

codex alimentarius commission



FOOD AND AGRICULTURE
ORGANIZATION
OF THE UNITED NATIONS

WORLD
HEALTH
ORGANIZATION



JOINT OFFICE: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 13 (b) de l'ordre du jour

CX/FH 05/37/14

Février 2005

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITÉ DU CODEX SUR L'HYGIÈNE ALIMENTAIRE

Trente-septième session

Buenos Aires, Argentine, du 14 au 19 mars 2005

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES VIRUS DANS LES ALIMENTS

Préparé par les Pays-Bas

HISTORIQUE

Depuis la préparation du document CX/FH 99/11, intitulé "Document de travail sur les virus dans les aliments" (consulter l'Annexe de ce document), préalable à la 32ème session du Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire, des progrès considérables ont été réalisés en termes de compréhension des virus susceptibles d'être transmis par la chaîne alimentaire. Certains des domaines concernés par ces progrès font dans ce document, l'objet d'une attention particulière. Il ne s'agit pas d'une révision exhaustive, mais plutôt d'un échantillon de ces différents domaines qui se focalise principalement sur la description du problème de la santé publique.

EPIDEMIOLOGIE

Des études portant sur les infections intestinales extrahospitalières ont été effectuées aux Pays-bas et au Royaume-Uni et ont démontré que les infections virales représentent une grande partie des cas de gastro-entérites extrahospitalières, en particulier les norovirus. En ce qui concerne les Pays-bas (16 millions d'habitants), il a été estimé que plus de 500 000 cas de maladies causées par les norovirus trouvent leurs origines en milieu extrahospitalier, pour la période étudiée (1999). Un grand nombre d'autres enquêtes, d'envergure moindre sur un nombre d'habitants limité, ont confirmé la charge importante de maladies causées par les norovirus.

Au cours d'une analyse des facteurs de risque, pour laquelle ont été utilisées des données réunies à l'aide de questionnaires soumis pendant l'étude en milieu extrahospitalier, il a été estimé que 12 à 17% des infections causées par les norovirus aux Pays-bas sont susceptibles d'être liées à l'alimentation. Ce point n'a pu être précisé davantage, c'est-à-dire que les risques associés à des aliments spécifiques n'ont pas été définis, mais cela fournit une estimation du nombre de cas de maladies causées par les norovirus d'origine alimentaire, du même type que celles données pour *Salmonella* et *Campylobacter*.

Outre leur impact considérable en milieu hospitalier, puisqu'ils sont à l'origine de cas « sporadiques », les norovirus sont plus connus pour leur propension à déclencher des épidémies en milieu institutionnel. Depuis 1999, un grand nombre d'études portant sur les épidémies ont été publiées, décrivant les norovirus comme les causes de maladies d'origine alimentaire ou hydrique pouvant provenir, par exemple, de coquillages ou de framboises contaminées.

Bien que les descriptions de ces épidémies témoignent clairement de l'importance du nombre potentiel d'infections d'origine alimentaire, peu d'efforts ont été déployés pour établir les proportions de tous les types d'épidémies associées à des modes de transmission bien précis. Cependant, des systèmes de contrôle des épidémies, développés par l'Australie, les États-Unis et l'Europe, commencent à dresser la carte des proportions des épidémies susceptibles d'être causées par des virus, eux-mêmes de plus en plus fréquemment identifiés comme agents étiologiques. Un problème persiste quant à la comparabilité des données : les rapports d'épidémies et la détection des virus sont très peu réglementés. De ce fait, la comparaison internationale des données se présente comme une gageure.

Une enquête réalisée partout en Europe a dénombré de 0 à 21 épidémies de maladies causées par des norovirus par million d'habitants, selon le pays. Il est très probable que ces différences résultent de divergences dans la configuration et/ou la qualité du contrôle. Environ 10% de ces épidémies ont été signalées comme susceptibles d'être liées à une transmission d'origine alimentaire ou hydrique, malgré la nature souvent descriptive de ces données. Seule une infime partie de la totalité des épidémies signalées fournissent des données relatives à l'éventuel véhicule de l'infection. Parmi lesdites infections, 12% ont été associées à la consommation d'huîtres, le reste à un mélange d'autres aliments. Il est difficile de séparer la transmission d'origine alimentaire de celle d'origine hydrique. Un certain nombre de cas rapportés illustrent l'existence d'une transmission des norovirus par l'eau, ainsi que l'insuffisance de son signalement. Une étude ayant abouti à la découverte de gènes viraux dans une quantité élevée d'eaux minérales en bouteille, a soulevé nombre de polémiques, mais elle n'a fait l'objet d'aucune confirmation par d'autres enquêtes. Cependant, les rapports publiés au sujet des maladies d'origine hydrique illustrent la difficulté de détection de ces maladies à l'aide des méthodes de contrôle de routine sans enquête préalable.

EFFETS INDIRECTS DES MALADIES D'ORIGINE ALIMENTAIRE

L'amplification des infections d'origine alimentaire transmises de personne à personne reste une question à examiner plus avant. Les premières épidémies se déclarent chez des sujets ayant ingéré, par exemple, des huîtres, mais des deuxièmes et troisièmes vagues d'infections peuvent avoir lieu, et sont dans ce cas reconnues comme des épidémies par contact de personne à personne. Même si, techniquement, elles sont bien des épidémies de personne à personne, ces deux dernières ne devraient pas être automatiquement associées à des aliments. Nous en voulons pour preuve le fait suivant : au cours de l'hiver 2000/2001, pendant la période des fêtes de fin d'année, un certain nombre d'épidémies de maladies causées par des norovirus et associées à des coquillages importés, se sont propagées dans 3 pays. Ces virus étaient très résistants en raison de leur nature inhabituelle qui n'avait alors fait l'objet que d'un nombre d'études très limité. Un dépistage de ce virus a permis de fournir les informations suivantes : plus de 200 épidémies se sont propagées dans 7 pays, à la suite de cette introduction initiale.

GENETIQUE VIRALE

En outre, il a été démontré, pour l'exemple susmentionné, qu'il s'agissait d'un virus d'un lignage très peu commun car il est constitué de 4 génomes recombinés différents. Une recombinaison peut avoir lieu uniquement dans le cas où deux virus infectent la même cellule au même moment, et allient leurs matériels génétiques pour former un virus atypique. Si l'on prend en considération l'examen des épidémies causées par l'ingestion d'huîtres où plus d'un virus a souvent été découvert, l'hypothèse suivante peut être émise : la consommation d'huîtres contaminées multiples représente un risque en plus de génération de souches de norovirus atypique. Ce mécanisme correspond essentiellement à celui qui permet de générer un nouveau virus de la grippe pandémique. A ce jour, la virulence des souches atypiques n'a pas varié, mais la situation reste hors de contrôle.

En 2002, l'Europe et les États-Unis furent dévastés par une vague d'épidémies causées par une nouvelle variante de norovirus qui vit le jour, d'une manière ou d'une autre, aux alentours du mois de janvier et qui a largement dépassé le nombre "habituel" d'épidémies observées les années

précédentes. Les rapports publiés par la suite ont montré que ces variantes étaient déjà en circulation en milieu extrahospitalier depuis plusieurs mois, générant ainsi un nombre extraordinaire d'hospitalisations, chiffre reconnu seulement rétrospectivement et dans le cadre d'une étude ciblée. Une autre "vague épidémique" a eu lieu pendant l'hiver 2004/2005. Les deux épidémies se sont propagées sur une zone géographique vaste. Les mécanismes d'évolution de ces virus restent obscurs, mais si l'on considère les données importantes relatives aux transmissions d'origine alimentaire et hydrique, il est probable que les aliments jouent un rôle considérable dans la dissémination de ce type de variantes atypiques.

PROGRES RELATIFS A LA DETECTION DES VIRUS DANS LES ALIMENTS

Depuis 1999, beaucoup ont oeuvré au développement de méthodes de détection des virus dans les aliments. Sur ce point, la situation des coquillages diffère de celle des autres aliments. Les méthodes de détection des virus dans les coquillages ont été appliquées avec succès, puis l'Union Européenne a mis en place un réseau de laboratoires de références. Ce réseau travaille à une harmonisation des méthodes de détection des virus partout en Europe. Des progrès certains ont été notés au niveau technique, mais les données relatives à la mise en application de ces méthodes de contrôle restent inégales. La question de la mise en oeuvre de ce type de méthodes de contrôle est loin de trouver réponse.

La réponse à la question de la détection des virus dans d'autres aliments est plus incertaine encore. Certains des cas dont les épidémies d'origine alimentaire ont pu être confirmées à l'aide de l'identification de souches épidémiques dans un aliment, ont été rapportés. Mais aujourd'hui, ceux-ci font figure d'exceptions. Étant donnée la nature de la contamination virale, une des questions essentielles reste celle de la fiabilité à long terme du contrôle des aliments tel qu'il est appliqué aux contaminants bactériens. Par conséquent, les données relatives aux niveaux de contamination des aliments seront difficiles à obtenir. Ainsi, une question persiste : celle du besoin de modifications essentielles à l'approche d'analyse des risques en cas d'application de celle-ci aux virus.

