X. (2012). Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 16, 181e190.

Chandran, S., & Gibson, K. E. (2024). Improving the detection and understanding of infectious human norovirus in food and water matrices: A review of methods and emerging models. *Viruses*, 16(5), 776.

Daryaei, H., Yousef, A. E., & Balasubramaniam, V. M. (2016). Microbiological aspects of high-pressure processing of food: Inactivation of microbial vegetative cells and spores. *High pressure processing of food: principles, technology and applications*, 271-294.

DiCaprio, E., M. Ye, H. Chen, and J. Li. (2019). Inactivation of human norovirus and Tulane virus by high pressure processing in simple mediums and strawberry puree. *Front. Sustain. Food Syst.* <http://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00026>

Desai, R., Hembree, C. D., Handel, A., Matthews, J. E., Dickey, B. W., McDonald, S., ... & Lopman, B. (2012). Severe outcomes are associated with genogroup 2 genotype 4 norovirus outbreaks: a systematic literature review. *Clinical infectious diseases*, 55(2), 189-193.

Daryaei, H., Yousef, A. E., & Balasubramaniam, V. M. (2016). Microbiological aspects of high-pressure processing of food: Inactivation of microbial vegetative cells and spores. *High pressure processing of food: principles, technology and applications*, 271-294.

Dhenge R, Langialonga P, Alinovi M, Lolli V, Aldini A, Rinaldi M. Evaluation of quality parameters of orange juice stabilized by two thermal treatments (helical heat exchanger and ohmic heating) and non-thermal (high-pressure processing). *Food Control* 2022; 141: 109150. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109150>].

EFSA (European Food Safety Authority), & ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2015). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013*. *EFSA Journal*, 13(1), 3991. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3991>

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ Panel), Koutsoumanis, K., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., De Cesare, A., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Snary, E., Sofos, J., Verdonck, F., & Allende, A. (2022). The efficacy and safety of high-pressure processing of food. *EFSA Journal*, 20(3), e07128.

Elamin, W. M., Endan, J. B., Yosuf, Y. A., Shamsudin, R., & Ahmedov, A. (2015). High pressure processing technology and equipment evolution: a review. *Journal of Engineering Science & Technology Review*, 8(5).

Ethelberg, S., Lisby, M., Böttiger, B., Schultz, A.C., Villif, A., Jensen, T.H., Olsen, K.E.P., Scheutz, F., Kjelsø, C., & Muller, L. (2010). Outbreaks of gastroenteritis linked to lettuce, Denmark, January 2010. *Euro Surveill*, 15(6), 19484.

Elizondo-Montemayor, L., Hernández-Brenes, C., Ramos-Parra, P. A., Moreno-Sánchez, D., Nieblas, B., Rosas-Pérez, A. M., & Lamadrid-Zertuche, A. C. (2015). High hydrostatic pressure processing reduces the glycemic index of fresh mango puree in healthy subjects. *Food & function*, 6(4), 1352-1360.

Eshaghi Gorji, M., Tan, M. T. H., Zhao, M. Y., & Li, D. (2021). No clinical symptom experienced after consumption of berry fruits with positive RT-qPCR signals of human norovirus. *Pathogens*, 10(7), 846.

European Commission. (2017). *Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2470 of 20 December 2017 establishing the Union list of novel foods in accordance with Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council on novel foods. Official Journal of the European Union*, L 351, 72–201. Available at: https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2017/2470/2018-04-11 (Accessed: 30 August 2020).

Farkas, D. F., & Hoover, D. G. (2000). High pressure processing. *Journal of food science*, 65, 47-64.

Ferrini, G., Comaposada, J., Arnau, J., Gou, P. (2012). Colour modification in a cured meat model dried by Quick-Dry-Slice process and high pressure processed as a function of NaCl, KCl, K-lactate and water contents. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 13, 69e74.

Frange, P., Touzot, F., Debré, M., Héritier, S., Leruez-Ville, M., Cros, G., ... & Avettand-Fenoël, V. (2012). Prevalence and clinical impact of norovirus fecal shedding in children with inherited immune deficiencies. *The Journal of infectious diseases*, 206(8), 1269-1274.

Fu, J., Ai, J., Jin, M., Jiang, C., Zhang, J., Shi, C., Lin, Q., Yuan, Z., Qi, X., Bao, C., Tang, F., & Zhu, Y. (2015). Emergence of a new GII. 17 norovirus variant in patients with acute gastroenteritis in Jiangsu, China, September 2014 to March 2015. *Eurosurveillance*, 20(24), 21157.

Friesema, I. H. M., Vennema, H., Heijne, J. C. M., de Jager, C. M., Teunis, P. F. M., Van Der Linde, R., ... & Van Duynhoven, Y. T. H. P. (2009). Differences in clinical presentation between norovirus genotypes in nursing homes. *Journal of Clinical Virology*, 46(4), 341-344.

