

comisión del codex alimentarius

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS
PARA LA AGRICULTURA DE LA SALUD
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN MUNDIAL

OFICINA CONJUNTA: viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tel: 57051 Telex: 625825-625853FAO I Email: Codex@faol.org Facsimile: 39(06)5705.4593

Tema 11 del Programa

**CX/FH 99/11
octubre de 1999**

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS

Trigésimo-segunda Sesión

Washington, DC, EUA, 29 de noviembre al 4 de diciembre de 1999

S

Documento de Debate sobre los Virus en los Alimentos

(Preparado por los Países Bajos, con la asistencia de Finlandia, Alemania, Italia, EUA)

HISTORIA

En la 31ª Sesión del Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos, la Delegación de los Países Bajos adelantó para la revisión del Comité un documento científico sobre los calicivirus¹ y propuso que el CCFH contemplara los riesgos para la inocuidad de los alimentos, asociados con los virus, con una vista hacia la elaboración de recomendaciones para su control.

El Comité estudió el papel y reconoció que, mientras se está esperando la formación de un cuerpo de consejo de expertos sobre la evaluación de riesgos microbiológicos, podría ser conveniente revisar los temas relacionados con las enfermedades víricas transmitidas por los alimentos, dentro de la estructura de un documento de debate, con el fin de clarificar la tema.

El Comité concordó con que la Delegación de los Países Bajos preparara un documento de debate sobre el mencionado tema en colaboración con algunos otros países interesados².

Los representantes del Grupo del Anteproyecto (dirigido por los Países Bajos con la ayuda de Finlandia, Alemania, Italia y los Estados Unidos de América) reunieron y elaboraron el presente *Documento de Debate sobre Infecciones Víricas Transmitidas por los Alimentos*.

El presente documento proporciona una revisión comprensiva del gastroenteritis transmitido por los alimentos y por agua, con énfasis en los calicivirus y hepatitis. El documento también contempla los productos alimenticios de alto riesgo, la detección de los virus en el agua y en alimentos y el estado actual de su prevención y desinfección.

¹ CRD 23, *Infecciones de los calicivirus semejantes al Norwalk (sin. Los virus de estructura pequeña y redonda, SRSV)*. M. Koopmans.

² ALINORM 99/13A, párrafos 116 – 118.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones víricas transmitidas por los alimentos y agua con más frecuencia se reconocen como las causas de enfermedades en los seres humanos. Las razones más probables del acrecentamiento de estas enfermedades son los ensayos mejorados que han incrementado la detección de algunos grupos de virus, y los cambios en el proceso de alimentos y patrones de consumo que resultan en la disponibilidad mundial de alimentos de alto riesgo (32). Como resultado, pueden suceder brotes grandes, debido a la contaminación de alimentos por un sólo manejador de alimentos o en un sólo abastecedor, tal como se ha documentado en varias ocasiones para el grupo Norwalk de virus.

Se pueden encontrar numerosos virus en el tracto intestinal del ser humano (Cuadro 1). Los virus transmitidos por los alimentos y agua pueden dividirse en tres clases de enfermedades:

i) Los virus que causan el gastro-enteritis (los astrovirus, rotavirus, adenovirus tipos 40 y 41, y los dos géneros de los calicivirus entéricos, los virus de estructura pequeña y redonda o "los virus semejantes al Norwalk" (NLV), y los calicivirus típicos o "los virus parecidos al Sapporo", (SLV).

ii) Los virus de hepatitis transmitidos oralmente o por heces: el virus hepatitis A (HAV), el virus hepatitis E (HEV).

iii) Los virus que ocasionan otras enfermedades, p.ej. los enterovirus.

Además, se indican varios virus que también se replican en el tracto intestinal, pero que no son implicados en la transmisión por los alimentos, o que el papel de ellos es desconocido.

Los virus, en contraste con los bacterios, parásitos son estrictamente intracelulares y no se pueden replicar en los alimentos o en agua. Por eso, la contaminación vírica de los alimentos no se incrementará durante su elaboración, y en realidad puede decrementarse. Esto implica que la infección vírica por medio de los alimentos contaminados depende de los siguientes factores:

1. La estabilidad vírica
2. Las cantidades de virus mudadas/ nivel de contaminación vírica
3. El tratamiento de los alimentos o agua
4. La probabilidad de infección después de la ingestión de 1 partícula del virus
5. La susceptibilidad del huésped.

La mayoría de los virus transmitidos por los alimentos o agua son relativamente resistentes al calor, desinfección y cambios en el pH. No es coincidencia que la mayoría de los grupos de virus implicados en los brotes son partículas pequeños, no envueltos, en vez de los virus grandes, frágiles y envueltos. Los problemas en la detección de la contaminación vírica de los alimentos o agua son – en general – que los productos contaminados tendrán la apariencia, olor, y sabor normales, y que los métodos (moleculares) de diagnóstico para la mayoría de estos virus no son de disponibilidad rutina en los laboratorios de microbiología de alimentos. En el presente documento se contemplarán las causas víricas mayores de las infecciones transmitidas por los alimentos. Hemos dado énfasis en aquellos virus que son más habitualmente transmitidos por los alimentos, en particular los caliciviruses y el virus hepatitis A.

Cuadro 1. Los enterovirus agrupados de acuerdo con el síndrome clínico asociado.

<i>Gastroenteritis</i>	<i>Posible gastroenteritis</i>
Rotavirus grupos A, B, C	Picobirnavirus
Adenovirus tipos 40,41	Torovirus
Astrovirus serotipos 1-8	Coronavirus
Los calicivirus similares al Norwalk	Citomegalovirus
Los calicivirus similares al Sapporo	HIV
	Los virus similares al Parvo, SRFV (Wollan, Ditchling)
<i>Hepatitis</i>	OTROS
Virus Hepatitis A	Enteroviruses: <ul style="list-style-type: none"> • polio 1-3 • coxsackie A 1-22, 24 • coxsackie B 1-6 • eco 1-9, 11-27, 29-34 • entero 68-71
Virus Hepatitis E	¿Parvovirus?

1.2. TENDENCIAS INTERNACIONALES

Se está reconociendo con más frecuencia la importancia de la transmisión de los virus por los alimentos, y la Organización Mundial de la Salud ha señalado una tendencia del crecimiento en su incidencia. También se entiende que el peso de la infección está gravemente menospreciado en la vigilancia rutinaria. La población que está envejeciéndose (con cantidades aumentadas de personas arriesgadas de las complicaciones de las infecciones entéricas) y la globalización de enfermedades infecciosas debido al viaje rápido al nivel internacional y al comercio (de alimentos), se adicionan a la idea de que es probable que el peso de enfermedades se incremente en los años venideros. Esto se refleja en la atención de las organizaciones nacionales e internacionales: las infecciones transmitidas por los alimentos se han clasificado por un esfuerzo conjunto de unos 14 institutos de salud pública, como el interés más importante en el área de salud pública en la Unión Europea. En algunos países (los Países Bajos, el Reino Unido, Francia, Finlandia) los Ministros de Salud Pública y Agricultura han pedido las opiniones de los Consejos de Salud Pública o grupos de expertos acerca del peso de enfermedades y la posible prevención de infecciones transmitidas por los alimentos, debido a su alta y creciente incidencia (El Comité Consejero sobre la inocuidad microbiológica de los alimentos, 1998). Además, las ministerias en

los Países Bajos, el Reino Unido, y Francia han ordenado estudios en gran escala de epidemiología para monitorear las tendencias en la incidencia de gastroenteritis en diversas poblaciones.

En Finlandia, como consecuencia del trabajo de un grupo de expertos, se inició en 1997 un programa mejorado de vigilancia (incluida la examinación virológica), el cual resultó en una cantidad mucho más alta de casos registrados de brotes transmitidos por los alimentos o agua. En los Estados Unidos, el vice presidente Al Gore ha lanzado una iniciativa de millones de dólares para controlar la tendencia creciente de infecciones transmitidas por los alimentos.

(<http://www.pub.whitehouse.gov/uri-res/I2R?urn:pdi://oma.eop.gov.us/1997/5/12/2.text.1.>)

En dicha iniciativa, se ha subrayado la necesidad de mejores métodos de diagnóstico para – entre otros – infecciones víricas transmitidas por los alimentos. El Parlamento y Consejo Europeo ha concordado con desarrollar una red de vigilancia para el monitoreo y control epidemiológico de enfermedades infecciosas en la Unión Europea (Directivo 2119/98/EG).

1.3. EL COSTO DE ENFERMEDADES.

No se sabe con exactitud cuánto es el costo de enfermedades ocasionadas por las infecciones víricas transmitidas por los alimentos, pero es probable que sea alto. En los EUA, algunas 9,000 muertes y 81 millones de enfermedades cada año se atribuyen al consumo de alimentos contaminados (<http://www2.nas.edu/new/21b6.html>). Solamente por razones de los pocos patógenos transmitidos por los alimentos para los que se han estimado los costos, ya se ha sumado un costo de \$5-6 billones anualmente a la sociedad de los EUA por los cargos médicos y productividad perdida (81). El costo total estimado del Salmonellosis es de \$1.2-1.5 billones. En comparación: se está poniendo claro, mediante los estudios epidemiológicos, que los calicivirus sólo pueden ser la causa de enfermedades y hasta muertes tan frecuentemente como es el *Salmonella* (14). Aunque las infecciones víricas entéricas generalmente ocasionan dolencias leves, el costo puede resultar alto, debido a su ocurrencia frecuente y alta transmisibilidad. Los brotes que aparecen en instituciones pueden crear problemas mayores de logística, cuando, como es típico de los brotes de gastroenteritis, se afecta el 30 a 40% del personal en un tiempo cuando el nivel necesario de cuidado al paciente es el más alto (94, 95). Muchas veces, tales instituciones pueden contener el problema solamente por medio de cerrar sus salas a nuevos pacientes. Además, existen estudios que indican que las infecciones víricas entéricas causan la muerte en las personas de avanzada edad, muertes que en mayor parte son prevenibles (14, 18, 44, 56). La contaminación de los alimentos y la subsecuente enfermedad también pueden tener graves consecuencias económicas, como se evidenció en dos brotes relativamente limitados en Dinamarca y en Suecia después del consumo de mariscos y frambuesas, respectivamente: aunque en dichos brotes la causa de la enfermedad en realidad no ha sido comprobado, en ambos casos se anunció un paro temporario de su mercadeo.