PROGRES RELATIFS A LA CONNAISSANCE DES FACTEURS ENDOGENES

Une des percées capitales réalisées dans ce domaine a été de découvrir l'existence de nettes différences de sensibilité entre des personnes de groupe sanguin et d'autres marqueurs génétiques différents. Ce phénomène peut s'expliquer en observant que les particules de norovirus sont liées aux hydrates de carbone qui font partie des antigènes histo-érythrocytaires. Des recherches plus approfondies ont montré que les propriétés liantes changent en fonction des variantes génétiques, fournissant par là des modèles de sensibilités endogènes différentes. En d'autres termes, toutes les variantes de norovirus n'ont pas les mêmes effets. Des études réalisées sur des humains ont démontré qu'une variante particulière, le génogroupe II.4 de norovirus semble être le plus fréquemment rencontré dans le monde, notamment en raison des épidémies dont il est à l'origine en milieu institutionnel tel que les maisons de repos ou les hôpitaux). Curieusement, on trouve plus souvent dans les huîtres des virus appartenant à un génogroupe différent (GGI). Les causes de ce phénomène restent obscures. Une remarque intrigante a été émise en ce qui concerne la présence (et, de fait, l'accumulation) de norovirus dans les huîtres et leur apparente relation avec la présence d'hydrate de carbone similaires, ainsi qu'en ce qui concerne la concentration variable de ce type d'hydrates de carbones en fonction des souches des huîtres. Par conséquent, certaines sortes d'huîtres sont plus enclines que d'autres à accumuler des norovirus.

TRANSMISSION ZOONOTIQUE

Dans le document de travail de 1999, le potentiel de transmission zoonotique a été augmenté. À l'aide de la croissance du nombre de données disponibles, grâce au contrôle effectué sur des sujets humains, aucun virus susceptible de correspondre à des souches prélevées chez des animaux n'a été identifié. Ainsi, il est peu probable que les norovirus soient directement zoonotiques, à la façon de *Salmonella*. Cependant, les virus découverts chez des sujets animaux et ceux découverts chez des

sujets humains sont génétiquement liés, et une question persiste : dans certaines circonstances, peut-il se produire un mélange génétique, engendrant ainsi la naissance de virus atypiques ? Les données systématiques provenant de zones à haut risque, c'est-à-dire des zones où les humains et les animaux vivent à proximité et dans des conditions d'hygiène minimales, ne sont pas disponibles.

MALADIES VIRALES EMERGENTES

En ce qui concerne l'hépatite E, il a été prouvé, de manière fiable, que des infections d'origine alimentaire existent, et que l'HEV se manifeste de manière endémique dans des régions précédemment considérées comme exemptes de ce type de virus. Les modes exacts de transmission sont encore à l'étude. Un certain nombre de virus similaires ont été identifiés chez des cochons et chez des humains dans différentes régions du monde (Japon, États-Unis, Europe).

Pendant l'épidémie de SRAS, de plus en plus de données se sont révélées disponibles quant au potentiel de propagation du coronavirus de la SRAS par voies fécale et orale. De manière similaire, avec la menace grandissante que représente le virus de la grippe aviaire pour les humains, des questions relatives au potentiel d'introduction et de propagation de ces virus par les aliments, ont été soulevées. Bien qu'aucune preuve n'ait été faite du rôle éventuel joué par les aliments dans la transmission de ces virus aux humains, cet élément a souligné l'importance de mesures de contrôle ciblées dans l'éventualité de l'introduction d'un nouveau virus dans la chaîne alimentaire. Les données disponibles relatives aux norovirus peuvent servir de modèle pour identifier les carences et les défauts de connaissance du système actuel de contrôle des infections virales d'origine alimentaire.

Les faiblesses décelées dans le système actuel de contrôle de la transmission des virus par la chaîne alimentaire, sont de plus en plus visibles dans la documentation, et sont en passe d'être connues de tous en raison de l'intérêt du public grandissant qui fait suite aux épidémies de norovirus de 2002 et 2004. Bon nombre de médias populaires ont consacré des articles et des émissions aux norovirus ainsi qu'à la manière dont ils peuvent être transmis. Ce phénomène a eu pour conséquence de soulever la polémique quant à la vulnérabilité de la chaîne alimentaire en termes de contamination volontaire par des virus.

CONCLUSIONS

- *Des études épidémiologiques menées depuis 1999 ont montré que les virus et en particulier les norovirus, sont les causes les plus communément diagnostiquées de gastro-entérites extrahospitalières, y compris les maladies d'origine alimentaire. Actuellement, les estimations les moins alarmantes concernent approximativement 10 à 15% des cas et des épidémies extrahospitaliers, que l'on peut directement associer à des transmissions de norovirus d'origine alimentaire.*
- *Les enquêtes systématiques sur les épidémies se font rares, et fournissent pour l'instant un nombre de données suffisant pour les événements de source commune relatifs à une petite proportion d'épidémies seulement. Lorsque disponibles, les données jouent un rôle considérable dans la transmission d'origine alimentaire de norovirus.*
- *L'exemple récent de la SRAS, ainsi que la menace que représentent la grippe aviaire et le bioterrorisme, ont soulevé d'importantes questions portant sur le potentiel de transmission d'origine alimentaire de pathogènes à haut risque de ce type.*
- *Les épidémies d'origine alimentaire se sont déclarées et ont entraîné une exposition simultanée des malades à un mélange de différents virus. Ces virus sont susceptibles d'échanger des gènes afin de former des variantes atypiques. D'un point de vue virologique, cette situation est extrêmement indésirable en raison de la nature imprévisible du résultat de ce type de processus de mélange (recombinaison). La SRAS comme la grippe pandémique sont des exemples de virus qui peuvent déclencher des épidémies en raison de changements génétiques brusques.*

- *À ce jour, il n'existe que peu de données relatives à une éventuelle transmission zoonotique de norovirus, bien que des virus liés génétiquement aient été découverts chez plusieurs espèces animales. La question de l'incidence d'un mélange génétique de virus animal et humain sur la création d'une nouvelle variante pathogénique, reste sans réponse mais ne peut être occultée à ce stade.*
- *Les progrès en matière de détection des virus dans les aliments sont lents et voient leur développement ralenti par des complexités d'ordre technique. Il est peu probable que les données de routine relatives au contrôle des aliments dans le but de déceler des virus, soient mises à disposition dans un futur proche, à l'exception peut-être des données relatives aux coquillages.*

RECOMMANDATIONS

Un groupe de travail Codex a été proposé afin de développer, en sa qualité de gestionnaire des risques, un Profil des risques à utiliser dans le but de définir une politique d'évaluation des risques et par la suite assigner une l'évaluation des risques de présence de (noro)virus dans les aliments.

Le groupe de travail devrait s'attacher principalement à la révision des documents existants et des données disponibles fiables et adaptées à l'évaluation et à la gestion des risques liés aux (noro)Virus présents dans les aliments. Ces activités devraient aboutir à un Profil de risques permettant de définir les objectifs et le champ d'application d'une évaluation des risques de présence de (noro)Virus dans les aliments, dont la mise à exécution dépendra du JEMRA.

Les objectifs et le champ d'application d'une évaluation des risques de présence de (noro)virus dans les aliments, fondée sur le Profil de risques, devraient être définis.

Lorsque les résultats de l'évaluation des risques de présence de (noro)virus dans les aliments seront disponibles, le groupe de travail devrait développer des directives, basées sur l'évaluation des risques, de réduction des risques de présence de (noro)virus dans les aliments.

Le groupe de travail devrait se réunir pour la première fois en 2005.

Le profil de risques de présence de (noro)virus dans les aliments devrait être disponible ainsi que la politique d'évaluation des risques définie début 2006, de manière à ce qu'une évaluation des risques de présence de (noro)virus dans les aliments menée par le JEMRA puisse être assignée.

Les résultats de l'évaluation des risques devraient être rendus disponibles courant 2007.

Le groupe de travail sur les (noro)virus dans les aliments utilisera ces résultats afin de développer l'avant-projet de directives Codex de gestion des risques, dont la finalisation est prévue pour 2008 ou 2009. L'avant-projet de directives de gestion des risques sera disponible en 2008/9, ce qui rendra possibles son adoption et sa ratification respectives en 2009.

ANNEXE

commission du codex alimentarius

ORGANISATION DES NATIONS
UNIES POUR L'ALIMENTATION
ET L'AGRICULTURE

ORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTE

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

Point 11 de l'ordre du jour

**CX/FH 99/11
Octobre 1999**

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITE DU CODEX SUR L'HYGIENE ALIMENTAIRE

F

Trente-deuxième session

Washington, DC, U.S.A., du 29 novembre au 4 décembre, 1999

Document de travail sur les virus dans les Aliments

(Document préparé par les Pays-Bas avec l'aide de la Finlande, de l'Allemagne, de l'Italie et des USA)

HISTORIQUE

A la 31^{ème} Session du Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire, la délégation des Pays-Bas a présenté à l'attention du Comité un exposé scientifique sur les calicivirus¹ et a proposé que le CCFH prenne en considération les risques de sécurité alimentaire associés aux virus en vue de concevoir des recommandations pour leur contrôle.