Falco, I., Randazzo, W., Pérez, A., Martínez, A., Rodrigo, D., & Sánchez, G. (2023). High pressure treatment and green tea extract synergistically control enteric virus contamination in beverages. *Food Control*, 144, Article 109384. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2022.109384>

Glass, R. I., Parashar, U. D., & Estes, M. K. (2009). Norovirus gastroenteritis. *New England Journal of Medicine*, 361(18), 1776-1785.

de Graaf, M., van Beek, J., Vennema, H., Podkolzin, A.T., Hewitt, J., Bucardo, F., Templeton, K., Mans, J., Nordgren, J., Reuter, G., & Koopmans, M. P. (2015). Emergence of a novel GII. 17 norovirus—End of the GII. 4 era?. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin*, 20(26), 21178.

de Graaf, M., van Beek, J., & Koopmans, M. P. (2016). Human norovirus transmission and evolution in a changing world. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 421-433.

de Graaf, M. van Beek, J., Vennema, H., Podkolzin, A. T., Hewitt, J., Bucardo, F., Templeton, K. , Mans, J., Nordgren, J. , Reuter, G. , Lynch, M. , Rasmussen, L. D. , Iritani, N. , Chan, M. C. , Martella, V. , Ambert-Balay, K., Vinjé, J., White P. A., & Koopmans, M. P. (2015). Emergence of a novel GII. 17 norovirus—End of the GII. 4 era?. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin*, 20(26), 21178

Grove SF, Lee A, Lewis T, Stewart CM, Chen H, Hoover DG. (2006). Inactivation of foodborne viruses of significance by high pressure and other processes. *J Food Prot* 69:957–968.

Green, K. Y. (2014). Norovirus infection in immunocompromised hosts. *Clin. Microbiol. Infect.* 20, 717–723

Govaris, A., & Pexara, A. (2021). Inactivation of foodborne viruses by high-pressure processing (HPP). *Foods*, 10(2), 215. <https://doi.org/10.3390/foods10020215>

Gyawali, P., Fletcher, G. C., McCoubrey, D.-J., & Hewitt, J. (2019). Norovirus in shellfish: An overview of post-harvest treatments and their challenges. *Food Control*, 99, 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.049>

Greig, J. D., & Lee, M. B. (2012). A review of nosocomial norovirus outbreaks: infection control interventions found effective. *Epidemiology & Infection*, 140(7), 1151-1160.

Gaweł, S., Wardas, M., Niedworok, E., & Wardas, P. (2004). Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, 57(9-10), 453-455.

Gyawali, P., Kc, S., Beale, D. J., & Hewitt, J. (2019). Current and emerging technologies for the detection of norovirus from shellfish. *Foods*, 8(6), 187.

Gaweł, S., Wardas, M., Niedworok, E., & Wardas, P. (2004). Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, 57(9-10), 453-455.

Gómez, B., Munekata, P. E., Barba, F. J., Pinto, C. A., Saraiva, J. A., & Lorenzo, J. M. (2021). Influence of high-pressure processing on the nutritional changes of treated foods.

Hall, A. J., Vinjé, J., Lopman, B., Park, G. W., Yen, C., Gregoricus, N., & Parashar, U. (2011). Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR Recomm Rep*, 60(RR-3), 1-18.

Hall, A. J., Curns, A. T., McDonald, L. C., Parashar, U. D., & Lopman, B. A. (2012). The roles of *Clostridium difficile* and norovirus among gastroenteritis-associated deaths in the United States, 1999–2007. *Clinical Infectious Diseases*, 55(2), 216-223.

Hall, A. J., Eisenbart, V. G., Etingüe, A. L., Gould, L. H., Lopman, B. A., & Parashar, U. D. (2012). Epidemiology of foodborne norovirus outbreaks, United States, 2001–2008. *Emerging infectious diseases*, 18(10), 1566.

Hall, A. J., Lopman, B. A., Payne, D. C., Patel, M. M., Gastañaduy, P. A., Vinjé, J., & Parashar, U. D. (2013). Norovirus disease in the United States. *Emerging infectious diseases*, 19(8), 1198.

Hall, A. J., Wikswo, M. E., Pringle, K., Gould, L. H., & Parashar, U. D. (2014). Vital signs: foodborne norovirus outbreaks—United States, 2009–2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 63(22), 491-5.

Huang, H. W., Hsu, C. P., & Wang, C. Y. (2020). Healthy expectations of high hydrostatic pressure treatment in food processing industry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 28(1), 1-13.

Huang, R., Ye, M., Li, X., Ji, L., Karwe, M., & Chen, H. (2016). Evaluation of high hydrostatic pressure inactivation of human norovirus on strawberries, blueberries, raspberries and in their purees. *International Journal of Food Microbiology*, 223, 17–24. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2016.02.002>

He, H., Adams, R. M., Farkas, D. F., & Morrissey, M. T. (2002). Use of high-pressure processing for oyster shucking and shelf-life extension. *Journal of Food Science*, 67(2), 640-645.