En los EUA, anualmente se reportan algunos 60,000 casos de hepatitis A, de los cuales un 7.3% estimado de ellos fueron transmitidos por los alimentos o agua. Los brotes de hepatitis A son comunes en sitios llenos, tales como instituciones, escuelas, prisiones, y en las fuerzas armadas. El porcentaje de adultos con inmunidad incrementa con la edad, pero la edad a la cual la mayoría de las infecciones ocurren está incrementándose en Europa. La cantidad aumentada de individuos susceptibles permite la rápida evolución de epidemias de origen común, y la probabilidad de tales epidemias se está creciendo (67).

2. GASTROENTERITIS VÍRICO TRANSMITIDO POR LOS ALIMENTOS Y AGUA, CON ENFOQUE EN LOS CALICIVIRUS

2.1. INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los estudios epidemiológicos de los virus transmitidos por los alimentos y agua, se han seleccionado muestras de los virus mediante las técnicas de cultura de tejidos o microscopía de electrones (EM). Sin embargo, algunos virus entéricos no pueden crecerse en culturas de tejidos, y el EM no es un método muy sensible para la detección de estos virus. Los ensayos diagnósticos simples, tales como ensayos inmunosorbentes vinculados con enzimas (ELISA), han sido reportados solamente para los rotavirus y adenovirus de grupo A en especímenes clínicos. No existen ensayos similares para el análisis de muestras tomadas de los alimentos. Como resultado de estas limitaciones, usualmente no se diagnostica el gastroenteritis vírico transmitido por los alimentos.

En la ausencia de ensayos para la detección de los virus, un diagnóstico tentativo del gastroenteritis vírico puede hacerse basado en los criterios epidemiológicos descritos por Kaplan et al. (41). Las características usuales son: un comienzo agudo después de un período de incubación de 24-36 horas, vómito y/o diarrea que permance unos días, un porcentaje alto de ataques (con un promedio del 45%), y un alto número de casos secundarios (31, 41). Con el empleo de este enfoque, un porcentaje estimado de 32-42% de las infecciones entéricas transmitidas por los alimentos en los EUA son ocasionadas por los virus. Los brotes de gastroenteritis pueden ser originados por los rotavirus, astrovirus, adenovirus (tipos 40 y 41), y los calicivirus entéricos humanos. Los calicivirus humanos se asignan a dos géneros: “Los virus similares al Norwalk” (NLV), también conocidos como los virus de estructura pequeña y redonda o SRSV, y “Los virus similares al Sapporo” (SLV), también conocidos como los calicivirus típicos (38, 39, 59). Los NLVs causan enfermedades en personas de todos los grupos de edad, mientras los SLV ocasionan enfermedades predominantemente en los niños (40).

No se sabe precisamente cuál es la importancia relativa de los distintos virus como las causas de las infecciones, pero ciertamente los calicivirus son el origen principal de los brotes víricos (41), y según se informa, su incidencia se ha incrementado en los años recientes (62, 99). Es más probable que este “surgimiento” de los calicivirus como el virus principal transmitido por los alimentos no es un verdadero aumento en su incidencia, sino un conocimiento aumentado, combinado con los ensayos mejorados de diagnóstico. Se han reportado grandes brotes de los rotavirus grupos B y C en China y Japón, respectivamente (31). El resto de este capítulo se enfocará en los NLV, salvo se indique de lo contrario.

2.2. SÍNTOMAS CLÍNICOS

Después de un período de incubación de 1 a 3 días, las personas infectadas pueden contraer un fiebre (de bajo grado) y vómito, diarrea, y dolores de cabeza como los síntomas prominentes. Estos síntomas usualmente se calman dentro de dos o tres días, aunque el curso de la enfermedad puede prolongarse en las personas de avanzada edad. Se han reportado muertes asociadas con los brotes de NLV. La proporción promedia de ataques es alta (típicamente a 45% o más). Los virus se mudan por la defecación y el vómito, empezando durante el período de incubación, y durando hasta 10 días, y posiblemente por un tiempo más largo (36, 78). Las infecciones de NLV son altamente contagiosas, resultando en una alta proporción de transmisión a personas con quienes entran en contacto. Nota: puesto que los alimentos contaminados pueden contener múltiples agentes, pueden ocurrir mezclas de síntomas.

2.3. EPIDEMIOLOGÍA

Siguiendo el desarrollo de los métodos de detección molecular, se ha vuelto claro que las infecciones de NLV se cuentan entre las causas más importantes de gastroenteritis en adultos y

frecuentemente ocurren como brotes, los cuales pueden ser transmitidos por los alimentos (Cuadro 2). En los Países Bajos, aproximadamente el 80% de brotes de gastroenteritis que se han reportado a los servicios municipales de salud son originados por los NLVs (95). Más de la mitad de estos brotes ocurren en los hogares de ancianos. La proporción de los brotes transmitidos por los alimentos fue el 17% de 1994 a 1999, con el 70% de estos atribuidos al NLV (45). Más probablemente ésto es una subvaluación, ya que los brotes normalmente se reportan por medio de los servicios regionales de inspección de alimentos, en vez de los servicios municipales de salud. En un estudio de todos los brotes de enfermedades intestinales infecciosas en Inglaterra y en Gales entre 1992 y 1994, el 27% de los brotes fueron causados por el NLV (el 32% de los brotes fueron originados por el *Salmonella* spp). Los NLV fueron la causa del 6% de brotes transmitidos por los alimentos. Debido a que los especímenes fueron examinados principalmente por medio de la microscopia de electrones, es probable que la verdadera cantidad de los brotes de NLV es más alta (14). En los EUA, 86 de los 90 (96%) brotes de gastroenteritis agudo no bacteriano que fueron reportados al CDC //Los Centros del Control de Enfermedades// entre enero de 1997 y junio de 1998 fueron causados por infecciones de NLV. De estos brotes para los que se reportó el modo de transmisión, 24 de los 51 (47%) se consideraron ser transmitidos por los alimentos (15). Asimismo, en Finlandia, los brotes ocurriendo en los hospitales (principalmente en las salas de geriatría) son ocasionados casi exclusivamente por los NLV, pero la verdadera cantidad de casos es mucho más alta de lo que se ha reportado. En Finlandia, el 56% de las epidemias reportadas como transmitidas por los alimentos, y de las cuales se habían entregado muestras de defecación (y de productos alimentos, en algunos casos) para la detección virológica, resultaron positivas para los NLVs (65). De las epidemias transmitidas por agua, 12/15 han resultado positivas para los NLVs. Desde 1998, ocurrieron 15 epidemias relacionadas con las bayas (frambuesas), lo cual ha resultado en una prohibición del uso de las frambuesas no calentadas en las cocinas de gran escala o para la provisión de banquetes en domicilio (79). Desde ese momento, ocurrieron algunos brotes asociados con las bayas (frambuesas), en los casos en que se ignoró la prohibición. La mayor cantidad de estos brotes se vincularon con las bayas (frambuesas) importadas. Por medio de la clasificación molecular, fue mostrado que se podría encontrar muchas distintas razas de NLV, lo que sirve ilustrar que la contaminación de estos alimentos no fue enlazada con un sólo origen (Figura 1).

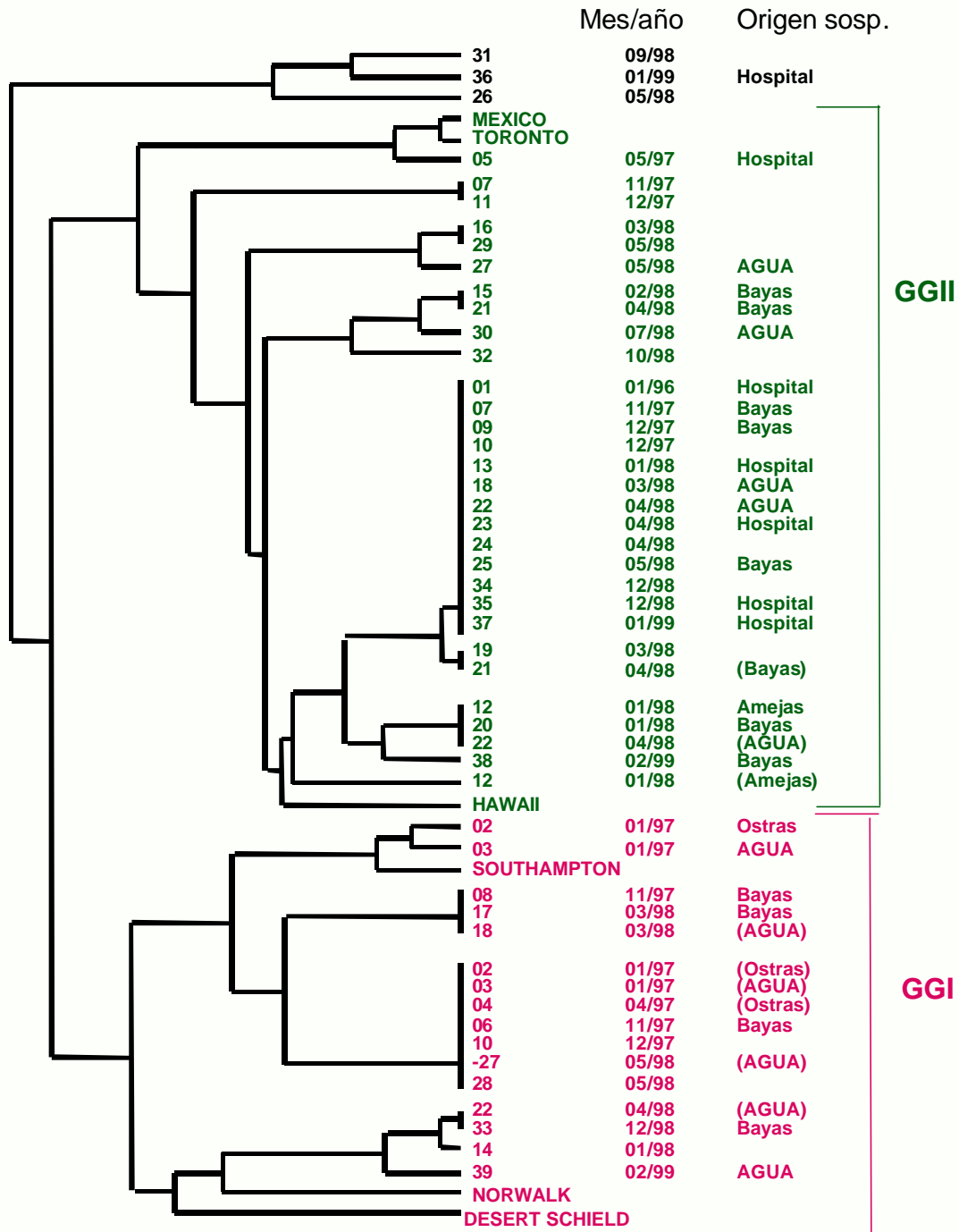
Cuadro 2. Cuadro de resumen de los estudios de brotes, en los cuales las muestras fueron analizadas para la detección de los NLV.