Le Comité a pris connaissance de l'exposé et a reconnu que, dans l'attente de la formation d'un comité consultatif d'experts sur l'évaluation des risques microbiologiques, il pourrait être utile de revoir les questions relevant des maladies virales d'origine alimentaire, dans le cadre d'un document de travail destiné à clarifier les questions.

Le Comité a convenu que la Délégation des Pays bas prépare un document de travail sur le sujet en coopération avec plusieurs autres pays intéressés².

Des représentants du groupe de rédaction (présidé par les Pays Bas avec l'aide de la Finlande, de l'Allemagne, de l'Italie et des États-Unis d'Amérique) se sont rencontrés et ont élaboré ce *Document de travail sur les Infections virales d'origine alimentaire*.

Ce document présente un rapport complet des gastro-entérites virales d'origine alimentaire et d'origine hydrique avec un accent sur les calicivirus et les hépatites. Le document vise également les aliments à haut risque, la détection des virus dans les aliments et l'eau ainsi que l'état actuel de la prévention et de la désinfection.

¹ CRD 23, *Infections alimentaires par les calicivirus de type Norwalk* (syn. petits virus à structure ronds, SRSV). M. Koopmans.p

² ALINORM 99/13A, paragraphes 116 – 118.

1. INTRODUCTION GENERALE

1.1. INTRODUCTION

Les infections virales d'origine alimentaire et hydrique sont des causes de maladies chez l'être humain qui sont de plus en plus observées. Les raisons de cette augmentation relèvent davantage des tests diagnostiques améliorés qui contribuent à renforcer la détection de certains groupes de virus et des changements dans les méthodes de fabrication et les modes de consommation facilitant la distribution d'aliments à haut risque dans le monde entier (32). De grandes épidémies peuvent survenir ainsi suite à la contamination de les aliments par une seule personne manipulant les aliments ou à une seule source ainsi que cela a été dûment établi à plusieurs reprises pour le groupe de virus du type Norwalk.

De nombreux virus peuvent être présents dans le système intestinal (Tableau 1). Les virus véhiculés par les aliments et l'eau peuvent être divisés en trois catégories :

- i) Virus à l'origine des gastro-entérites (astrovirus, rotavirus, adénovirus de types 40 et 41, et les deux types de calicivirus entériques, les petits virus à structures rondes ou « virus de type Norwalk " (NLV), et les calicivirus typiques ou « virus de type Sapporo », (SLV).
- ii) Virus hépatique d'origine fécale transmis par voie orale : virus de l'hépatite A (HAV), virus de l'hépatite E (HEV)
- iii) Virus à l'origine d'autres maladies, ex. entérovirus.

De plus, le tableau ci-dessous comprend plusieurs virus qui se reproduisent dans le système intestinal mais qui ne sont pourtant pas impliqués dans la transmission de maladies d'origine alimentaire ou dont le rôle est inconnu.

Contrairement aux bactéries, les virus, sont strictement des parasites intracellulaires qui ne peuvent se reproduire dans les aliments ou dans l'eau. En conséquence, la contamination virale de les aliments n'augmente pas pendant la transformation et peut même diminuer. Ceci implique que l'infection virale par voie de nourriture contaminée dépend de ce qui suit :

1. Stabilité du virus
2. Quantités de virus présents/degré de contamination virale
3. Transformation de les aliments ou de l'eau
4. Probabilité d'infection après ingestion d'une particule de virus
5. Prédisposition de l'hôte

La plupart des virus véhiculés par les aliments ou l'eau sont relativement résistants à la chaleur, à la désinfection et aux changements de pH. Ce n'est pas un hasard si la plupart des groupes de virus impliqués dans des épidémies sont petits, des particules sans enveloppe, plutôt que des virus grands, fragiles et enveloppés. Les problèmes de la détection de la contamination virale des aliments ou de l'eau sont que –généralement- les produits contaminés ont une apparence, une odeur et un goût normaux et que les méthodes de diagnostic (moléculaires) pour la plupart de ces virus ne sont pas disponibles ordinairement dans les laboratoires de microbiologie alimentaire. Les causes virales majeures d'infections d'origine alimentaire sont étudiées dans le présent document. Nous avons mis l'accent sur les virus qui sont le plus couramment transmis par les aliments, notamment les calicivirus et le virus de l'hépatite A..

Tableau 1. Virus entériques groupés selon le syndrome clinique associé.

<i>Gastro-entérites</i>	<i>Probablement des gastro-entérites</i>
Rotavirus groupe A, B, C	Picobirnavirus
Adénovirus types 40,41	Torovirus
Sérotypes astrovirus 1-8	Coronavirus
Calicivirus de type Norwalk	Cytomégalovirus
Calicivirus de type Sapporo	HIV
	Virus de type Parvo, SRFV (Wollan, Ditchling)
<i>Hépatites</i>	AUTRES
Virus hépatite A	Entéroviruses: <ul style="list-style-type: none"> • polio 1-3 • coxsackie A 1-22, 24 • coxsackie B 1-6 • echo 1-9, 11-27, 29-34 • entéro 68-71
Virus hépatite E	Parvovirus?

1.2. SITUATION AU NIVEAU INTERNATIONAL

L'importance de la transmission des virus par les aliments est de plus en plus reconnue, et l'Organisation Mondiale de la Santé a signalé une tendance à la hausse au niveau de leur fréquence. Il est aussi généralement admis que l'impact de ces infections est extrêmement sous-estimé dans le cadre de la surveillance habituelle. Le vieillissement de la population (avec un nombre croissant de personnes sujettes à des risques de complications d'infections entériques) ainsi que la globalisation des maladies infectieuses en raison des voyages internationaux rapides et du commerce des produits alimentaires ajoutent à l'idée selon laquelle l'importance de ces maladies augmentera dans les années à venir. Ceci est démontré par l'attention accordée par les organisations nationales et internationales à ce problème: les infections d'origine alimentaire sont devenues la priorité et en tête des préoccupations de santé publique au sein de l'Union Européenne, et par un effort concerté de 15 instituts de santé publique. Dans plusieurs pays, (Pays Bas, GB, France, Finlande) les Ministres de la Santé Publique et de l'Agriculture ont sollicité de Conseils de Santé Publique ou de groupes d'experts un conseil sur l'impact de ces maladies de même que sur la prévention possible des infections d'origine alimentaire compte tenu du fait que leur fréquence est élevée et en constante augmentation (Comité Consultatif sur la sécurité microbiologique des aliments, 1998). De plus, des ministères aux Pays bas, GB et en France ont commandé des études épidémiologiques sur une grande échelle pour surveiller les tendances de la fréquence des gastro-entérites dans diverses populations.

En Finlande, suite aux travaux d'un groupe d'experts, un programme de surveillance renforcée (incluant un examen virologique) qui a été adopté en 1997 et a conduit à l'observation d'un nombre

bien plus considérable d'épidémies d'origine alimentaire et hydrique. Aux États-Unis, le Vice-Président Al Gore a lancé une initiative de plusieurs millions de dollars pour lutter contre la tendance à la hausse des infections d'origine alimentaire.

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

À l'occasion de cette initiative, le besoin de meilleures méthodes de diagnostic pour les infections virales d'origine alimentaire entre autres a été mis en valeur. Le Parlement Européen et le Conseil Européen ont accepté de mettre sur pied un réseau de surveillance pour la surveillance épidémiologique et la lutte contre les maladies infectieuses au sein de l'Union Européenne (Directive 2119/98/EG).

1.3. COUTS ENGENDRES PAR LES INFECTIONS.

Les coûts engendrés par les infections virales d'origine alimentaire ne sont pas connus avec précision mais ils doivent être considérables. Aux USA, quelque 9.000 décès et 81 millions de cas chaque année ont été attribués à la consommation d'aliments contaminés. (<http://www2.nas.edu/new/21b6.html>). Quelques-uns des pathogènes véhiculés par les aliments ayant fait l'objet d'évaluations de coûts, sont responsables à eux seuls de frais médicaux et de perte de productivité de l'ordre de 5 à 6 milliards de \$ par an aux USA(81). L'évaluation du coût total pour la salmonellose est de 1,2 à 1,5 milliards de \$. A titre de comparaison, des études épidémiologiques font clairement apparaître que les seuls calicivirus peuvent être la cause de maladies et même de décès dans les mêmes proportions que le *Salmonella* (14). Bien que les infections entériques virales n'occasionnent généralement que de légères indispositions, les coûts peuvent être élevés en raison de leur fréquence et de leur haut degré de transmissibilité. Des épidémies dans les hôpitaux peuvent créer des problèmes de logistique majeurs lorsque, ainsi qu'il est courant de l'observer avec les épidémies de gastro-entérites, 30 à 40% du personnel est affecté au moment où les patients ont le plus besoin de celui-ci (94, 95). Fréquemment, ces hôpitaux peuvent seulement infléchir la situation en fermant le service à de nouvelles admissions. De plus, certaines études indiquent que les infections virales causent des décès chez les personnes âgées, décès qui peuvent pourtant être facilement évités (14, 18, 44, 56). La contamination des aliments et les maladies y afférentes peuvent aussi avoir des conséquences économiques graves ainsi que démontré par deux épidémies récentes relativement petites au Danemark et en Suède à la suite de consommation de fruits de mer et de framboises : bien que la cause de ces épidémies n'ait pas été vraiment prouvée dans les deux cas, une interdiction de vente a été décrétée temporairement vis-à-vis des produits suspects.