Huynen, P., Mauroy, A., Martin, C., Savadogo, L. G. B., Boreux, R., Thiry, E., ... & De Mol, P. (2013). Molecular epidemiology of norovirus infections in symptomatic and asymptomatic children from Bobo Dioulasso, Burkina Faso. *Journal of Clinical Virology*, 58(3), 515-521.

Harris, J. P., Edmunds, W. J., Pebody, R., Brown, D. W. & Lopman, B. A. Deaths from norovirus among the elderly, England and Wales. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 1546–1552 (2008).

Honjo, S., Kuronuma, K., Fujiya, Y., Nakae, M., Ukae, S., Nihira, H., Yamamoto, M., Akane, Y., Kondo, K., Takahashi, S., & Tsugawa, T. (2022). Genotypes and transmission routes of noroviruses causing sporadic acute gastroenteritis among adults and children, Japan, 2015–2019. *Infection, Genetics and Evolution*, 104, 105348

Heymann, D. L. (2023). Control of Communicable Diseases Manual . *Journal of Environmental Health*, 85(10), 35-36.

Hardstaff, J. L., Clough, H. E., Lutje, V., McIntyre, K. M., Harris, J. P., Garner, P., & O'Brien, S. J. (2018). Foodborne and food-handler norovirus outbreaks: a systematic review. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(10), 589-597.

Hygreeva, D., & Pandey, M. C. (2016). Novel approaches in improving the quality and safety aspects of processed meat products through high pressure processing technology- A review. *Trends in Food Science & Technology*, 54, 175-185.

Imamura, S., H. Kanezashi, T. Goshima, A. Suto, Y. Ueki, N. Sugawara, H. Ito, B. Zou, M. Uema, M. Noda, & Akimoto, K. (2017). Effect of high-pressure processing on human noroviruses in laboratory-contaminated oysters by bio-accumulation. *Foodborne pathogens and disease*, 14(9), 518-523.

Imamura, S., H. Kanezashi, T. Goshima, A. Suto, Y. Ueki, N. Sugawara, H. Ito, B. Zou, C. Kawasaki, T. Okada, M. Uema, M. Noda, & Akimoto, K. (2018). Effect of high pressure processing on a wide variety of human noroviruses naturally present in aquacultured Japanese oysters. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(10), 621-626.

ISO15216-2:2019; Microbiology of the Food Chain—Horizontal Method for Determination of Hepatitis A Virus and Norovirus Using Real-Time RT-PCR. International Organization for Standardization (ISO): Geneva Switzerland, 2019. Available online: <https://www.iso.org/standard/74263.html> (accessed on 15 March 2024)

Jadhav, H. B., Annapure, U. S., & Deshmukh, R. R. (2021). Non-thermal technologies for food processing. *Frontiers in Nutrition*, 8, 657090.

Jeon, E. B., Jeong, H. S., & Park, S. Y. (2024). Antiviral activity of high pressure processing of Korean fermented clam jeotgal against human norovirus GII. 4 infectivity. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1396693.

Jung, Y.; Jang, H.; Matthews, K.R. Effect of the food production chain from farm practices to vegetable processing on outbreak incidence. *Microb. Biotechnol.* 2014, 7, 517–527

Gao, J., Xue, L., Li, Y., Zhang, J., Dai, J., Ye, Q., Shi Wu, Qihui Gu, Youxiong Zhang, Xianhu Wei, & Wu, Q. (2024). A systematic review and meta-analysis indicates a high risk of human noroviruses contamination in vegetable worldwide, with GI being the predominant genogroup. *International Journal of Food Microbiology*, 413, 110603.

Kebede, B., Lee, P. Y., Leong, S. Y., Kethireddy, V., Ma, Q., Aganovic, K., Eyres, G. T., Hamid, N., & Oey, I. (2018). A Chemometrics Approach Comparing Volatile Changes during the Shelf Life of Apple Juice Processed by Pulsed Electric Fields, High Pressure and Thermal Pasteurization. *Foods*, 7(10), 169. <https://doi.org/10.3390/foods7100169>

Kirk, M., Pires, S.M., Black, R.E., Caipo, M., Crump, J.A., Devleesschauwer, B., Döpfer, D., Fazil, A., Fischer-Walker, C., Hald, T., & Angulo, F. J. (2015). World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. *PLoS medicine*, 12(12), e1001921.

Kingsley, D. H., Hoover, D. G., Papafragkou, E. F. I., & Richards, G. P. (2002). Inactivation of hepatitis A virus and a calicivirus by high hydrostatic pressure. *Journal of food protection*, 65(10), 1605-1609.