<i>País</i>	<i>Estudio</i>	<i>Proporción transmitida por los alimentos</i>	<i>% de los NLVs (de los transmitidos por los alimentos)</i>	<i>Método</i>	<i>Referencia</i>
EUA	Brotos transmitidos por los Alimentos	100	32-42	Epidemiología	Kaplan, 1982
RU	Todos los brotes	50	6	EM	Djuretic, 1996
EUA	Brotos no bacterianos	47	96	PCR	Fankhauser, 1998
PB	Todos los Brotes	17	70	PCR	Vinjé, 1996, 1997; Koopmans, 1999
Finlandia	Transmitidos por los Alimentos y Agua	100	56	PCR	Maunula, 1999

Además de los brotes, materias recientemente publicadas sugieren que los calicivirus se cuentan entre las causas más comunes del gastroenteritis esporádico (45, 75, 97). En los Países Bajos, el 5% de los pacientes que visitan sus médicos para el gastroenteritis se infectaron con los NLVs (comparado con el 4% para el *Salmonella*), además del 17% de las personas en una población centinela que adquirieron la diarrea durante los meses del invierno (1, 33, 45). Afectó a personas de todos los grupos de edad, con una incidencia un poco más alta en los niños muy jóvenes.

Figura 1: Árbol filogenético indicando las razas de NLV que se encontraron en los brotes de gastroenteritis en Finlandia (identificadas por número), incluso unos 12 brotes en los cuales se implicaron las frambuesas como el origen más probable de infección. GG = genogrupo. Los virus de referencia de los NLV México, Toronto, Hawaii, Southampton, Norwalk y Desert shield // Escudo del Desierto//.

Dendograma PILEUP construido de las secuencias nucleótidas de NLV



2.4. GRUPOS DE RIESGO

Los brotes de gastroenteritis de NLV (no solamente transmitidos por los alimentos) son comunes en instituciones, tales como los hogares de ancianos y hospitales. La proporción alta de ataques en ambos los residentes y el personal de tales instituciones muchas veces resulta en problemas de falta de personal durante los brotes. Los casos esporádicos de gastroenteritis vírico también ocurren con frecuencia en estas situaciones. Los factores de riesgo para estas infecciones se están estudiando actualmente en el Reino Unido y los Países Bajos. Según Gerba et al (21), el grupo de individuos que sería a más riesgo de enfermedades graves y mortalidad causadas por microorganismos entéricos transmitidos por los alimentos y agua incluye los niños jóvenes, personas de avanzada edad, mujeres embarazadas, y personas inmunocomprometidas. Este segmento de la población actualmente representa casi el 20% de la población (en los Estados Unidos) y se espera incrementarse significativamente por el comienzo de la sigla entrante, debido a el crecimiento de la duración de vida y el número de personas inmunocomprometidas. Mundialmente, las enfermedades diarreicas explican millones de muertes anualmente, en mayor parte en los países en desarrollo. En los países desarrollados, la mortalidad atribuida a la diarrea está a un nivel bajo, pero sí ocurre en los niños jóvenes (7, 11, 76) y en las personas de avanzada edad (>50%; 18, 21, 56). Mientras no se dispone de los datos específicos de mortalidad en relación con los NLVs, dado la alta incidencia de las infecciones de los calicivirus en las personas de avanzada edad, es probable que sí ocurren las muertes resultantes de infecciones de los calicivirus.

2.5. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

Dentro del gen de los NLVs existe una gran diversidad de tipos de virus, según lo que se basa en el análisis de la secuencia genómica y caracterización antigénica (57, 58, 73). Hasta la fecha, se han reconocido 15 genotipos distintos, pero como se continúa caracterizando más razas, este número probablemente se incrementará. Se ha establecido bien que muchas distintas clases de los NLVs cocirculan en la población general, originando casos y brotes esporádicos. Típicamente, las secuencias de las razas son (casi) idénticas dentro de los brotes, y distintas cuando se analizan los espécimenes de distintos brotes. Por eso, cuando se encuentran secuencias idénticas en diferentes pacientes o diferentes grupos de enfermedades, debe sospecharse un origen común de la infección. A la inversa, el encontrar distintas secuencias en personas con un origen supuestamente común de infección sugiere contaminaciones independientes, a menos que haya una asociación con agua contaminada por las aguas de alcantarilla: en epidemias causadas por contaminación de las aguas de alcantarilla, muchas veces se encuentra más de una raza (47, 65, 88).

En ocasión, ocurren epidemias en las cuales la mayoría de los brotes son ocasionados por un sólo tipo genético (p.ej. en los Países Bajos en 1996; 95). Las epidemias pueden ser extendidas, y hasta mundiales (74). No se conocen los mecanismos detrás de el surgimiento de los tipos epidémicos. Los hipótesis incluyen la transmisión en gran escala por los alimentos de una sólo raza, y el desbordamiento de un embalse posiblemente no humano. Recientemente, se hallaron los NLVs en cerdos en Japón y en ganado en el RU (12, 60, 89).

2.6. INMUNIDAD

Poco se conoce sobre la inmunidad a las infecciones causadas por los NLVs. De las infecciones experimentales en voluntarios, se sabe que las personas infectadas pueden desarrollar la inmunidad, pero solamente por un corto período de tiempo, y limitada al genotipo infeccioso o razas estrechamente relacionadas (29, 73). Los voluntarios con anticuerpos al genotipo de infección tienen un riesgo más alto de enfermedad y una curva más empinada de dosis-respuesta (26, 72). No es claro qué significa esto. La falta de inmunidad estrecha y ampliamente reactiva a la infección natural sugiere que el desarrollo de una vacuna protectora puede ser problemático.

2.7. TRANSMISIÓN

Los NLVs se transmitan directamente por contacto entre personas o indirectamente por el agua, alimentos o superficies ambientales contaminadas. Claramente, la transmisión entre personas es con mucho la ruta más común de infección. Sin embargo, se han detallado muchos brotes de los NLVs transmitidos por los alimentos, con frecuencia resultantes de la contaminación por medio de un manejador de alimentos contaminado (15, 20, 45, 65, 94, 95). Es importante notar que la contaminación puede ocurrir no solamente al final de la cadena de distribución alimenticia, sino en casi cualquier etapa desde la granja a la mesa. Los manejadores de alimentos infectados pueden transmitir los virus infecciosos durante el período de incubación y después de la recuperación de una enfermedad (20, 61, 76). Adicionalmente, se han descrito varios brotes de los NLVs transmitidos por el agua, tanto directamente (p.ej. por medio del consumo de agua contaminada) como indirectamente (p.ej. por medio de las frutas lavadas, por medio de nadar o remar en canoa en aguas de recreación) (6, 9, 27, 46, 47). Existen algunas indicaciones anecdóticas de la transmisión aerogénica de los NLVs, pero no es claro si esta ruta es de mayor importancia.

Además de la transmisión de persona en persona por medio de vehículos alimenticios, se ha reportado una transmisión zoonótica para algunos virus entéricos. Basado en las similitudes entre aislados víricos, la transmisión de los rotavirus de los monos, gatos, perros, caballos y ganado es posible. No existen informes que se han dirigido a este tema, pero a la vez existe poca evidencia de la transmisión zoonótica como un origen principal de las infecciones de los rotavirus transmitidos en los alimentos (23, 98).

Hasta reciente, se consideraban los NLVs como patógenos con los seres humanos como el sólo huésped. No obstante, recientemente se hallaron NLVs en los cerdos sanos en Japón y en los especímenes históricos de defecación de becerros del RU y de Alemania (12, 60, 89). Los virus de becerros, designados agente Newbury y virus Jena son patogénicos para los becerros. Los dos caliciviruses entéricos bovinos y el calicivirus entérico porcino son distintos genéticamente de las razas humanas, pero se agrupan dentro del gen de los NLVs. En un estudio piloto en los Países Bajos, las muestras agrupadas de defecación tomadas de becerros, cerdos engordadores, y las vacas adultas fueron analizadas para la presencia de los NLVs. Treinta y tres (el 45%) de los hatos de becerros resultaron positivos para las razas de los NLVs pertenecientes al genotipo Newbury, y un hato de cerdos resultó positivo para un virus muy similar al calicivirus porcino de Japón (45). Estos hallazgos plantean importantes preguntas sobre el gama de huéspedes de los NLVs. En este momento no es claro si los NLVs de animales forman linajes estables que son genéticamente distintos, o que de hecho son una parte del un grupo común de los virus co-circulándose entre animales y seres humanos.

2.8. EL DIAGNOSIS EN SERES HUMANOS

En los especímenes de defecación, se puede detectar los virus por medio de microscopia de electrones (todos los virus), inmuno-ensayos (los rotavirus grupo A, los adenovirus tipos 40/41, los astrovirus), y métodos moleculares (todos los virus descritos). El límite para detección varía para los distintos métodos, con el EM siendo el método menos sensible (el límite de detección acerca de los 10^6 partículas por ml), y la amplificación de la reacción en cadena polímera transcritosa reversa (RT-PCR) como el método más sensible (el límite de detección de 10-100 partículas por ml) (94). Por eso, la detección exitosa de los virus en los especímenes de defecación depende de los métodos empleados y el máximo de los títulos de virus mudados (los rotavirus 10^{10} por ml, astrovirus 10^8 por ml, NLV 10^7 por ml). Puesto que el título de virus mudado se decrementa durante enfermedades, es importante que los especímenes de defecación se colecten durante los primeros días después del comienzo de los síntomas, y que se almacenen a una temperatura de 4°C.