Aux USA près de 60.000 cas d'hépatites A sont décelés chaque année sur lesquels un pourcentage estimé à 7.3% des cas était véhiculés par les aliments ou l'eau. Les épidémies d'hépatite A sont fréquentes dans des lieux de grande fréquentation tels que les institutions sanitaires, écoles, prisons et dans les forces armées. Le pourcentage d'adultes immunisés augmente avec l'âge mais l'âge auquel la plupart des infections surviennent est en train d'augmenter en Europe. Le nombre croissant d'individus prédisposés permet aux sources habituelles d'épidémies d'évoluer rapidement et le risque de telles épidémies est croissant (67).

2. GASTRO-ENTÉRITES VIRALES D'ORIGINE ALIMENTAIRE ET HYDRIQUE AVEC UN ACCENT SUR LES CALICIVIRUS

2.1. INTRODUCTION

Dans la plupart des études épidémiologiques sur les virus d'origine alimentaire et hydrique, des échantillons ont été testés pour détecter les virus par des techniques d'isolation de culture de tissus ou par microscopie électronique (ME). Certains virus entériques ne peuvent pourtant être l'objet de cultures de tissus et la ME n'est pas une méthode très pointue pour la détection de ces virus. De

simples tests de diagnostic comme le test ELISA, ne sont applicables que pour les spécimens cliniques des groupes rotavirus A et adénovirus. Aucune méthode de titrage similaire n'a été mise au point pour tester des échantillons alimentaires. Suite à ces lacunes, la gastro-entérite virale d'origine alimentaire n'est en général pas diagnostiquée.

En l'absence de méthodes de détection de ces virus, une tentative de diagnostic de gastro-entérite virale peut être faite en se fondant sur les critères épidémiologiques décrits par Kaplan et al (41). Les caractéristiques sont les suivantes: apparition de symptômes importants après une période d'incubation de 24 à 36 heures, vomissements et/ou diarrhées durant quelques jours, taux élevé d'affection (moyenne de 45%), et un grand nombre de complications (31, 41). Si on utilise cette approche, il est possible de déterminer que près de 32 à 42% des infections entériques alimentaires aux USA sont causées par des virus. Des épidémies de gastro-entérites peuvent être provoquées par des rotavirus, astrovirus ou des adénovirus (de type 40 et 41), ainsi que les calicivirus entériques humains. Les calicivirus humains sont de deux genres: "Virus de type Norwalk" (NLV), connus également comme petits virus à structure ronde ou SRSV, et les "virus de type Sapporo" (SLV), également intitulés calicivirus typiques (38, 39, 59). Les virus « NLV » provoquent des maladies chez des personnes de tous les groupes d'âge alors que les virus SLV affectent principalement les enfants (40).

L'importance relative des différents virus en tant que causes d'infections d'origine alimentaire et hydrique n'est pas connue avec précision, mais les calicivirus sont très clairement la cause principale des épidémies virales (41), et leur fréquence, selon certaines sources, serait en augmentation depuis ces dernières années (62, 99). L'"émergence" des calicivirus en tant que principal virus d'origine alimentaire ne constitue pas en tant que tel une véritable augmentation en fréquence, mais plutôt une prise de conscience plus grande combinée à des méthodes d'analyse améliorées. De grandes épidémies d'origine alimentaire et hydrique provoquées par les rotavirus des groupes B et C ont été décrites respectivement en Chine et au Japon (31). Le reste de ce chapitre abordera principalement les virus NLV, à moins qu'il ne soit indiqué autrement.

2.2. SYMPTOMES CLINIQUES

A la suite d'une période d'incubation de 1 à 3 jours, les personnes infectées peuvent développer une fièvre et des vomissements modérés, des diarrhées et maux de tête comme principaux symptômes. Les symptômes durent habituellement deux ou trois jours, bien que la maladie puisse durer plus longtemps chez les personnes âgées. On a pu associer des décès à des épidémies de NLV. Le taux moyen d'infection est grand (en général 45% ou plus). Le virus se transmet par les selles et les vomissures, depuis la période d'incubation jusqu'à 10 jours, parfois plus longtemps (36, 78). Les infections NLV sont hautement contagieuses, provoquant un taux élevé de transmissions par contact. Remarque: bien que des nourritures contaminées puissent contenir des agents multiples, des symptômes combinés peuvent apparaître.

2.3. EPIDEMIOLOGIE

Suite au perfectionnement des méthodes de détection moléculaire, il est devenu apparent que les infections NLV sont parmi les causes les plus importantes de gastro-entérites chez les adultes et surviennent souvent sous forme d'épidémie de cas d'origine alimentaire (Tableau 2). Aux Pays-Bas, approximativement 80% des épidémies de gastro-entérites qui sont signalées aux services municipaux de la santé sont provoqués par des virus NLV (95). Plus de la moitié de ces épidémies surviennent dans des maisons de retraite. La proportion d'épidémies d'origine alimentaire était de 17% de 1994 à 1999, 70% d'entre elles étant attribuées aux NLV (45). Ces chiffres sont sûrement très sous-estimés car les épidémies d'origine alimentaire sont fréquemment signalées plutôt auprès des services régionaux de l'hygiène alimentaire plutôt qu'aux services de santé municipaux. D'après un rapport sur toutes les épidémies d'infections intestinales en Angleterre et au Pays de Galles, 27% de celles-ci étaient causées par des NLV (32% des épidémies étaient dues au *Salmonella* spp) entre 1992

et 1994. Les virus NLV furent la cause de 6% des épidémies d'origine alimentaire. Compte tenu du fait que les spécimens issus des épidémies sont principalement examinés par microscope électronique, le nombre réel d'épidémies dues aux NLV est de nature à augmenter (14). Aux USA, 86 cas sur 90 (96%) des épidémies de gastro-entérites non bactériennes aiguës signalées au CDC entre janvier 1997 et juin 1998 furent causées par une infection NLV. Parmi ces épidémies pour lesquelles un mode de transmission a été signalé, 24 cas sur 51 (47%) furent considérés comme étant d'origine alimentaire (15). De même, en Finlande, les épidémies en milieu hospitalier (la plupart du temps dans les services de gériatrie) sont presque exclusivement causées par le virus NLV, mais il faut noter une grave sous-estimation des relevés. En Finlande, 56% des épidémies sont signalées comme étant d'origine alimentaire et les échantillons de selles prélevés (ainsi que des échantillons d'aliments dans certains cas) et soumis à une analyse ont montré la présence du NLV (65). 12 sur 15 échantillons montrèrent la présence de NLV pour les épidémies d'origine hydrique. Depuis 1998, 15 épidémies associées aux baies (framboises) ont donné lieu à l'interdiction d'utiliser des framboises non chauffées dans tous les services de traiteur et cuisines pour grande consommation (79). Depuis lors, quelques épidémies associées aux baies (framboises) sont néanmoins survenues lorsque cette interdiction n'était pas respectée. La plupart de ces épidémies étaient associées à des baies (framboises) importées. Le typage moléculaire a démontré que de nombreuses origines de NLV pouvaient être établies, ce qui illustre le fait que la contamination de ces aliments ne provenait pas d'une seule source (Figure 1).