Kingsley, D. H., Holliman, D. R., Calci, K. R., Chen, H., & Flick, G. J. (2007). Inactivation of a norovirus by high-pressure processing. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(2), 581-585.

Kingsley, D. H., & Chen, H. (2009). Influence of pH, salt, and temperature on pressure inactivation of hepatitis A virus. *International Journal of Food Microbiology*, 130(1), 61-64.

Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., & Schoessler, K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual review of food science and technology*, 2(1), 203-235.

Koopmans, M. (2008). Progress in understanding norovirus epidemiology. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 21(5), 544-552. <https://doi.org/10.1097/QCO.0B013E3283108965>

Koutchma, T. (2014). *Adapting high hydrostatic pressure (HPP) for food processing operations*. Academic Press.

Kroneman A, Vennema H, Harris J, Reuter G, von Bonsdorff CH, Hedlund KO, Vainio K, Jackson V, Pothier P, Koch J, Schreier E, Böttiger BE, Koopmans M, & Food-borne viruses in Europe network. (2006). Increase in norovirus activity reported in Europe. *Euro surveillance: bulletin européen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin*, 11(12), E061214-1.

Kroneman A, Verhoef L, Harris J, Vennema H, Duizer E, van Duynhoven Y, ... & Koopmans, M. (2008). Analysis of integrated virological and epidemiological reports of norovirus outbreaks collected within the Foodborne Viruses in Europe network from 1 July 2001 to 30 June 2006. *Journal of clinical microbiology*, 46(9), 2959-2965.

Kroneman, A., Vega, E., Vennema, H., Vinje, J., White, P.A., Hansman, G., Green, K., Martella, V., Katayama, K., Koopmans, M. (2013). Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Archives of virology*, 158, 2059-2068.

Kumar, A., Sehrawat, R., Swer, T. L., & Upadhyay, A. (2018). High pressure processing of fruits and vegetables processing. In *Technological interventions in the processing of fruits and vegetables* (pp. 165-184). Apple Academic Press.

Lee, H.M., Kwon, J., Choi, J.S., Lee, K.H., Yang, S., Ko, S.M., Chung, J.K., Cho, S.Y., & Kim, D. (2013). Rapid detection of norovirus from fresh lettuce using immunomagnetic separation and a quantum dots assay. *Journal of food protection*, 76(4), 707-711.

Lee, B. E., & Pang, X. L. (2013). New strains of norovirus and the mystery of viral gastroenteritis epidemics. *CMAJ*, 185(16), 1381-1382.

Le Guyader, F. S., Atmar, R. L., and Le Pendu, J. (2012). Transmission of viruses through shellfish: when specific ligands come into play. *Curr. Opin. Virol.* 2, 103–110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2011.10.029>

Leifels, M., Cheng, D., Sozzi, E., Shoults, D. C., Wuertz, S., Mong kolsuk, S., & Sirikanchana, K. (2020). Capsid integrity quantitative PCR to determine virus infectivity in environmental and food applications—a systematic review. *Water Research X*, 11, 100080. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2020.100080>

Le Mennec, C., Parnaudeau, S., Rumebe, M., Le Saux, J. C., Piquet, J. C., & Le Guyader, S. F. (2017). Follow-up of norovirus contamination in an oyster production area linked to repeated outbreaks. *Food and Environmental Virology*, 9, 54-61.

Leon, J. S., Kingsley, D. H., Montes, J. S., Richards, G. P., Lyon, G. M., Abdulhafid, G. M., Seitz, S. R., Fernandez, M. L., Teunis, P. F., Flick, G. J., & Moe, C. L. (2011). Randomized, double-blinded clinical trial for human norovirus inactivation in oysters by high hydrostatic pressure processing. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(15), 5476- 5482

Liao, Y., Hong, X., Wu, A., Jiang, Y., Liang, Y., Gao, J., ... & Kou, X. (2021). Global prevalence of norovirus in cases of acute gastroenteritis from 1997 to 2021: an updated systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 161, 105259.

Li, Y., Xue, L., Gao, J., Cai, W., Zhang, Z., Meng, L., Miao, S., Hong, X., Xu, M., Wu, Q., & Zhang, J. (2023). A systematic review and meta-analysis indicates a substantial burden of human noroviruses in shellfish worldwide, with GII. 4 and GII. 2 being the predominant genotypes. *Food Microbiology*, 109, 104140

Li, X., Ye, M., Neetoo, H., Golovan, S., & Chen, H. (2013). Pressure inactivation of Tulane virus, a candidate surrogate for human norovirus and its potential application in food industry. *International journal of food microbiology*, 162(1), 37-42.

Li, X.; Chen, H.; Kingsley, D.H. (2013). The influence of temperature, pH, and water immersion on the high hydrostatic pressure inactivation of GI.1 and GII.4 human noroviruses. *Int. J. Food Microbiol.*, 167,138–143.