Historicamente las infecciones de NLV o SLV han sido diagnosticadas mediante la visualización de los partículas de los virus por microscopia de electrones. Actualmente, varios ensayos ampliamente reactivos de RT-PCR son disponibles, los cuales se pueden emplear tanto en la detección como en el genotipo. (28, 73, 94). Los NLVs se han dividido en dos genogrupos (Figura 1) y tentativamente en 15 genotipos.

3. LOS VIRUS HEPATITIS

3.1. INTRODUCCIÓN

Los virus que causan el hepatitis pueden dividirse en los virus transmitidos entericamente (el virus hepatitis A, el virus hepatitis E), y los virus hepatitis transmitidos por la sangre (Hepatitis B, C, D, G). Para la transmisión por los alimentos o agua, solamente son pertinentes los virus transmitidos entericamente. El virus Hepatitis A (HAV) es un virus en la familia *Picornaviridae*, a la cual también pertenecen los enterovirus (incluso el poliovirus). El virus Hepatitis E demuestra alguna semejanza con los virus de la familia *Caliciviridae* (a la cual pertenecen los NLVs), pero no se ha incluido (todavía) en una familia de virus debido a algunas características únicas.

Hasta tiempos relativamente recientes, el Hepatitis E no se ha establecido como un origen de hepatitis, cuando grandes brotes transmitidos por el agua ocurrieron en India y Pakistán. No se han documentado brotes transmitidos por los alimentos de los virus hepatitis E. El virus es endémico sobre una área geográfica ancha, primariamente en los países con sanitación inadecuada donde el hepatitis A también es endémico (La Asia del Sureste, el subcontinente de India, África), pero no tan extendido como el HAV. En los países industrializados, las infecciones de hepatitis E son raras, y normalmente relacionadas con el viaje (48, 91, 92). Existen algunas indicaciones que las infecciones del Hepatitis E pueden transmitirse desde un embalse animal (70, 71). Pueden distinguirse brotes de Hepatitis E, basado en la proporción más alta de ataques de enfermedades clinicamente evidentes en personas de 15 a 40 años de edad, comparado con otros grupos, las proporciones totales más altas de casos fatales (0.5-3%), y el número extraordinariamente alto de muertes de mujeres embarazadas (15-20%). En grupos de edades más jóvenes, la mayoría de las infecciones de hepatitis E puede ser presente sin ictericia, diferenciándose de la infección clinicamente aparente de hepatitis A (67). Puesto que el HEV puede ocasionar una enfermedad con alta mortalidad en las mujeres embarazadas, un estudio de la transmisión de los virus por los alimentos, en nuestra opinión, debería incluir el HEV.

El resto de este capítulo tratará solamente sobre el hepatitis A, puesto que la mayoría de la información es disponible sobre este patógeno, y es un establecido patógeno transmitido por los alimentos. Eso no implica que el hepatitis E puede no ser importante, pero la información sobre este patógeno y su papel en la enfermedad transmitida por los alimentos es esparcida.

3.2. SÍNTOMAS CLÍNICOS

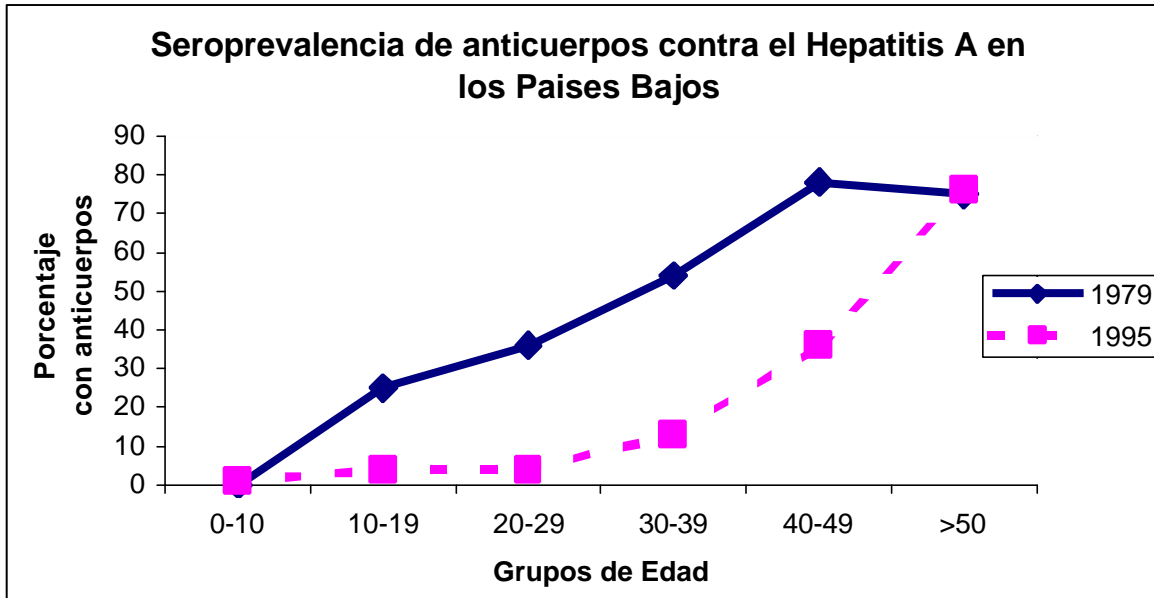
Después de un período de incubación de 2 a 7 semanas, la infección de HAV resultará en síntomas no específicos, tales como fiebre, dolores de cabeza, fatiga, nausea y vómito, seguidas 1 a 2 semanas más tarde por indicaciones del hepatitis. La mudanza del virus típicamente continúa hasta 1 semana después del comienzo de ictericia en adultos y 1 a 2 semanas en niños, aunque la mudanza intermitente prolongada del virus puede ocurrir por hasta 90 días en pacientes con recidivas. Se han reportado recidivas en el 1.5 a 18.5% de personas (85). Los infantes pueden mudar el virus hasta 5 meses después de infectarse (84).

3.3. EPIDEMIOLOGÍA

El Hepatitis A ha sido endémico mundialmente, pero la incidencia se ha decrementado dramáticamente en numerosas regiones solamente por medio de medidas sanitarias. Ironicamente,

después de un decrecimiento inicial, esto ha resultado en un aumento en el número de casos clínicos: cuando las infecciones de hepatitis A son menos comunes, menos personas desarrollarán la inmunidad en los primeros años, y la población en riesgo se incrementará (Figura 2). Como resultado, las infecciones pueden ocurrir más comunmente en los grupos de más alta edad (p.ej. mientras viajando a las áreas endémicas). En niños jóvenes que se infectan en las áreas en las cuales el virus es endémico, la mayor parte de las infecciones (>95%) no resultan en síntomas que seguirán sin detección; en contraste, en adultos, una infección de HAV puede resultar en enfermedades bastante graves en 70-80% de las personas afectadas, con una proporción de casos fatales de hasta 3% (67). En Inglaterra y Gales, la proporción anual de notificación de infecciones de HAV ha incrementado al cuadruple entre 1987 y 1991 desde 3.6 a 14.6 por 100000 personas (63). Por esta misma razón, la posibilidad de brotes de HAV se ha aumentado (67). El número de notificaciones declinó considerablemente en los comienzos de los años sesenta y se estabilizó en los años setenta a los 5 a 7 notificaciones por 100,000 habitantes. En Italia, los datos recogidos de un sistema de vigilancia para el hepatitis agudo vírico tipo específico (SEIEVA) mostró que la incidencia del HAV decreció de 10/100.000 en 1985 a 2/100.000 durante el período de 1987-1990, mientras se observó un aumento después de 1991. La proporción más alta de ataques se observó en el grupo de las edades 15 a 24 años (68).

Figura 2: Seroprevalencia de anticuerpos contra los virus hepatitis A en los Países Bajos en diferentes grupos de edades en 1979 y 1995. Los datos fueron adaptados de las referencias 17 y 66.



En un estudio controlado de casos de hepatitis A en Inglaterra, los factores asociados con el riesgo incrementado del hepatitis A incluyó el viaje (proporción de posibilidades [OR] 19.8; 95% intervalo de confianza [CI] 4.9-80.6), un contacto doméstico con el hepatitis A (OR 13.5; CI 6.5-28.0), compartiendo una casa con un niño de 3 a 10 años de edad (OR 1.57; CI 2.2), el consumo de moluscos bivalvos (OR 1.7; CI 1.2-2.4), y el consumo de agua no tratada (OR 1.85; CI 1.1-3.0)(63). Algunos factores adicionales de riesgo con asistencia a o empleo en una guardería infantil, exposición a alimentos o agua infectados durante un brote, actividades homosexuales, y el uso de drogas por inyección. En muchos casos no se identifican factores de riesgo conocidos.

De los estudios realizados en Italia, el consumo de mariscos (OR = 2.6; CI = 2.4-2.9), viaje a áreas endémicas para las personas residentes de las partes norte y central de Italia (OR = 5.4; CI = 4.6-6.2) y tener a un niño que asiste a una guardería infantil (OR = 1.2; CI = 1.03-1.4), todos se asociaron independientemente con un riesgo incrementado de infección de HAV (68). El consumo de mariscos fue el factor más reportado en el período considerado. Se han descrito varios brotes transmitidos por los alimentos de hepatitis A, relacionados con el consumo de alimentos contaminados (10, 13, 35, 55, 66). En 1996 y 1997, ocurrió una epidemia grande de HAV en el sur de Italia, en la región de Puglia, con unas 11.000 notificaciones, especialmente entre los adultos jóvenes. El factor principal de riesgo en este brote de epidemia fue el consumo de mejillones (64). Una epidemia grande de hepatitis A ocurrió en Finlandia entre los abusadores de drogas (cerca de 300 casos), debido a las amfetaminas contaminadas. En situaciones de brote, hasta 20% de los casos son consecuencias de la transmisión secundaria.