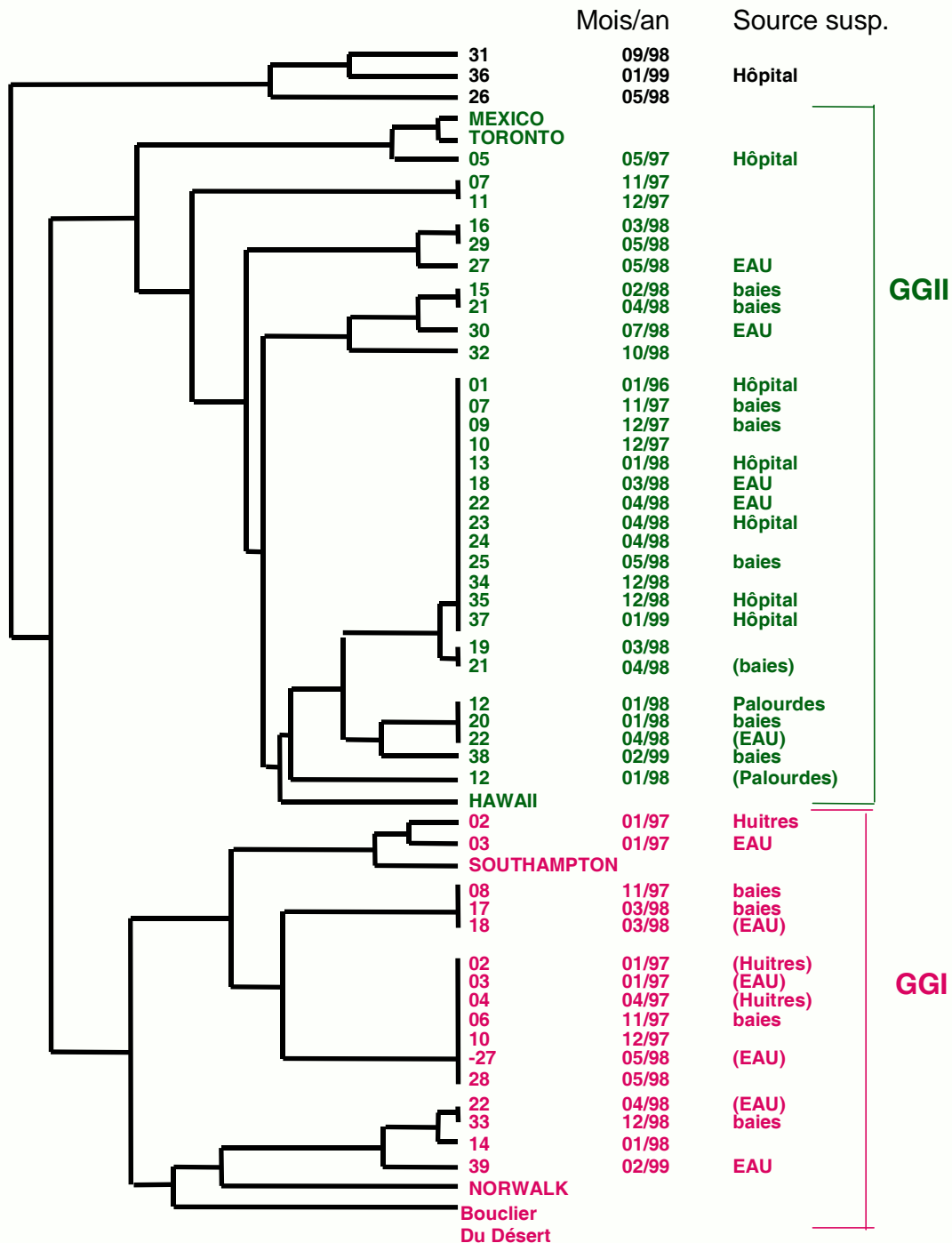
Tableau 2. Tableau récapitulatif des études épidémiologiques au cours desquelles des échantillons étaient analysés pour la recherche de NLV.

<i>Pays</i>	<i>Étude</i>	<i>Proportion Origine alimentaire</i>	<i>% NLV (Origine alimentaire)</i>	<i>Méthode</i>	<i>Référence</i>
US	Epidémies d'origine alimentaires	100	32-42	Epidémiologie	Kaplan, 1982
GB	Toutes épidémies	50	6	EM	Djuretic, 1996
US	Épidémies non bactériennes	47	96	PCR	Fankhauser, 1998
Hollande	Toutes épidémies	17	70	PCR	Vinje, 1996, 1997; Koopmans, 1999
Finlande	Alimentaire et hydrique	100	56	PCR	Maunula, 1999

Hormis ces épidémies, des publications récentes ont suggéré que les calicivirus sont parmi les causes les plus courantes de gastro-entérites sporadiques (45, 75, 97). Aux Pays Bas, 5% des patients qui consultent leur médecin pour des gastro-entérites sont infectés par le NLV (par rapport à 4% pour le *Salmonella*), de même que 17% des personnes d'une population surveillée qui a présenté des symptômes de diarrhée pendant les mois d'hiver (1, 33, 45). Des sujets de tous les groupes d'âges furent affectés et le taux d'affection était légèrement plus élevé chez les très jeunes enfants.

Figure 1: Arbre phylogénétique montrant les lignées NLV qui furent trouvées dans des épidémies de gastro-entérites en Finlande (identifiées par le chiffre), incluant 12 épidémies dans lesquelles les framboises étaient considérées comme la source la plus probable d'infections. GG = génogroupe. Les virus dits de Mexico, Toronto, Hawaii, Southampton, Norwalk et « Bouclier du Désert » sont des souches référence de NLV.

Shéma composé montrant les séquences nucléotides NLV



2.4. LES GROUPES A RISQUE

Les épidémies de gastro-entérites NLV (pas seulement alimentaires) sont fréquentes dans des institutions telles que des maisons de retraite ou des hôpitaux. Le taux important d'infections à la fois chez les résidents et les personnels de telles institutions conduit souvent à des problèmes de manques d'effectif pendant les épidémies. Des cas sporadiques de gastro-entérites virales arrivent fréquemment dans de tels environnements. Les facteurs de risque pour ces infections font actuellement l'objet d'enquêtes a Royaume Uni et aux Pays Bas. Selon Gerba et al (21) le groupe d'individus qui pourrait encourir le plus grand risque de maladie grave et de mortalité du fait de micro-organismes entériques d'origine hydrique ou alimentaire comprend les jeunes enfants, les personnes âgées, et les personnes immunodéprimées. Ce segment de la population représente à l'heure actuelle 20% de la population (aux États-Unis) et l'on s'attend à ce qu'il progresse considérablement au début du siècle prochain en raison de l'allongement de l'espérance de vie et l'augmentation du nombre de personnes immunodéficientes. Dans le monde, on peut attribuer plusieurs millions de décès aux maladies diarrhéiques, principalement dans les pays en voie de développement. Dans les pays développés, la mortalité due à la diarrhée est faible, mais peut survenir chez les jeunes enfants (7, 11, 76) et les vieillards (>50%; 18, 21, 56). Bien que des données spécifiques sur la mortalité du fait du virus NLV ne soient pas disponibles et, vu la fréquence élevée d'infections par le calivirus chez les vieillards, il est probable que des décès résultant d'infections par le calicivirus surviennent.

2.5. EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

La souche NLV comporte une grande diversité de types de virus, d'après une analyse de la séquence du génome et de la caractérisation antigénique (57, 58, 73). A ce jour, 15 génotypes distincts ont été isolés, mais compte tenu du fait que des souches supplémentaires sont désormais caractérisées, ce nombre est susceptible de progresser. Il est bien établi que plusieurs types différents de virus NLV sont présents, ensemble, dans la population générale, causant des infections et épidémies sporadiques. Habituellement, les séquences de souches sont (presque) toujours identiques au niveau d'une même épidémie, et sont différentes quand des spécimens de différentes épidémies sont analysées. Ainsi, lorsque des séquences identiques sont trouvées chez des patients différents ou dans différents cas groupés d'infections, une source commune d'infection peut être suspectée. Inversement, différentes séquences trouvées chez des personnes supposées souffrir d'une source commune d'infection suggèrent une contamination distincte, à moins qu'il y ait une association avec une contamination par épandage : dans les épidémies dues à une contamination par épandage, on rencontre souvent plus d'une souche (47, 65, 88).

Parfois, des épidémies surviennent avec une majorité d'infections causées par un seul type génétique (ex. aux Pays-Bas en 1996; 95). Ces épidémies peuvent être très étendues ou même mondiales (74). Les mécanismes derrière l'émergence de certains types d'épidémies sont inconnus. Certaines hypothèses font allusion à la transmission d'une seule souche d'origine alimentaire sur une grande échelle ou au débordement d'un réservoir probablement à usage non humain. Récemment, des NLC furent trouvés chez des porcs au Japon et dans le bétail au Royaume Uni (12, 60, 89).

2.6. IMMUNITE

On sait peu de choses quant à l'immunité face aux infections NLV. Des cas d'infections expérimentales chez des volontaires ont indiqué que les personnes infectées peuvent développer une immunité mais seulement pour une courte période et cette immunité est limitée au génotype infectant ou aux souches très apparentées (29, 73). Les volontaires porteurs d'anticorps contre le génotype infectant ont un plus grande risque de développer la maladie et une courbe de réponse à dose donnée plus raide (26, 72). La signification de ce phénomène n'est pas claire. Le manque de

d'immunité à large spectre et à long terme vis-à-vis d'une infection naturelle suggère que la mise au point d'un vaccin protecteur peut se révéler problématique.

2.7. TRANSMISSION

Les NLV sont transmis par contact direct de personnes à personnes ou indirectement par l'eau ou les aliments contaminés ou par des surfaces contaminées dans le milieu environnant. Il est clair que la transmission de personnes à personnes est de loin le mode de transmission le plus courant. Toutefois, de nombreuses épidémies NLV d'origine alimentaire ont été décrites et ont été souvent associées à un employé de la filière alimentaire (15, 20, 45, 65, 94, 95). Il est important de noter que la contamination peut survenir, non seulement à la fin de la chaîne de distribution, mais aussi à presque chaque étape de la distribution, de la ferme à la table du consommateur. Les employés de la filière alimentaire infectés peuvent transmettre des virus infectieux pendant la période d'incubation et après leur guérison (20, 61, 76). De plus, plusieurs épidémies de NLV d'origine hydrique ont été attribuées, à la fois directement (ex. consommation d'eau polluée) ou indirectement (ex. par des fruits lavés, par la nage ou la pratique du canoë dans des bassins de loisir)(6, 9, 27, 46, 47) aux sources de contamination. Il existe certains cas présumés de transmission du NLV par voie aérienne mais il n'est pas clair que cette piste soit d'une importance majeure.