Lim, S. H., Chin, N. L., Sulaiman, A., Tay, C. H., & Wong, T. H. (2022). Sensory analysis for cow milk product development using high pressure processing (HPP) in the dairy industry. *Foods*, 11(9), 1233.

Lima, G.P.P., Vianello, F., Corrêa, C.R., da Silva Campos, R.A. & Borguini, M.G. (2014). Polyphenols in fruits and vegetables and its effect on human health. *Food and Nutrition sciences*, 5, 1065–1082

Lopman, B., Gastanaduy, P., Park, G. W., Hall, A. J., Parashar, U. D., & Vinjé, J. (2012). Environmental transmission of norovirus gastroenteritis. *Current opinion in virology*, 2(1), 96-102.

Lou, F., Neetoo, H., Chen, H.Q. & Li, J.R. (2011). Inactivation of a Human Norovirus Surrogate by High-Pressure Processing: Effectiveness, Mechanism, and Potential Application in the Fresh Produce Industry. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5), pp. 1862–1871. <https://doi.org/10.1128/AEM.01918-10>

Lou, F., H. Neetoo, H. Chen, and J. Li. (2015). High hydrostatic pressure processing: a promising nonthermal technology to inactivate viruses in high-risk foods. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 6:389–409.

Lou, F., M. Ye, Y. Ma, X. Li, E. DiCaprio, H. Chen, S. Krakowka, J. Hughes, D. Kingsley, and J. Li. (2015). A gnotobiotic pig model for determining human norovirus inactivation by high-pressure processing. *Appl. Environ. Microbiol.* 81:6679–6687

Lou, F., DiCaprio, E., Li, X., Dai, X., Ma, Y., Hughes, J., Chen, H., Kingsley, D.H., & Li, J. (2016). Variable high-pressure-processing sensitivities for genogroup II human noroviruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(19), 6037-6045.

Lou, F., Huang, P., Neetoo, H., Gurtler, J.B., Niemira, B.A., Chen, H., Jiang, X., & Li, J. (2012). High-pressure inactivation of human norovirus virus-like particles provides evidence that the capsid of human norovirus is highly pressure resistant. *Applied and environmental microbiology*, 78(15), 5320-5327.

Lysén, M., Thorhagen, M., Brytting, M., Hjertqvist, M., Andersson, Y., & Hedlund, K. O. (2009). Genetic diversity among food-borne and waterborne norovirus strains causing outbreaks in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(8), 2411-2418.

Martinez-Monteagudo, S. I., & Saldana, M. D. (2014). Chemical reactions in food systems at high hydrostatic pressure. *Food Engineering Reviews*, 6, 105-127.

Marušić Radovčić, N., Ježek, D., Markov, K., Frece, J., Ćurić, D., & Medić, H. (2019). The effect of high pressure treatment on the quality of chicken breast meat. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 14(3-4), 76-81.

Maunula, L., Roivainen, M., Keränen, M., Mäkelä, S., Söderberg, K., Summa, M., Von Bonsdorff, C.H., Lappalainen, M., Korhonen, T., Kuusi, M., & Niskanen, T. (2009). Detection of human norovirus from frozen raspberries in a cluster of gastroenteritis outbreaks. *Eurosurveillance*, 14(49), 19435.

McInerney, J. K., Seccafien, C. A., Stewart, C. M., & Bird, A. R. (2007). Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. *Innovative food science & emerging technologies*, 8(4), 543-548.

Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., & Tauxe, R. V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging infectious diseases*, 5(5), 607.

Meeroff, J. C., Schreiber, D. S., Trier, J. S. & Blacklow, N. R. (1980). Abnormal gastric motor function in viral gastroenteritis. *Ann. Intern. Med.* 92, 370–373

Milbrath, M. O., Spicknall, I. H., Zelner, J. L., Moe, C. L. & Eisenberg, J. N. (2013). Heterogeneity in norovirus shedding duration affects community risk. *Epidemiol. Infect.* 141, 1572–1584.

Mootian, G. K., Flimlin, G. E., Karwe, M. V., & Schaffner, D. W. (2013). Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in hard clams (*Mercanaria mercanaria*) by high hydrostatic pressure (HHP) and the effect of HHP on the physical characteristics of hard clam meat. *Journal of food science*, 78(2), E251-E257.

Mukhtar, K., Nabi, B.G., Arshad, R.N., Roobab, U., Yaseen, B., Ranjha, M.M.A.N., Aadil, R.M., & Ibrahim, S. A. (2022). Potential impact of ultrasound, pulsed electric field, high-pressure processing and microfluidization against thermal treatments preservation regarding sugarcane juice (*Saccharum officinarum*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 90, 106194.