3.4. GRUPOS DE RIESGO

Puesto que la proporción de caso-fatalidad de infección de hepatitis se incrementa con la edad, los riesgos son más altos para los grupos de más alta edad, si no han encontrado el virus hepatitis A anteriormente en su vida. La seroprevalencia decreciente del hepatitis A combinado con el envejecimiento de la población resulta en una probabilidad más alta de brotes y un curso más grave de enfermedad (16). Las personas con infección de hepatitis C y posiblemente aquellas con la infección crónica de hepatitis B, están en más riesgo del hepatitis fulminante después de superinfección de hepatitis A (42, 93).

3.5. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

Se han desarrollado la detección molecular y ensayos de clasificación para el virus de Hepatitis A (8, 82, 83). Han sido evaluados para su empleo con especímenes de defecación de los pacientes con hepatitis (90). Siete genotipos del virus de hepatitis A han sido reconocidos, de los cuales 4 ocurren en los seres humanos. Los otros tres genotipos se han encontrado en monos del viejo mundo en cautividad (54). Se pueden diferenciar los patrones de transmisión endémica de aquellas situaciones en las cuales las infecciones son importadas debido al viaje, empleándose el análisis de secuencias de razas de hepatitis A en los pacientes. Esta diversidad genómica puede utilizarse y ha sido utilizado para determinar con precisión el origen de los brotes transmitidos por los alimentos (35, 66), y por agua (13).

3.6. INMUNIDAD

Una sola infección de hepatitis A parece inducir la inmunidad de por vida. Se ha hallado un sólo serotipo de hepatitis A, pero se encuentran linajes genéticamente distintos en varias regiones geográficas. Existen las vacunas de hepatitis A desactivado que son altamente inmunogénicas y proporcionan un nivel alto de protección contra la infección de HAV. Hay indicaciones de que la inoculación rápidamente después de exposición puede también ser protectora (2, 3).

3.7. TRANSMISIÓN

El virus de Hepatitis A es fácilmente transmitido de una persona a otra. Además, la transmisión por los alimentos y agua ha sido documentada para el virus de hepatitis A. Cada vez más se reconoce el riesgo de contraer la infección por medio de la contaminación vírica de las frutas frescas que son importadas de muchas regiones del mundo (35). Durante la corta fase virémica, transmisión por la sangre es posible (2).

El virus de Hepatitis A puede sobrevivir durante entre 12 semanas y 10 meses en el agua, y como resultado, puede ocurrir una infección por medio de la ingestión de una variedad de mariscos de áreas contaminadas con aguas de alcantarilla. Se han reportado brotes transmitidos por agua, tanto asociados con beber el agua contaminada con heces como con nadar en piscinas y lagos contaminados (67).

3.8. DIAGNOSIS EN SERES HUMANOS

El diagnóstico de infección de hepatitis A se hace por medio de la detección de anticuerpos de virus específicos de IgM en el suero. Adicionalmente, los virus (hasta 10^9 partículas por ml) pueden ser detectados en las muestras de defecación por métodos moleculares, entre tres y cinco semanas después de infección con el virus de hepatitis A, normalmente empezando mucho más antes del principio de los síntomas clínicos. Este período de latencia presenta un problema para la prevención de infección. Además, pueden ocurrir recidivas en hasta 18% de las personas, quienes entonces pueden mudar el virus durante varios meses (85) Se ha descrito la detección del virus de hepatitis A en los mariscos y agua (section 4.2).

4. ASPECTOS GENERALES

4.1. PRODUCTOS ALIMENTICIOS DE ALTO RIESGO

Los mariscos tienen fama de ser un origen de infecciones víricas transmitidas por los alimentos, porque concentran activamente los virus del agua contaminada (43). La Depuración, práctica que puede reducir la contaminación bacteriana, no es eficaz para reducir la contaminación vírica. Sin embargo, también se han implicado varios otros alimentos como vehículos de transmisión (los postres, frutas, hortalizas, ensaladas, sandwiches): el mensaje al fin de todo es que cualquier alimento que se ha manejado a mano y subsecuentemente no se ha calentado (suficientemente), es un posible origen de infección (14). Es importante notar, sin embargo, que la contaminación puede ocurrir no solamente al final de la cadena alimenticia, sino en casi cada etapa en la ruta desde la granja a la mesa.

4.2. DETECCIÓN DE LOS VIRUS EN LOS ALIMENTOS Y AGUA

Aunque se han desarrollado métodos diagnósticos para la detección de los virus o los RNA víricos en los alimentos y agua, dichos métodos no han entrado en los laboratorios rutinarios en el mayor número de regiones del mundo (4, 5, 19, 22, 24, 25, 37, 49-53). La mayoría de los estudios de la detección de los virus en los alimentos se han enfocado en los mariscos, para lo cual varios grupos han desarrollado protocolos un poco diferentes, y se necesitan estudios comparativos para determinar cuales ensayos deben recomendarse. El valor de una prueba negativa todavía no es claro. Tal información es necesaria antes de hacer el análisis de estos especímenes para monitorear la contaminación.

Un problema especial es que los calicivirus no pueden crecer en una cultura de tejidos, y los virus hepatitis A solamente con éxito moderado. Como resultado, carecen los datos sobre la correlación entre la presencia de los genos víricos (como analizados por medio de RT-PCR) y los virus viables. Para el diagnóstico de un brote, el enfoque actual es el análisis de especímenes de defacción de casos y de control, combinado con una investigación epidemiológica para evaluar las proporciones de ataques de alimentos específicos. Los alimentos con una relación significativa de desigualdades pueden examinarse después, empleándose métodos moleculares, aunque no se dispone de ninguna información sobre la sensibilidad de dichos métodos para el diagnóstico de brotes. El control de la calidad de los alimentos y agua a la base de la detección de organismos indicadores para la contaminación fecal se ha probado ser un prognosticador no confiable para la contaminación vírica.

Para los mariscos, podría realizarse el análisis tanto de los aguas en que crecen como de los mariscos, pero las sensibilidades relativas de tales enfoques necesitan ser evaluadas. Cuando se detectan NLVs en los alimentos, podrían emplearse los ensayos de clasificación para establecer las rutas de transmisión y para apoyar o refutar los enlaces epidemiológicos con los casos.

4.3. PREVENCIÓN Y DESINFECCIÓN

Es necesario aumentar el conocimiento de todos los manejadores de alimentos sobre la transmisión de los virus entéricos, con énfasis especial en el riesgo de la transmisión “silenciosa” por personas infectadas asintóticamente y por aquellas personas que continúan de mudar el virus después de la resolución de los síntomas. Mientras puede no ser claro cuál proporción de las infecciones transmitidas por los alimentos puede ser atribuida a los trabajadores en varias partes de la cadena alimenticia, es importante que los virus sean parte de los sistemas de Análisis del Riesgo – Puntos Críticos de Control (HACCP), basados en la ciencia, para identificar los riesgos y ayudar en identificar brechas en el conocimiento (p.ej. Cuadro 3). Por el momento, carecen los datos suficientes para determinar cuáles etapas van a ser críticas para todos los alimentos. Las medidas preventivas difieren para las distintas rutas de transmisión.

i) Mariscos: para los mariscos, el control estricto de la calidad de las aguas en que crecen puede prevenir la contaminación de ellos. Ésto incluye el control de los desechos generados por las barcas comerciales y de recreación. Directrices dirigidas específicamente a la reducción de la contaminación vírica son necesarias, ya que se ha mostrado claramente que los indicadores actuales de las calidades de agua y mariscos son inadecuados como pronosticadores de contaminación vírica.

ii) Los productos alimenticios contaminados por manejadores infectados de alimentos: la higiene personal es de suma importancia para prevenir la infección vírica transmitida por los alimentos, e incluye el lavado frecuente de las manos y el uso de guantes. Lo anterior se aplicaría para todos los puntos en la cadena alimenticia en los cuales se manejan los productos alimenticios manualmente. El ID₅₀ (el dosis que resulta en infección en el 50% de las personas expuestas) de los NLVs parece ser extremadamente bajo (72). Como consecuencia, aún con medidas de higiene muy estrictas, no se puede prevenir la infección todo el tiempo. Han ocurrido brotes transmitidos por los alimentos originados de alimentos contaminados que pasaron exitosamente todos los ensayos microbiológicos. Una directriz basada en el sentido común es remover las personas que muestran síntomas consistentes con el gastro-enteritis vírico de la cadena de producción hasta por lo menos dos días después de la remisión de los síntomas. Un problema práctico con esta directriz es que una proporción desconocida de infecciones víricas serán subclínicas, y que –aun durante el período de incubación – las personas infectadas pueden mudar cantidades suficientes del virus para causar la contaminación de los alimentos (61). Se ha estudiado la cinética de la mudanza vírica solamente en unos pocos voluntarios infectados, y puede no reflejar la situación en realidad donde es posible que personas hayan sido infectadas con un dosis bajo del virus infeccioso. Dado que la naturaleza altamente infecciosa del NLV y el riesgo documentado de la transmisión del virus a los alimentos durante el período de incubación, se prevé que deben elaborarse directrices que contemplan la incidencia de gastroenteritis en las personas en contacto (p.ej. los niños) con las personas trabajando en puntos críticos en la cadena alimenticia. Ésto debe basarse en los datos sobre la cinética de la mudanza vírica después de la infección natural.

La globalización del mercado alimenticio ha impedido la implementación de medidas de control para asegurar los alimentos inocuos. No es claro si será factible el monitoreo rutinario de los especímenes de alimentos para la contaminación vírica. No obstante, para la prevención de la transmisión por los alimentos, es esencial también que los productos alimenticios no se cultiven ni se laven en el agua contaminada por heces.

Los brotes documentados de infecciones transmitidas por los alimentos podrían reportarse en una manera más rápida, empleando, por ejemplo, el “sistema de alerta rápida para los alimentos” de la Unión Europea o la Red de Alimentos de los EUA, y resultaría mucho más informativo si se incluiría la información de clasificación de las razas de virus.