Hormis la transmission de personne à personne au travers de véhicules alimentaires, la transmission animale a été signalée pour quelques virus entériques. Selon des similarités entre des cultures virales, la transmission des rotavirus du singe, du chat, chien, cheval et bétail aux humains est possible. Il n'existe aucun rapport sur ce problème, mais il y a peu de preuves selon lesquelles la transmission animale pourrait être une source majeure d'infections par rotavirus d'origine alimentaire (23, 98).

Jusqu'à une époque récente, il était établi que les NLV étaient des pathogènes véhiculés uniquement par l'homme. Toutefois, récemment, des NLV furent découverts chez des porc sains au Japon et dans des anciens spécimens de selles de veau provenant du Royaume Uni et d'Allemagne (12, 60, 89). Les virus du veau, appelés agent de Newbury agent et virus Jena sont pathogènes chez les jeunes veaux. Les deux calicivirus entériques bovins et le calicivirus entérique du cochon sont génétiquement distincts des souches humaines mais cohabitent avec la souche NLV. Dans une étude pilote aux Pays Bas, des ensembles d'échantillons de selles de veaux, de cochons à l'engraissement et de vaches adultes furent testés et le NLV y a été détecté. Trente-trois (45%) veaux sur les troupeaux testés démontrèrent la présence de souches NLV appartenant au génotype de Newbury, et un troupeau de cochons a révélé la présence d'un virus très similaire au calicivirus porcin du Japon (45). Ces découvertes soulèvent d'importantes questions sur les types d'hôtes véhiculant les NLV. A ce stade, il n'est pas certain si le NLV chez l'animal comporte des lignées stables génétiquement distinctes, ou font en fait partie d'un groupe commun de virus qui cohabitent et circulent entre les animaux et les hommes.

2.8. DIAGNOSTIC CHEZ L'HOMME

Dans les spécimens de selles, les virus peuvent être détectés par microscope électronique (tous les virus), des dosages immunitaires (groupe rotavirus A, adénovirus types 40/41, astrovirus), et des méthodes moléculaires (tous les virus décrits). La limite de détection varie selon les différentes méthodes, la méthode par microscope électronique étant la méthode la moins précise (limite de détection à peu près à 10^6 de particules par ml), et la méthode RT-PCR étant la méthode la plus précise (limite de détection de 10-100 particules par ml)(94). Ainsi, la détection des virus dans les spécimens de selles dépend des méthodes utilisées et du titrage des virus présents (rotavirus 10^{10} par ml, astrovirus 10^8 par ml, NLV 10^7 par ml). Compte tenu du fait que le titre des virus baisse pendant la maladie, il importe de prélever les spécimens de selles dans les premiers jours suivant l'éruption des symptômes, et qu'ils soient conservés à 4°C. Les infections par NLV ou SLV ont été diagnostiquées dans le passé par la visualisation des particules virales par microscope électronique. De nos jours, plusieurs méthodes de dosage RT-PCR largement réactifs sont disponibles et peuvent être utilisées à la fois

pour la détection et pour le géotypage (28, 73, 94). Les NLV ont été divisés en deux génogroupes (Figure 1) et provisoirement en 15 géotypes.

3. VIRUS HEPATIQUES

3.1. INTRODUCTION

Les virus qui causent l'hépatite peuvent être divisés en virus transmis de façon entérique (virus de l'hépatite A, virus de l'hépatite E), et les virus hépatiques véhiculés par le sang (hépatites B, C, D, G). Pour la transmission d'origines alimentaire et hydrique, seuls les virus transmis de façon entérique sont d'importance. Le virus de l'hépatite A (HAV) est un virus de la famille des *Picornaviridae*, à laquelle appartiennent également les entérovirus (incluant le virus de la polio). Le virus de l'hépatite E montre quelques ressemblances avec les virus de la famille des *Caliciviridae* (à laquelle les NLV appartiennent), mais n'a pas (encore) été inclus dans une famille de virus en raison de ses caractéristiques uniques.

L'hépatite E n'a été que récemment établie comme une cause de l'hépatite après que de très grandes épidémies d'origine hydrique soient survenues en Inde et au Pakistan. Les épidémies d'hépatite E d'origine alimentaire n'ont pas été documentées. Le virus est endémique sur une large zone géographique, tout d'abord dans des pays dotés d'installations sanitaires inadéquates où l'hépatite A est également endémique (Asie du Sud-Est, Sous-Continent Indien, Afrique), mais sa présence n'est pas aussi étendue que celle du HAV. Dans les pays industrialisés, les infections par l'hépatite E sont rares et généralement associées aux voyages (48, 91, 92). Il y a des indications selon lesquelles les infections de l'hépatite E peuvent être transmises à partir d'un réservoir à usage animal (70, 71). Les épidémies d'hépatite E se distinguent par leur plus grand taux d'infection chez des individus présentant des signes cliniques évidents âgés de 15 à 40 ans en comparaison avec d'autres groupes, ainsi que par un taux plus élevé de mortalité (0.5-3%) et un taux inhabituel de mortalité chez les femmes enceintes (15-20%). Dans les groupes d'âges plus jeunes, la majorité des infections par l'hépatite E peuvent se présenter sans jaunisse, à l'inverse de l'hépatite A présentant des signes cliniques apparents. (67). Étant donné que le HEV peut provoquer des maladies entraînant un taux de mortalité élevé chez les femmes enceintes, une étude de la transmission des virus par voie alimentaire devrait, selon nous, inclure l'HEV.

Le reste de ce chapitre traitera de l'hépatite A uniquement car la plupart des informations sont disponibles sur ce pathogène d'origine alimentaire bien reconnu. Ceci ne signifie aucunement que l'hépatite E ne soit pas une maladie importante, mais plutôt que les informations sur ce pathogène et son rôle dans la contamination d'origine alimentaire sont peu abondantes.

3.2. SYMPTOMES CLINIQUES

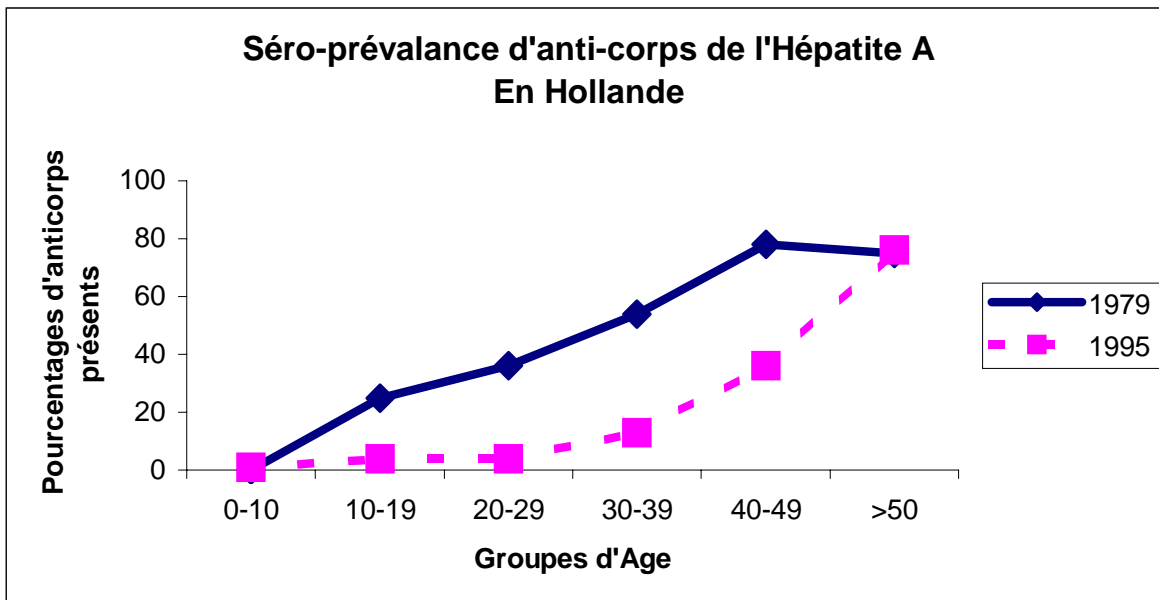
Après une période d'incubation de 2 à 7 semaines, l'infection par HAV provoque des symptômes non spécifiques tels que fièvre, maux de tête, fatigue, nausées et vomissements suivis par des symptômes d'hépatite, une ou deux semaines plus tard. Habituellement la transmission du virus continue jusqu'à une semaine après la jaunisse chez les adultes et 1 à 2 semaines chez les enfants, bien que des manifestations intermittentes prolongées puissent avoir lieu jusqu'à 90 jours chez les patients souffrant d'une rechute clinique. Les rechutes ont été constatées dans 1.5 à 18.5% des personnes (85). Les jeunes enfants peuvent transmettre le virus jusqu'à 5 mois après l'infection (84).