Müller, L., Rasmussen, L.D., Jensen, T.W., Schultz, A.C., Kjelsø, C., Barnadas, C., Sigsgaard, K., Larsen, A.R., Jensen, C.W., Jeppesen, S., & Ethelberg, S. (2016). Series of norovirus outbreaks caused by consumption of green coral lettuce, Denmark, April 2016. *PLoS Currents*, 8, ecurrents-outbreaks.

Murchie, L.W., Cruz-Romero, M., Kerry, J.P., Linton, M., Patterson, M.F., Smiddy, M., Kelly, A.L., 2005. High pressure processing of shellfish: a review of microbiological and other quality aspects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 257e270.

- Nagarajarao, R. C. (2016). Recent advances in processing and pack aging of fishery products: A review. *Aquatic Procedia*, 7, 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.028>
- Nordgren, J., Kindberg, E., Lindgren, P. E., Matussek, A., & Svensson, L. (2010). Norovirus gastroenteritis outbreak with a secretor-independent susceptibility pattern, Sweden. *Emerging infectious diseases*, 16(1), 81.
- Oey, I., Lille, M., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2008). Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit-and vegetable-based food products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(6), 320-328.
- Paciulli, M., Ganino, T., Meza, I. G. M., Rinaldi, M., Rodolfi, M., Morbarigazzi, M., & Chiavaro, E. (2021). High pressure and thermal processing on the quality of zucchini slices. *European Food Research and Technology*, 247, 475-484.
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., ... & Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *bmj*, 372.
- Pandiscia, A., Falcó, I., Terio, V., Martínez, A., Sánchez, G., Rodrigo, D., & Randazzo, W. (2024). Survival modelling of infectious human norovirus and surrogates for high-pressure inactivation in strawberry puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 94, 103702. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2024.103702>
- Parra, G. I., Squires, R. B., Karangwa, C. K., Johnson, J. A., Lepore, C. J., Sosnovtsev, S. V., & Green, K. Y. (2017). Static and evolving norovirus genotypes: implications for epidemiology and immunity. *PLoS pathogens*, 13(1), e1006136.
- Parra, G. I. (2019). Emergence of norovirus strains: A tale of two genes. *Virus evolution*, 5(2), vez048.
- Parshionikar, S., Laseke, I., & Fout, G. S. (2010). Use of propidium monoazide in reverse transcriptase PCR to distinguish between infectious and noninfectious enteric viruses in water samples. *Applied and environmental microbiology*, 76(13), 4318-4326.
- Patel, M. M., Widdowson, M. A., Glass, R. I., Akazawa, K., Vinje, J., & Parashar, U. D. (2008). Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerging infectious diseases*, 14(8), 1224.
- Patterson, M. F. (2005). Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of applied microbiology*, 98(6), 1400-1409.
- Pexara, A., & Govaris, A. (2020). Foodborne viruses and innovative non-thermal food-processing technologies. *Foods*, 9(11), 1520.
- Rachmadi, A. T., Gyawali, P., Summers, G., Javed, A., Fletcher, G. C., & Hewitt, J. (2024). PMAXX-RT-qPCR to Determine Human Norovirus Inactivation Following High-

Pressure Processing of Oysters. *Food and Environmental Virology*, 16(2), 171–179. <https://doi.org/10.1007/s12560-024-09585-4>

Rendueles, E., Omer, M. K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., & Prieto, M. (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 44(5), 1251-1260.

Roobab, U., Inam-Ur-Raheem, M., Khan, A. W., Arshad, R. N., Zeng, X. A., & Aadil, R. M. (2023). Innovations in high-pressure technologies for the development of clean label dairy products: a review. *Food Reviews International*, 39(2), 970-991.

Richards, G. P. (2012). Critical review of norovirus surrogates in food safety research: rationale for considering volunteer studies. *Food and environmental virology*, 4, 6-13.

Rincé, A.; Balière, C.; Heath, D.H.; Cozien, J.; Lozach, S.; Parnaudeau, S.; Le Guyader, F.S.; Hello, S.L.; Giard, J.; Sauvageot, N.; & Gourmelon, M. (2018). Occurrence of bacterial pathogens and human noroviruses in shellfish-harvesting areas and their catchments in France. *Frontiers in microbiology*, 9, 2443.

Roos, Y. H. (2020). Water and pathogenic viruses inactivation—food engineering perspectives. *Food Engineering Reviews*, 12(3), 251-267.

Roy, P. K., Jeon, E. B., Kim, J. Y., & Park, S. Y. (2023). Application of high-pressure processing (or high hydrostatic pressure) for the inactivation of human norovirus in Korean traditionally preserved raw crab. *Viruses*, 15(7), 1599.

de Rougemont, A., Ruvoen-Clouet, N., Simon, B.; Estienney, M., Elie-Caille, C., Aho, S., Pothier, P., Le Pendu, J., Boireau, W., & Belliot, G. (2011). Qualitative and quantitative analysis of the binding of GII. 4 norovirus variants onto human blood group antigens. *Journal of virology*, 85(9), 4057-4070.