En cuanto a los otros virus entéricos, la higiene personal es lo más importante para prevenir la infección vírica de hepatitis transmitida por los alimentos. Los problemas incluyen el período largo de incubación, y los hechos de que las personas infectadas mudan las cantidades más altas de virus infeccioso antes del comienzo de la enfermedad y que las infecciones pueden resultar en síntomas clínicos. Como consecuencia, otra vez se han descrito algunos brotes transmitidos por los alimentos en los cuales el manejador de alimentos fue el origen de la infección (30, 86). Además, la transmisión de infección ha ocurrido por medio de frutas frescas cultivadas en áreas en las cuales las mismas eran disipadas con agua contaminada con heces. Esto implica que los productos intentados para el consumo humano deben cultivarse solamente con el agua de alta calidad. Hay disponible una vacuna para el hepatitis A, y las personas en contacto pueden ser tratadas con la administración de la inmunoglobulina. El Comité de Consejo sobre las Prácticas de Inoculación (ACIP), EUA, recomienda la inoculación contra el HAV para 1) las personas que viajan a los países que tienen endemicidad alta o intermedia; 2) niños en comunidades que tienen proporciones

altas de infección de HAV; 3) hombres que practican actos sexuales con hombres; 4) abusadores de drogas ilícitas; 5) personas que tienen el riesgo ocupacional de HAV; 6) personas que sufren de enfermedad crónica del hígado; 7) personas que tienen desarreglos de factores de coagulación; 8) otros grupos, posiblemente los manejadores de alimentos (2). Si la inoculación contra el HAV será factible para prevenir la transmisión por los alimentos para países o regiones particulares depende de muchos factores locales (p.ej. el nivel de endemidad, condiciones higiénicas) y necesitan evaluarse para estas situaciones particulares, basado en el análisis de HACCP.

Los NLVs pueden sobrevivir fuera del huésped, son resistentes a los desinfectantes comunes y fluctuaciones extremas del pH, y son altamente infecciosos. Como consecuencia, la transmisión del virus por medio de fómites es probable.

Es importante notar que la contaminación puede ser extendida después del vómito, debido a la formación de aerosol y transporte subsecuente de los partículas de virus por aire. El efecto de los desinfectantes sobre la infectividad de NLV casi no se ha estudiado, debido a la carencia de un sistema de culturas de tejidos o ejemplar animal. De los experimentos realizados con voluntarios adultos en los años ochenta, se ha sugerido que el virus Norwalk (uno de los prototipos NLV) es resistente a bajo pH (2.7), la extracción de éter y el tratamiento térmico (30 minutos a 60°C). El virus según se informe es bastante resistente al cloro, como el virus permanece infeccioso después de 30 minutos en la presencia de 0.5-1 mg de cloro libre por litro. En concentraciones más altas, se inactiva el virus (>2 mg por litro de cloro libre; 40). Estos hallazgos tienen que interpretarse con cuidado, ya que los datos de estudios recientes de dosis-respuesta lo hacen muy claro que los dosis muy altos del virus fueron usados en los experimentos de desafío realizados anteriormente con voluntarios. Por eso, la reducción de infectividad debido a varios tratamientos puede no ser detectada.

Basado en la detección semiquantitativa usando las unidades de PCR, el proceso de tratamiento de agua potable empleando coagulación-floculación-sedimentación, filtración, y desinfección con cloro libre, monoclóramina, ozona, dióxido de cloro o irradiación con rayos UV, todos reducen la cantidad del virus Norwalk más de 4 gradas logarítmicas (87).

El virus Hepatitis A supuestamente es resistente al bajo pH (hasta el pH1), y es resistente al calor, ya que sobrevive por 1 hora a los 60° (54)

Cuadro 3: Etapas en el conocimiento de los patógenos infecciosos transmitidos por los alimentos: NLV (adaptado por los virus de una presentación por el R. Tauxe: Enfermedades surgientes transmitidas por los alimentos: un desafío evolucionario de la salud pública. 17^a Conferencia Internacional del Comité Internacional sobre Microbiología e Higiene de los Alimentos, 1999)

¿Cuál es la enfermedad?	Gastroenteritis
¿Cuál es el patógeno microbiano?	NLV
¿Cómo se puede identificar fácilmente en personas?	Por medio de ensayos de detección molecular
¿Cómo se puede identificar en los alimentos?	?? Algunos ensayos son disponibles, pero carece la información sobre el valor pronosticador de una prueba negativa.
¿Qué tan común es la infección?	La causa número uno de brotes de gastroenteritis no bacteriano transmitido por los alimentos
¿Cuáles alimentos son los orígenes?	1. Mariscos. 2. Cualquier alimento que se ha manejado manualmente y no se ha calentado después
¿Cómo entró el patógeno en el alimento?	1. Manejadores infectados de alimentos, en cualquier punto desde la granja a la mesa. 2. El riego o lavado con agua contaminada con heces. 3. La transmisión zoonótica no es clara.
¿Cómo se puede tratar?	Solamente por tratamiento sintomático
¿Cómo se puede prevenir?	Higiene estricta
¿Resulta exitosa la estrategia de prevención?	?

5. LEGISLACIÓN, REGLAS Y REGLAMENTOS

El control estatuario de higiene para los mariscos es exigido por el Mandato del Consejo 91/492/EC, el cual estipula que los mariscos para el mercado han de contener ≤ 230 *Escherichia coli* en 100 g de la carne de los mariscos. No obstante, este parámetro bacteriológico no es adecuado para el control de la contaminación vírica puesto que se mostró la falta de correlación entre la presencia de los virus y los bacterios coliformes (25, 96); de hecho, se ha detectado el HAV en los mejillones que de otra manera cumplen con las normas bacteriológicas. La investigación y vigilancia del zoonosis se requerirá, bajo el Mandato del Parlamento Europeo y el Consejo sobre la vigilancia del zoonosis (DGVI, documento VI/99EN-Rev.1a).

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. CONCLUSIONES

- Hasta el momento, no se ha recopilado datos detallados sobre los virus en los alimentos; con este “Documento de Debate sobre los Virus en los Alimentos”, se ha iniciado la recolección de información. Los datos en este documento demuestran que los virus en los alimentos pueden ser un origen importante de enfermedades transmitidas por los alimentos.
- Se dan muchos avisos pertinentes en el presente Documento de Debate. Las sugerencias se dirigen a la necesidad crítica de estudios y evaluaciones para delinear más claramente las necesidades, tales como aquellas en relación con el:
 - Determinar las rutas comunes de la transmisión de los virus, incluida la infección transmitida por los alimentos
 - Mejorar la vigilancia sobre enfermedades y las herramientas para el trazado molecular de los virus por toda la cadena alimenticia
 - Desarrollar métodos nuevos y mejorados para la detección y clasificación de los virus transmitidos por los alimentos, y emplear tales métodos en el análisis de alimentos
 - Desarrollar planes de vigilancia para determinar cuáles son los alimentos de alto riesgo en conexión con la contaminación por los virus
 - Determinar el mecanismo del surgimiento de las razas epidémicas, incluso el enlace con las infecciones porcinas de los calicivirus
 - Evaluar si las campanas públicas concebidas para la prevención de las infecciones víricas transmitidas por los alimentos tienen la probabilidad de ser exitosas
 - Evaluar el uso de desechos de lodos y aguas de alcantarilla en el riego para los riesgos de contaminación vírica en los alimentos
 - Considerar la incorporación de los virus transmitidos por los alimentos en los programas de inocuidad de los alimentos
- Cuando se está concebido un programa de control de la higiene, es importante tomar en consideración los avisos anteriores, particularmente en los ambientes en los cuales los virus humanos, animales o ambientales podrían causar una contaminación significativa de los productos alimenticios.
- Las medidas de higiene en existencia que intentan controlar las infecciones bacterianas en los alimentos, pueden ayudar en prevenir la infección vírica transmitida por los alimentos, sin embargo estas medidas no son validadas para este efecto en la mayoría de los casos.

Ésto significa que no se pueden excluir las infecciones víricas, cuando las medidas de higiene “tradicionales” son aplicadas de manera adecuada.

- En la presente fase, como se documenta en este papel, la ciencia disponible en relación con las infecciones víricas transmitidas por los alimentos todavía no es suficiente para establecer las medidas adecuadas de control en el formato de una Directriz del Codex típica. Esto podría ser posible en una fase más adelante, cuando el estado del arte proporcione las medidas del control más practicables.

6.2 RECOMENDACIÓN

- En el caso de revisarse este “Documento de Debate sobre los Virus en los Alimentos”, se recomienda poner disponible el conocimiento limitado actual sobre el tema discutido al mayor número de personas como sea posible, no solamente para expandir el conocimiento, sino también para contribuir a la prevención de las infecciones víricas por los alimentos, cuando ésto puede lograrse. Un formato adecuado para comunicar el conocimiento disponible a la comunidad mundial podría ser un documento del Codex titulado “Medidas de Control para los Virus Transmitidos por los Alimentos”, comparable al documento, como se está elaborado actualmente, sobre *Listeria monocytogenes*.