3.3. ÉPIDEMIOLOGIE

L'hépatite A est endémique dans le monde entier, mais sa fréquence a diminué spectaculairement dans de nombreuses régions en raison seulement des mesures sanitaires. Curieusement, une baisse initiale avait conduit à une augmentation du nombre de cas cliniques (lorsque les infections d'hépatite A sont moins fréquentes, le nombre d'individus développant l'immunité à un jeune âge diminue et la population à risque augmente) (Figure 2). Il en résulte que les infections peuvent avoir lieu plus

souvent dans les groupes plus âgés (par exemple en voyageant dans des zones endémiques). Chez les jeunes enfants, qui ont été infectés dans des régions où le virus est endémique, la plupart des infections (>95%) n'entraînent pas de symptômes et resteront non détectées; en revanche, chez les adultes, l'infection HAV peut provoquer une maladie plutôt grave chez 70 à 80% des personnes, avec un taux de mortalité de 3% (67). En Angleterre et au Pays de Galles, le nombre annuel d'infections HAV signalées a quadruplé de 1987 à 1991, soit de 3.6 à 14.6 pour 100.000 personnes (63). Pour cette même raison, le potentiel épidémiologique du virus HAV a augmenté (67). Le nombre de cas signalés a considérablement décliné au début des années soixante et s'est stabilisé dans les années soixante-dix à 5 à 7 cas pour 100,000 habitants. En Italie, les données collectées par un système de surveillance pour ce type spécifique d'hépatite virale aiguë (SEIEVA) a montré que la fréquence des infections par HAV a décliné de 10/100.000 en 1985 à 2/100.000 pendant la période 1987-1990, alors qu'une augmentation était observée après 1991. Le plus haut taux d'infection a été observé dans le groupe d'âge des 15-24 ans (68).

Figure 2: Séroprévalence des anticorps du virus de l'hépatite A aux Pays-Bas dans différents groupes d'âges en 1979 et 1995. Données tirées des références 17 et 66.



Dans une étude de cas témoins de l'hépatite A en Angleterre, les facteurs associés aux risques d'hépatite A incluait le voyage (taux probabilité [TP] 19.8; 95% intervalle de confiance [IC] 4.9-80.6), un contact avec l'hépatite A dans le foyer (TP 13.5; IC 6.5-28.0), la proximité d'un enfant entre 3 et 10 ans (TP 1.57; IC 2.2), la consommation de mollusques bivalves (TP 1.7; IC 1.2-2.4), et la consommation d'eau non traitée. (TP 1.85; IC 1.1-3.0)(63). Les risques supplémentaires sont le passage ou l'emploi au sein d'une garderie d'enfant, l'exposition à des aliments ou de l'eau contaminés pendant une épidémie, les activités homosexuelles et l'injection de drogues. Dans de nombreux cas, aucun facteur de risque n'est identifié.

Des études italiennes ont impliqué à nouveau la consommation de fruits de mer (TP = 2.6; IC = 2.4-2.9), le voyage dans des zones endémiques pour des gens résidant au nord et au centre de l'Italie (TP = 5.4; IC= 4.6-6.2) et le fait d'avoir un enfant dans une garderie (TP = 1.2; IC = 1.03-1.4), sont des facteurs indépendamment associés avec un risque accru d'infection HAV (68). La consommation de fruits de mer était la cause la plus fréquente signalée comme étant source d'infections pendant la période étudiée. Plusieurs épidémies d'hépatite A véhiculés par les aliments ou l'eau reliées à la consommation de nourritures contaminées ont été décrites (10, 13, 35, 55, 66). En 1996 et 1997, une grande épidémie d'HAV a eu lieu en Italie du sud. Dans la région des Pouilles avec 11 000 cas signalés et particulièrement parmi les jeunes adultes. Le principal facteur de risque dans cette épidémie fut la consommation de moules (64). Une grande épidémie d'hépatite A eut lieu en Finlande parmi les consommateurs de drogue (à peu près 300 cas) due à de l'amphétamine contaminée. Dans les situations d'épidémie, jusqu'à 20% des cas sont dus à une transmission secondaire.

3.4. GROUPES A RISQUE

Compte tenu du fait que le taux de mortalité des cas d'infection par l'hépatite A augmente avec l'âge, les risques sont plus grands chez les individus appartenant aux groupes d'âges plus élevés, à condition qu'ils n'aient pas été exposés au virus de l'hépatite A pendant toute leur vie. La baisse de la séroprévalance de l'hépatite A combinée avec le vieillissement de la population provoque une probabilité plus grande d'apparition d'épidémies et une progression de la maladie plus importante (16). Les

personnes ayant une infection par l'hépatite C, et probablement ceux avec une hépatite B chronique, se trouvent exposés à un risque accru d'hépatite fulminante suivant une surinfection par l'hépatite A (42, 93).

3.5. ÉPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

La détection moléculaire et les dosages pour sérotype ont été mis au point pour le virus de l'hépatite A (8, 82, 83). Elles ont été évaluées pour un usage sur des spécimens de selles de patients souffrant d'hépatites (90). Sept génotypes de virus d'hépatite A ont pu être reconnus, dont 4 qui affectent l'homme. Les trois autres génotypes ont été trouvés chez des singes en captivité (54). Les formes de transmission endémique peuvent être différenciées de celles où les infections sont importées par les voyages au moyen d'analyse de séquence de souches d'hépatites A découverts chez les patients. Cette diversité au niveau du genome peut être utilisée, et l'a été, pour déterminer la source d'épidémies d'origine alimentaire (35, 66), et d'épidémies d'origine hydrique (13).

3.6. IMMUNITE

Une seule infection d'hépatite A semble générer une immunité qui dure la vie entière. Un seul sérotype d'hépatite A a été trouvé, mais il est génétiquement distinct des lignées qui sont été trouvées dans des régions géographiques différentes. Il existe des vaccins d'hépatite A inactivés qui sont hautement immunogéniques et confèrent un niveau de protection important contre l'infection HAV. Il y a des indications selon lesquelles des vaccinations immédiatement après l'exposition peuvent aussi être protectrices (2, 3).

3.7. TRANSMISSION

Le virus de l'hépatite A est facilement transmis d'une personne à une autre. De plus, la transmission par les aliments et l'eau a été établie relativement au virus de l'hépatite A. Le risque de contracter l'infection par une contamination virale de fruits frais importés de nombreuses de régions différentes du monde est de plus en plus reconnu (35). Pendant la courte phase de contagion virale, la transmission sanguine est possible (2).

Le virus de l'hépatite A peu survivre de 12 semaines à 10 mois dans l'eau et il peut en résulter une infection par ingestion au travers d'une grande variété de fruits de mer venant de zones avec des eaux contaminées par les eaux d'épandage. Les épidémies par contamination hydrique ont été signalées à la fois en association avec l'absorption d'eaux contaminées par des matières fécales ou bien avec la pratique de la natation dans des piscines ou lacs contaminés (67).

3.8. DIAGNOSTIC CHEZ L'HOMME

Le diagnostic de l'infection par hépatite A est établi par la détection d'anticorps IgM spécifiques au virus trouvés dans le sérum. De plus, le virus (jusqu'à 10^9 particules par ml) peut être détecté dans des échantillons de selles en utilisant des méthodes moléculaires entre trois et cinq semaines après l'infection par le virus de l'hépatite A, qui survient habituellement bien avant la déclaration des symptômes cliniques. Cette période de latence représente un obstacle pour la prévention de l'infection. De plus, des rechutes peuvent survenir chez 18% des individus qui peuvent transmettre le virus pendant plusieurs mois (85) La détection du virus de l'hépatite A dans les fruits de mer et l'eau a déjà été décrite (section 4.2).

4. ASPECTS GENERAUX

4.1. ALIMENTS A RISQUE ELEVE

Les coquillages sont connus comme étant une source d'infections virales alimentaires en raison de la présence concentrée de virus dans les eaux contaminées (43). L'épuration, pratique qui peut réduire la contamination virale, n'est pas efficace pour réduire la contamination virale. D'autres aliments, ont cependant aussi été impliqués comme véhicules de transmission (desserts, fruits, légumes, salades, sandwiches). Le message clé est que toute nourriture traitée manuellement et non (suffisamment)

chauffée est une source possible de contamination (14). Il est important de noter que la contamination peut survenir, non seulement à la fin de la chaîne de distribution, mais aussi à presque chaque étape de la distribution, de la ferme à la table du consommateur.

4.2. DETECTION DU VIRUS DANS LES ALIMENTS ET L'EAU

Bien que les méthodes de diagnostic aient été élaborées pour la détection de virus ou de virus RNA dans les aliments et l'eau, elles ne se sont pas utilisées systématiquement dans les laboratoires de la plupart des régions du monde (4, 5, 19, 22, 24, 25, 37, 49-53). La plupart des études sur la détection de virus dans les aliments se sont focalisées sur les coquillages, pour lesquels des protocoles légèrement différents ont été créés, et des études comparatives sont nécessaires pour déterminer quelles méthodes d'analyse devraient être recommandées. La valeur indicative d'un test négatif demeure assez peu claire. Cette information est nécessaire avant que les analyses de tels spécimens puissent être faites pour contrôler la contamination.

Un problème particulier réside dans le fait que les calicivirus ne peuvent être cultivés dans des cultures de tissus, et les virus de l'hépatite A ne peuvent l'être qu'avec un succès réduit. Il en découle que les données sur la corrélation entre la présence de gènes viraux (tels que testés par la méthode RT-PCR) et les virus viables sont absentes. Pour un diagnostic épidémiologique, l'approche actuelle est l'examen de spécimens de selles pour les cas infectieux et les contrôles combinés avec une enquête épidémiologique pour évaluer les taux d'infections spécifiques aux aliments. Les aliments comportant un taux de risque significatif peuvent donc être examinés par les méthodes d'analyse moléculaire, bien qu'aucune information ne soit disponible sur la précision de ces méthodes en matière de diagnostic d'épidémie. Le contrôle de la qualité des aliments et de l'eau par la détection d'organismes indicateurs de contamination fécale s'est avéré peu fiable pour établir une contamination virale.