Sabrià, A., Pintó, R. M., Bosch, A., Bartolomé, R., Cornejo, T., Torner, N., ... & Guix, S. (2016). Norovirus shedding among food and healthcare workers exposed to the virus in outbreak settings. *Journal of Clinical Virology*, 82, 119-125.

Schwartz, S., Vergoulidou, M., Schreier, E., Loddenkemper, C., Reinwald, M., Schmidt-Hieber, M., Flegel, W. A., Thiel, E., & Schneider, T. (2011). Norovirus gastroenteritis causes severe and lethal complications after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 117(22), 5850-5856.

Schreiber, D. S., Blacklow, N. R., & Trier, J. S. (1974). The small intestinal lesion induced by Hawaii agent acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *Journal of Infectious Diseases*, 129(6), 705-708.

Shah, M. P., & Hall, A. J. (2017). Global disease burden of foodborne illnesses associated with norovirus. In *The Norovirus* (pp. 3-19). Academic Press.

Shah, M. P., & Hall, A. J. (2018). Norovirus illnesses in children and adolescents. *Infectious Disease Clinics*, 32(1), 103-118.

Sharma, R. (2011). Market trends in high pressure processing (HPP) food. *The University of Queensland: Queensland, Australia*.

Sido, R. F., Huang, R., Liu, C., & Chen, H. (2017). High hydrostatic pressure inactivation of murine norovirus and human noroviruses on green onions and in salsa. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 1-6.

Siebenga, J. J., Beersma, M. F., Vennema, H., van Biezen, P., Hartwig, N. J., & Koopmans, M. (2008). High prevalence of prolonged norovirus shedding and illness among hospitalized patients: a model for in vivo molecular evolution. *The Journal of infectious diseases*, 198(7), 994-1001.

Siebenga, J. J., Vennema, H., Zheng, D. P., Vinjé, J., Lee, B. E., Pang, X. L., ... & Koopmans, M. (2009). Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII. 4 variants, 2001–2007. *The Journal of infectious diseases*, 200(5), 802-812.

Song, M.G., Kim, S.H., Jeon, E.B., Ha, K.S., Cho, S.R., Jung, Y.J., Choi, E.H., Lim, J.S., Choi, J., & Park, S. Y. (2023). Inactivation of Human Norovirus GII. 4 and *Vibrio parahaemolyticus* in the Sea Squirt (*Halocynthia roretzi*) by Floating Electrode-Dielectric Barrier Discharge Plasma. *Foods*, 12(5), 1030

Sousa, S. G., Delgadillo, I., & Saraiva, J. A. (2014). Effect of thermal pasteurisation and high-pressure processing on immunoglobulin content and lysozyme and lactoperoxidase activity in human colostrum. *Food Chemistry*, 151, 79-85.

Stanley, P. (2011). Golgi glycosylation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(4), a005199.

Stratakos, A. C., Inguglia, E. S., Linton, M., Tollerton, J., Murphy, L., Corcionivoschi, N., Koidis, A., & Tiwari, B. K. (2019). Effect of high-pressure processing on the safety, shelf life and quality of raw milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 325-333.

Tamm, A., Bolumar, T., Bajovic, B., & Toepfl, S. (2016). Salt (NaCl) reduction in cooked ham by a combined approach of high pressure treatment and the salt replacer KCl. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 294-302.

Teunis, P. F., Moe, C. L., Liu, P., Miller, S. E., Lindesmith, L., and Baric, R. S. (2008). Norwalk virus: how infectious is it? *J. Med. Virol.* 80, 1468–1476. doi: 10.1002/jmv.21237

Teunis, P. F., Sukhrie, F. H., Vennema, H., Bogerman, J., Beersma, M. F., and Koopmans, M. P. (2015). Shedding of norovirus in symptomatic and asymptomatic infections. *Epidemiol. Infect.* 143, 1710–1717. doi: 10.1017/s095026881400274x

Thorne, L. G., & Goodfellow, I. G. (2014). Norovirus gene expression and replication. *Journal of General Virology*, 95(2), 278-291.

Thorven, M., Grahn, A., Hedlund, K. O., Johansson, H., Wahlfrid, C., Larson, G., & Svensson, L. (2005). A homozygous nonsense mutation (428G→A) in the human secretor (FUT2) gene provides resistance to symptomatic norovirus (GGII) infections. *Journal of virology*, 79(24), 15351-15355.

Thakur, B. R., & Nelson, P. E. (1998). High-pressure processing and preservation of food. *Food Reviews International*, 14(4), 427-447.

Tian, P.; Mandrell, R.E. (2006). Detection of norovirus capsid proteins in faecal and food samples by a real time immuno-PCR method. *Journal of Applied Microbiology*, 100(3), 564-574.