7. REFERENCIAS

1. Abbink F., Duynhoven Y., Wit M.A.S. de, Koopmans M.P.G., Leeuwen W.J. van, Kortbeek L.M. A population cohort study with a nested case-control study: a study design to estimate the incidence and aetiology of gastroenteritis in the Netherlands. Abstracts 4th World Congress on Foodborne infections and intoxications, Berlin, June 1998:171:P-A032.
2. ACIP. Prevention of hepatitis A through active or passive immunization. Recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR* 1996;45/RR-15:1-30.
3. Anon. Hepatitis A vaccine: evidence of efficacy after exposure. *Commun Dis Rep CDR Wkly.* 1999;9(16):139, 142.
4. Atmar, R.L., Metcalf, T., Neill, F., and Estes, M. Detection of enteric viruses in oysters by using PCR. *Appl Environm Microbiol* 1993;59:631-635.
5. Atmar RL, Neill FH, Romalde JL, LeGuyader F, Woodley CM, Metcalf TG and Estes M. Detection of Norwalk virus and hepatitis A Virus in shellfish tissues with the PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995;61:3014-3018.
6. Beller M., Ellis A., Lee S.H., Drebot M.A., Jenkerson S.A., Funk E., Sobsey M.D., Simmons O.D. 3rd, Monroe S.S., Ando T., Noel J., Petric M., Middaugh J.P., Spika J.S. Outbreak of viral gastroenteritis due to a contaminated well. International consequences. *JAMA.* 1997;278:563-8.
7. Bern C., Lew J., McFeeley P., Ing D., Ing R.T., Glass R.I. Diarrheal deaths in children living in New Mexico: toward a strategy of preventive interventions. *J Pediatr.* 1993;122:920-2.
8. Birkenmeyer LG, Mushahwar IK. Detection of hepatitis A, B and D virus by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods.* 1994;49(2):101-12.
9. Brugha R., Vipond I.B., Evans M.R., Sandifer Q.D., Roberts R.J., Salmon R.L., Caul E.O., Mukerjee A.K. A community outbreak of food-borne small round-structured virus gastroenteritis caused by a contaminated water supply. *Epidemiol. Infect.* 1999;122:145-54.
10. CDC. From the Centers for Disease Control and Prevention. Hepatitis A associated with consumption of frozen strawberries--Michigan, March 1997. *JAMA.* 1997;277(16):1271
11. Crowley D.S., Ryan M.J., Wall P.G. Gastroenteritis in children under 5 years of age in England and Wales. *Commun. Dis. Rep. CDR Rev.* 1997;7:R82-6
12. Dastjerdi AM, Green J, Gallimore CI, Brown DW, Bridger JC. The bovine Newbury agent-2 is genetically more closely related to human SRSVs than to animal caliciviruses. *Virology.* 1999;254:1-5.
13. De Serres G., Cromeans T.L., Levesque B., Brassard N., Barthe C., Dionne M., Prud'homme H., Paradis D., Shapiro C.N., Nainan O.V., Margolis H.S. Molecular confirmation of hepatitis A virus from well water: epidemiology and public health implications. *J Infect Dis.* 1999;179(1):37-43.
14. Djuretic, T., Wall, P.G., Ryan, M., Evans, H.S., Adak, G.K., and Cowden, J.M. General outbreaks of infectious intestinal disease in England and Wales 1992 to 1994. *CDR Review* 1996;6:R57-63.
15. Fankhauser RL, Noel JS, Monroe SS, Ando TA, Glass RI. Molecular epidemiology of small round structured viruses in outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 1998;178:1571-8.
16. Forbes A., Williams R. Changing epidemiology and clinical aspects of hepatitis A. *Br Med Bull.* 1990;46(2):303-18.

17. Frösner, G., Papaevangelou, G., Butler, R., Iwarson, S., Lindholm, A., Courouce-Pauty, A., Haas, H., and Deinhardt, F. Antibody against hepatitis A in seven european countries. *Am. J. Epidemiol.* 1979;110:63-69.
18. Gangarosa, R.E., Glass, R.I., Lew, J.F., and Boring, J.R. Hospitalizations involving gastroenteritis in the United States, 1985: the special burden of the disease among the elderly. *Am. J. Epi.* 1992;135:281-290.
19. Gajardo R, Dmez JM, Jofre J, Bosch A. Adsorption-elution with negatively and positively-charged glass powder for the concentration of hepatitis A virus from water. *J of Virol Meth* 1991;31:345-352.
20. Gaulin C.D., Ramsay D., Cardinal P., D'Halevyn M.A. Epidemic of gastroenteritis of viral origin associated with eating imported raspberries. *Can J Public Health.* 1999;90:37-40. French.
21. Gerba CP, Rose JB, Haas CN. Sensitive populations: who is at the greatest risk? *Int. J. Food Microbiol.* 1996;30(1-2):113-23.
22. Gilgen, M, German, D., Lüthy, J. and Hübner, P. Three-step isolation method for sensitive detection of enterovirus, rotavirus, hepatitis A virus and small round structured viruses in water samples. *Int J Food Microbiol.* 1997; 37:189 – 199.
23. Glass, R.I., Gentsch, J., en Smith, J.C. Rotavirus vaccines: success by reassortment? *Science* 1994;265:1389-1391.
24. Gouvea, V., Santos, N., Carmo Timenetsky, M., and Estes, M. Identification of Norwalk virus in artificially seeded shellfish and selected foods. *J. Virol. Meth.* 1994;48:177-187.
25. Goyan et al 1979 *Appl. Env. Microbiol* 37, 572-575
26. Graham DY, Jiang X, Tanaka T, Opekun AR, Madore HP, Estes MK. Norwalk virus infection of volunteers: New insights based on improved assays. *J Infect Dis* 1994;170:34-43.
27. Gray J.J., Green J., Cunliffe C., Gallimore C., Lee J.V., Neal K., Brown D.W. Mixed genogroup SRSV infections among a party of canoeists exposed to contaminated recreational water. *J Med Virol.* 1997;52:425-9.
28. Green J, Norcott JP, Lewis D, Arnold C, Brown DW. Norwalk-like viruses: demonstration of genomic diversity by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993;31:3007-12.
29. Hale AD, Crawford SE, Ciarlet M, Green J, Gallimore C, Brown DW, Jiang X, Estes MK. Expression and self-assembly of Grimsby virus: antigenic distinction from Norwalk and Mexico viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6(1):142-5.
30. Halliday M.L., Kang L.Y., Zhou T.K., Hu M.D., Pan Q.C., Fu T.Y., Huang Y.S., Hu S.L. An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *J Infect Dis.* 1991;164(5):852-9.
31. Hedberg, C.W. en Osterholm, M.T. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. *Clin. Microbiol. Rev.* 1993;6:199-210.
32. Hedberg, C., MacDonald, K., and Osterholm, M. Changing epidemiology of food-borne disease: a Minnesota perspective. *Clin Infect Dis.* 1994;18:671-682.
33. Hoogenboom-Verdegaal, A.M.M., During, M., Engels, G.B., Hoekstra, J.A., Leentvaar-Kuypers, A., Peerbooms, P.G.H., Kooij, W.C.M., van Vlerken, R., en Sobczak, H. Epidemiologisch en microbiologisch onderzoek met betrekking tot gastro-enteritis bij de mens in de regio's Amsterdam en Helmond in 1987 en 1988. RIVM rapport no. 148612 002, 1990.
34. Hutin Y.J., Bell B.P., Marshall K.L., Schaben C.P., Dart M., Quinlisk M.P., Shapiro C.N. Identifying target groups for a potential vaccination program during a hepatitis A communitywide outbreak. *Am J Public Health.* 1999;89(6):918-21.

35. Hutin YJ, Pool V, Cramer EH, Nainan OV, Weth J, Williams IT, Goldstein ST, Gensheimer KF, Bell BP, Shapiro CN, Alter MJ, Margolis HS. A multistate, foodborne outbreak of hepatitis A. National Hepatitis A Investigation Team. *N Engl J Med.* 1999;340:595-602.
36. Iversen A.M., Gill M., Bartlett C.L., Cubitt W.D., McSwiggan D.A. Two outbreaks of foodborne gastroenteritis caused by a small round structured virus: evidence of prolonged infectivity in a food handler. *Lancet.* 1987;2(8558):556-8.
37. Jehl-Pietri CH, Hugues B, Andri M, Diez JM, Bosch A. Comparison of immunological and molecular hybridization detection methods for demonstration of hepatitis A virus in sewage. *Letters in Appl Microbiol* 1993;17:162-166.
38. Jiang, X., Graham DY, Wang KN, Estes MK. Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science.* 1990;250:1580-3.
39. Jiang X, Wang M, Wang K, Estes MK. Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology.* 1993;195:51-61
40. Kapikian, A.Z., and Chanock, R.M. Norwalk group of viruses. In: *Fields Virology* 2nd Ed., B.N. Fields and D.M. Knipe (Eds.), Raven Press Inc. New York, NY, USA, 1990:671-693.
41. Kaplan, J.E., Feldman, R., Campbell, D.S., Lookabaugh, C., en Gary, G.W. The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastro-enteritis. *Am. J. Public Health* 1982;72:1329-1332.
42. Keefe E.B. Is hepatitis A more severe in patients with chronic hepatitis B and other chronic liver diseases? *Am J Gastroenterol.* 1995;90(2):201-5.
43. Kohn, M., Farley, T., Ando, T., Curtis, M., Wilson, S., Jin, Q., Monroe, S., Baron, R., McFarland, L., and Glass, R. An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated with eating raw oysters. *JAMA* 1995;273:466-471.
44. Koopmans, M. Deaths asociated with outbreaks of gastreenteritis: an underestimated problem? *Infect. Dis. Bull. (NL)* 1997;8:251-252.
45. Koopmans, M., Vinjé, J., de Wit, M., Leenen, I., van der Poel, W., and van Duynhoven, Y. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands. *J. Infect. Dis.* In press.
46. Kukkula M., Arstila P., Klossner M.L., Maunula L., Bonsdorff C.H., Jaatinen P. Waterborne outbreak of viral gastroenteritis. *Scand. J. Infect. Dis.* 1997;29:415-8.
47. Kukkula, M., Maunula, L. Silvennoinen, E. and C.- H. v.Bonsdorff: Outbreak of viral gastroenteritis due to drinking water contaminated by Norwalk-like viruses. *J. Infect. Dis* (in press) 1999.
48. Lavanchy, D., Morel, B., and Frei, P.C. Seroprevalence of hepatitis E virus in Switzerland. *Lancet* 1994;344:747-748.
49. Lees, D.N., Henshilwood, K., and Dore, W. Development of a method for detection of enteroviruses in shellfish by PCR with poliovirus as a model. *Appl Environm Microbiol* 1994;60:2999-3005.
50. LeGuyader, F. , Apaire-Marchais, V., Brillet, J., and Billaudel, S. Use of genomic probes to detect hepatitis A virus and enterovirus RNAs in wild shellfish and relationships of viral contamination to bacterial contamination. *Appl Environm Microbiol* 1993;59:3963-3968.
51. LeGuyader, F., Dubois, E., Menard, D., and Pommepuy, M. Detection of hepatitis A virus, rotavirus, and enterovirus in naturally contaminated shellfish and sediment by RT-PCR. *Appl Environm Microbiol* 1994;60:3665-3671.