Tong, L., Ding, G., Yang, M., Su, L., Wang, S., Wang, Y., Zheng L, Zhou D & Zhao, F. (2023). High-hydrostatic-pressure inactivation of GI. 5 and GII. 4 human norovirus and effects on the physical, chemical, and taste characteristics of oyster (*Crassostrea virginica*). *LWT*, 176, 114554.

Tran, T. H., Trainor, E., Nakagomi, T., Cunliffe, N. A., & Nakagomi, O. (2013). Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: global distribution of genogroups, genotypes and GII. 4 variants. *Journal of clinical virology*, 56(3), 269-277.

Trivedi, T. K., Desai, R., Hall, A. J., Patel, M., Parashar, U. D., & Lopman, B. A. (2013). Clinical characteristics of norovirus-associated deaths: a systematic literature review. *American journal of infection control*, 41(7), 654-657.

Tsevdou, M., Dimopoulos, G., Gogou, E., Dermesonlouoglou, E., & Taoukis, P. (2022). Nonthermal Processing Technologies: Synergies and new applications in food engineering. In *Nonthermal Processing in Agri-Food-Bio Sciences: Sustainability and Future Goals* (pp. 311-384). Cham: Springer International Publishing.

Troeger, H., Loddenkemper, C., Schneider, T., Schreier, E., Eppe, H. J., Zeitz, M., Fromm, M., & Schulzke, J. D. (2009). Structural and functional changes of the duodenum in human norovirus infection. *Gut*, 58(8), 1070-1077.

van den Berg, R. W., Hoogland, H., Lelieveld, H. L. M., & Van Schepdael, L. (2001). High pressure equipment designs for food processing applications. In *Ultra high pressure treatments of foods* (pp. 297-313). Boston, MA: Springer US.

Verhoef, L., Hewitt, J., Barclay, L., Ahmed, S., Lake, R., Hall, A. J., ... & Koopmans, M. (2015). Norovirus Genotype Profiles Associated with Foodborne Transmission, 1999?" 2012. *Emerging infectious diseases*, 21(4), 592.

Vinje, J. (2015). Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *Journal of clinical microbiology*, 53(2), 373-381.

Wales, S. Q., Pandiscia, A., Kulka, M., Sanchez, G., & Randazzo, W. (2024). Challenges for estimating human norovirus infectivity by viability RT-qPCR as compared to replication in human intestinal enteroids. *International Journal of Food Microbiology*, 411, Article 110507. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110507>

Wilkinson, N., Kurdziel, A. S., Langton, S., Needs, E., & Cook, N. (2001). Resistance of poliovirus to inactivation by high hydrostatic pressures. *Innovative food science & emerging technologies*, 2(2), 95-98.

Wikswø, M. E., & Hall, A. J. (2012). Outbreaks of acute gastroenteritis transmitted by person-to-person contact—United States, 2009–2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries*, 61(9), 1-12.

Wiśniewski, P., Chajęcka-Wierzchowska, W., & Zadernowska, A. (2023). Impact of High-Pressure Processing (HPP) on *Listeria monocytogenes*—An Overview of Challenges and Responses. *Foods*, 13(1), 14.

Woods, J. W., Calci, K. R., Marchant-Tambone, J. G., & Burkhardt III, W. (2016). Detection and molecular characterization of norovirus from oysters implicated in outbreaks in the US. *Food Microbiology*, 59, 76-84.

Wu, W., Xiao, G., Yu, Y., Xu, Y., Wu, J., Peng, J., & Li, L. (2021). Effects of high pressure and thermal processing on quality properties and volatile compounds of pineapple fruit juice. *Food Control*, 130, 108293.

Ye, M., Li, X., Kingsley, D. H., Jiang, X., & Chen, H. (2014). Inactivation of human norovirus in contaminated oysters and clams by high hydrostatic pressure. *Applied and environmental microbiology*, 80(7), 2248-2253.

Ye, M., Lingham, T., Huang, Y., Ozbay, G., Ji, L., Karwe, M., & Chen, H. (2015). Effects of high-hydrostatic pressure on inactivation of human norovirus and physical and sensory characteristics of oysters. *Journal of food science*, 80(6), M1330-M1335.

Yildiz, S., Pokhrel, P. R., Unluturk, S., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2021). Changes in quality characteristics of strawberry juice after equivalent high pressure, ultrasound, and pulsed electric fields processes. *Food Engineering Reviews*, 13, 601-612.

Zou, H., Lin, T., Bi, X., Zhao, L., Wang, Y., & Liao, X. (2016). Comparison of high hydrostatic pressure, high-Pressure Carbon dioxide and high-temperature short-time processing on quality of mulberry juice. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 217-231.

(KE.EA.II.NO.) <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/06/Enimerotiko-deltio.pdf>