52. LeGuyader FA le, Estes MK, Hardy ME, Neill FH, Green J, Brown DW, Atmar RL. Evaluation of a degenerate primer for the PCR detection of human caliciviruses. *Arch Virol* 1996;141:2225-35.
53. LeGuyader F, Miossec L, Haugarreau L, Dubois E, Kopecka H, Pommepuy M. RT-PCR evaluation of viral contamination in fibe shellfish beds over a 21-month period. *Water Science and Technology*, 1998;2:45-50.
54. Lemon SM, Jansen RW, Brown EA. Genetic, antigenic and biological differences between strains of hepatitis A virus. *Vaccine* 1992;10 Suppl 1:S40-4.
55. Leoni E., Bevini C., Degli Esposti S., Graziano A. An outbreak of intrafamilial hepatitis A associated with clam consumption: epidemic transmission to a school community. *Eur J Epidemiol.*1998;14(2):187-92.
56. Lew, J.F., Glass, R.I., Gangarosa, R.E., Cohen, I.P., Bern, C., and Moe, C.L. Diarrheal deaths in the United States 1979-1987. *JAMA* 1991;265:3280-3284.
57. Lewis DC. Three serotypes of Norwalk-like virus demonstrated by solid-phase immune electron microscopy. *J Med Virol.* 1990;30:77-81.
58. Lewis D, Ando T, Humphrey CD, Monroe SS, Glass RI. Use of solid-phase immune electron microscopy for classification of Norwalk-like viruses into six antigenic groups from 10 outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Clin Microbiol.* 1995;33:501-4.
59. Liu BL, Clarke IN, Caul EO, Lambden PR. Human enteric caliciviruses have a unique genome structure and are distinct from the Norwalk-like viruses. *Arch Virol.* 1995;140(8):1345-56.
60. Liu BL, Lambden PR, Gunther H, Otto P, Elschner M, Clarke IN. Molecular characterization of a bovine enteric calicivirus: relationship to the Norwalk-like viruses. *J Virol.* 1999;73:819-25.
61. Lo, S.V., Connolly, A.M., Palmer, S.R., Wright, D., Thomas, P.D., en Joynson, D. The role of the pre-symptomatic food handler in a common source outbreak of food-borne NLV gastroenteritis in a group of hospitals. *Epidemiol. Infect.* 1994;113:513-521.
62. Low, A., McNamara, M., Schweiger, M.S. Foodborne viral gastroenteritis. *Commun. Dis. Rep. CDR Rev.* 1993; 3:R44-6.
63. Maguire, H.C., Handford, S., Perry, K.R., Nicholas, S., Waight, P., Parry, J.V., O'Mahoney, M., and Begg, N.T. A collaborative case control study of sporadic hepatitis A in England. *CDR Review* 1995;5:R33-R40.
64. Malfait P., Lopalco P.L., Salmaso S., Quarto M., Barbuti S. and Field Working Group: an Outbreak of hepatitis A in Puglia, Italy 1996. *Euro Surveillance* 1996; 5 : 33-35.
65. Maunula L., Piiparinen, H. and C.-H. v. Bonsdorff: Confirmation of Norwalk-like virus amplicons after RT-PCR by microplate hybridization and direct sequencing. *J. Virol. Methods* (in press) 1999.
66. Massoudi MS, Bell BP, Paredes V, Insko J, Evans K, Shapiro CN. An outbreak of hepatitis A associated with an infected foodhandler. *Public Health Rep.* 1999;114(2):157-64.
67. Mast, E.E., and Alter, M.J. Epidemiology of viral hepatitis. *Seminars in Virology* 1993;4:273-283.
68. Mele A., Stroffolini T., Palumbo F., Gallo G., Ragni P., Balocchini E., Tosti M.E., Corona R. , Marzolini A., Moiraghi A. and the SEIEVA Collaborating Group. Incidence and risk factor for hepatitis A in Italy: public health indications from a 10-year surveillance. *Journal of Hepatology* 1997; 26: 743-747.
69. Melker, H. de, van der Peet, T., Berbers, G., van de Akker, R., van Knapen, F., Schellekens, J., and Conyn-van Spaendonck, M. Pilot-study for the PIENTER project: seroprevalence of

- mumps, measles, rubella, Bordetella pertussis, toxoplasma gondii, Trichinella spiralis, and hepatitis A. RIVM report 213675004 (in Dutch).
70. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:9860-5.
 71. Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, Purcell RH, Emerson SU. Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol.* 1998;72:9714-21.
 72. Moe, C., Sobsey, M., Stewart, P., and Crawford-Brown, D. Estimating the risk of human calicivirus infection from drinking water. *Proc. 1st Int. Workshop on Human Caliciviruses, Atlanta 1999*:P4-6.
 73. Noel JS, Ando T, Leite JP, Green KY, Dingle KE, Estes MK, Seto Y, Monroe SS, Glass RI. Correlation of patient immune responses with genetically characterized small round-structured viruses involved in outbreaks of nonbacterial acute gastroenteritis in the United States, 1990 to 1995. *J Med Virol* 1997;53:372-83.
 74. Noel J.S., Fankhauser R.L., Ando T., Monroe S.S., Glass R.I. Identification of a distinct common strain of "Norwalk-like viruses" having a global distribution. *J Infect Dis.* 1999;179(6):1334-44.
 75. Pang XL, Joensuu J, Vesikari T. Human calicivirus-associated sporadic gastroenteritis in Finnish children less than two years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1999;5:420-6.
 76. Parashar UD, Kilgore PE, Holman RC, Clarke MJ, Bresee JS, Glass RI. Diarrheal mortality in US infants. Influence of birth weight on risk factors for death. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1998;152:47-51.
 77. Parashar U.D., Dow L., Fankhauser R.L., Humphrey C.D., Miller J., Ando T., Williams K.S., Eddy C.R., Noel J.S., Ingram T., Bresee J.S., Monroe S.S., Glass R.I. An outbreak of viral gastroenteritis associated with consumption of sandwiches: implications for the control of transmission by food handlers. *Epidemiol Infect.* 1998;121:615-21.
 78. Patterson W., Haswell P., Fryers P.T., Green J. Outbreak of small round structured virus gastroenteritis arose after kitchen assistant vomited. *Commun Dis Rep CDR Rev* 1997;7:R101-3
 79. Pönkä, A, Maunula, L, v.Bonsdorff, C.-H. and O Lyytikäinen: Outbreak of calicivirus gastroenteritis associated with eating frozen raspberries. *Eurosurveillance*, 4, 66 - 69, 1999.
 80. Purcell, R.H., and Ticehurst, J.R. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis: epidemiology and clinical characteristics. *Viral hepatitis and Liver Disease* 1988:131-137.
 81. Roberts, T., and Unnevehr, L. New approaches to regulating food safety. *Food Review* 1994;17:2-8.
 82. Robertson BH, Friedberg D, Normann A, Graff J, Flehmig B, Shouval D. Sequence variability of hepatitis A virus and factor VIII associated hepatitis A infections in hemophilia patients in Europe. An update. *Vox Sang.* 1994;67 Suppl 1:39-45
 83. Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan OV, Siegl G, Widell A, Margolis HS, Isomura S, Ito K, et al. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J Gen Virol.* 1992;73:1365-77.
 84. Rosenblum L.S., Villarino M.E., Nainan O.V., Melish M.E., Hadler S.C., Pinsky P.P., Jarvis W.R., Ott C.E., Margolis H.S. Hepatitis A outbreak in a neonatal intensive care unit: risk factors for transmission and evidence of prolonged viral excretion among preterm infants. *J Infect Dis.* 1991;164(3):476-82.

85. Sjogren M.H., Tanno H., Fay O., Sileoni S., Cohen B.D., Burke D.S., Feighny R.J. Hepatitis A virus in stool during clinical relapse. *Ann Intern Med.* 1987;106(2):221-6.
86. Skala, M., Collier, C., Hinkle, C.J., Donnell, H.D. Foodborne hepatitis A - Missouri, Wisconsin, and Alaska, 1990-1992. *MMWR* 1993;42:526-529.
87. Sobsey, M., Shin, G.-A., Battigelli, D., and Newland, S. Reduction of Norwalk virus by drinking water treatment processes. *Proc. 1st Int. Workshop on Human Caliciviruses, Atlanta 1999*:P4-3.
88. Sugieda M., Nakajima K., Nakajima S. Outbreaks of Norwalk-like virus-associated gastroenteritis traced to shellfish: coexistence of two genotypes in one specimen. *Epidemiol Infect.* 1996;116:339-46.
89. Sugieda M, Nagaoka H, Kakishima Y, Ohshita T, Nakamura S, Nakajima S. Detection of Norwalk-like virus genes in the caecum contents of pigs. *Arch Virol.* 1998;143:1215-21.
90. Taylor. Molecular epidemiology of South African strains of hepatitis A virus: 1982-1996. *J Med Virol* 1997;51:273-299.
91. Trautwein, C., Kiral, G., Tillmann, H.L., Witteler, H., Michel, G., and Manns, M.P. Risk factors and prevalence of hepatitis E in German immigrants from the former Soviet Union. *J. Med. Virol.* 1995;45:429-434.
92. Vandenvelde, C., Heyvaert, F., Maes, F., Kadi, L., and Opstelten, R. Hepatitis E virus infection in Belgian soldiers. *Lancet* 1994;344:747.
93. Vento S., Garofano T., Renzini C., Cainelli F., Casali F., Ghironzi G., Ferraro T., Concia E. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med.* 1998;338(5):286-90.
94. Vinjé, J., and Koopmans, M. Molecular detection and epidemiology of NLV in outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *JID* 1996;174:610-615.
95. Vinjé, J., Altena, S., and Koopmans, M. The incidence and genetic variability of small-round-structured viruses (SRSV) in outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *JID* 1997;176:1374-1378.
96. Wait et al. 1983 *J. Food Prot.* 46, 493-497
97. Wheeler, J.G., Sethi, D., Cowden, J.M., Wall, P.G., Rodrigues, L.C., Tompkins, D.S., Hudson, M.J., Roderick, P.J. Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to the general practitioner, and reported to national surveillance. *BMJ* 1999;318:1046-50.
98. Zhang, X.M., Herbst, W., Kousoulas, K.G., en Storz, J. Biological and genetic characterization of a hemagglutinating coronavirus isolated from a diarrhoeic child. *J. Med. Virol.* 1994;44:152-161.
99. Anon. Small round structured viruses (SRSV): numbers are increasing. *Commun. Dis. Rep. CDR Wkly.* 1995;5 (23): 10.