En ce qui concerne les coquillages, l'examen des eaux montantes ou des coquillages pourrait être effectué mais la précision relative de ces approches doit être évaluée. Quand les virus NLV sont détectés dans les aliments, des sérotypes peuvent être utilisés pour établir les modes de transmission et pour confirmer ou au contraire infirmer les associations épidémiologiques avec certains cas d'infection.

4.3. PREVENTION ET DESINFECTION

Il est nécessaire d'augmenter la prise de conscience de tous les employés de la filière alimentaire au sujet de la transmission des virus entériques avec un accent spécial sur le risque de transmission « silencieuse » par des personnes infectées de façon asymptomatique et celles continuant à propager le virus après la disparition des symptômes. Bien qu'il soit difficile de déterminer la proportion d'infections d'origine alimentaire pouvant être attribuée à des employés, à différents points de la chaîne alimentaire, il est important que les virus soient couverts par les Systèmes d'analyse des risques - Points critiques pour leur maîtrise, scientifiquement fondés (HACCP) pour identifier les risques et identifier les lacunes au niveau des connaissances (ex. Tableau 3). A ce jour, des données insuffisantes sont disponibles pour déterminer les étapes critiques pour tous les aliments. Les mesures préventives diffèrent selon les différentes voies de transmission.

- i) Coquillages: pour les coquillages, un contrôle strict de la qualité des eaux montantes peut empêcher la contamination des coquillages. Ceci inclut le contrôle des eaux usées rejetées par les bateaux commerciaux et de plaisance. Des guides spécifiques sont nécessaires visant pour la réduction de la contamination virale car il est clair que les indicateurs actuels en matière de qualité de l'eau et des coquillages sont insuffisants en tant qu'indicateurs de futures contaminations virales.
- ii) Produits alimentaires contaminés par des employés contaminés: l'hygiène personnelle est essentielle dans la prévention de l'intoxication virale alimentaire, et comprend des lavages de mains fréquents et le port de gants. Ceci devrait s'appliquer à toutes les étapes de la chaîne alimentaire où les nourritures sont traitées à la main. L'ID50 (indice d'infection de 50% des personnes exposées) du virus

NLV paraît extrêmement faible (72). Il en résulte que, même avec des mesures sanitaires strictes, il est difficile d'empêcher les cas d'infection. Les épidémies d'origine alimentaire sont survenues en raison de sources d'aliments contaminés qui avaient tous subi des analyses microbiologiques qui se sont révélées négatives. Un conseil de bon sens consiste à écarter de la chaîne de production toutes les personnes présentant des symptômes de gastro-entérite jusqu'à deux jours après la disparition des symptômes. Il existe un problème pratique à cet égard dans la mesure où une proportion inconnue d'infections virales peuvent être sous-cliniques et que, même pendant la période d'incubation, les personnes infectées pourraient propager suffisamment de virus pour provoquer une contamination alimentaire (61). La cinétique de la propagation virale n'a été étudiée que chez quelques volontaires infectés et peut ne pas refléter la situation réelle si les individus ont pu avoir été infectés par une faible dose du virus infectieux. Etant donné la nature hautement infectieuse du virus NLV et le risque connu de transmission du virus aux aliments pendant la période d'incubation, il conviendrait d'élaborer des directives pour couvrir l'apparition de gastro-entérites au contact (ex. enfants) de personnes travaillant sur des points critiques de la chaîne alimentaire. Ces directives devraient être fondées sur des données cinétiques relative à la propagation virale à la suite d'une infection naturelle.

La mondialisation du marché alimentaire a entravé l'application de mesures de maîtrise pour assurer la sécurité alimentaire. Il n'est pas aisé de déterminer si le contrôle routinier de spécimens alimentaires pour détecter une contamination virale sera faisable. Toutefois, il est essentiel que les produits alimentaires ne soient pas cultivés ou lavés dans des eaux contaminées par des matières fécales afin de parvenir à la prévention de la transmission par voie alimentaire.

Des épidémies par infections alimentaires pourraient être signalées plus vite en utilisant, par exemple, le "système rapide d'alerte alimentaire" de l'Union Européenne ou le « Foodnet » des USA et fournirait davantage d'informations s'il était procédé aussi à la classification des souches de virus.

En ce qui concerne les autres virus entériques, l'hygiène personnelle est de la plus grande importance quant à la prévention d'infections par hépatite virale d'origine alimentaire. Les problèmes comprennent la longue période d'incubation et le fait que d'une part les personnes infectées propagent des hauts niveaux infectieux de virus avant la déclaration de la maladie et que, d'autre part, les infections peuvent ne pas conduire à des symptômes cliniques. Il en résulte que plusieurs épidémies d'origine alimentaire ont été décrites comme étant dues à un employé de la filière alimentaire infecté (30, 86). De plus, la transmission de l'infection a eu lieu par l'entremise de fruits frais cultivés dans des zones où ils étaient arrosés par de l'eau contaminée par des matières fécales. Ceci implique que les produits destinés à la consommation humaine ne devraient être cultivés qu'avec de l'eau de très grande qualité. Un vaccin est disponible pour l'hépatite A et les expositions suite à des contacts peuvent être traitées avec de l'immunoglobuline. Le Comité consultatif sur les pratiques de vaccination (ACIP), USA, recommande une vaccination HAV pour 1) les personnes voyageant vers des pays qui ont un niveau élevé ou intermédiaire d'infection endémique, 2) les enfants dans des communautés qui connaissent des taux importants de contamination HAV; 3) les hommes ayant des relations homosexuelles, 4) les utilisateurs de drogues illégales; 5) les personnes associées à un risque professionnel d'AV ; 6) les personnes souffrant d'une maladie du foie chronique ; 7) les personnes souffrant de désordres du taux de coagulation; 8) les autres groupes dont les employés de la filière alimentaire (2). Le fait de savoir si la vaccination HAV est efficace pour prévenir la transmission par voie alimentaire et ce dans des pays ou régions spécifiques, dépend de nombreux facteurs locaux (ex. niveau d'endémicité, conditions d'hygiène) et doit être évalué de façon spécifique en se fondant sur l'analyse HACCP.

Les virus NLV peuvent survivre en dehors de l'hôte et sont résistant à la plupart des désinfectants courants et aux fluctuations de pH extrêmes, étant par ailleurs hautement infectieux. Il en résulte que la transmission du virus par vecteur passif est probable.

Il est important de noter que la contamination peut se propager après avoir vomi, par les particules en suspension dans l'air. L'effet des désinfectants sur l'infectiosité du virus NLV n'a pratiquement pas été

étudié en raison de l'absence d'un système de culture de tissus ou de modèle animal. Des expériences sur des volontaires adultes dans les années 80 suggèrent que les virus de type Norwalk (un des prototypes NLV) résiste à un pH bas (2.7), à l'extraction d'éther et au traitement par la chaleur (30 minutes à 60°C). Il est dit que le virus serait assez résistant au chlore, le virus restant infectieux après 30 minutes en présence de 0.5-1 mg de chlore par litre. A de plus hautes concentrations, le virus est inactivé (>2 mg par litre de chlore libre; 40). Ces découvertes doivent être interprétées avec attention car les données sur des études des réponses à dose donnée montrent clairement que de très hautes doses de virus étaient utilisées dans des expériences précédentes sur des volontaires et tendent donc à remettre en question les expériences effectuées. Il en résulte que la réduction de l'infectiosité suite aux différents traitements peut ne pas avoir été détectée.

Suite à une méthode de détection semi-quantitative en utilisant des unités PCR, les procédés de traitement de l'eau potable utilisant la procédure de coagulation-flocculation-sédimentation, la filtration et la désinfection avec du chlore, de la monochloramine, de l'ozone, du dioxyde de chlore ou l'ionisation par rayons UV réduisent tous le nombre de virus de type Norwalk de plus de 4 log (87).

Le virus de l'hépatite A est supposé résister à un pH faible (jusqu'à pH1) et est résistant à la chaleur puisqu'il survit pendant une heure à 60° (54)

Tableau 3: Etapes de la connaissance sur les pathogènes infectieux d'origine alimentaire NLV (adapté aux virus, à partir d'un exposé de R. Tauxe: Emerging foodborne diseases : an evolving public health challenge. 17^{ième} Conférence Internationale du Comité sur la Microbiologie et l'Hygiène Alimentaire, 1999)

Quelle est la maladie?	Gastro-entérite
Quel est le pathogène microbien?	NLV
Comment l'identifier aisément chez l'homme?	Par dosage moléculaire
Comment l'identifier dans les aliments ?	?? Quelques analyses disponibles mais les informations sur la valeur de prédiction du test négatif sont peu nombreuses.
L'infection est-elle courante?	Première cause d'épidémies de gastro-entérites alimentaires non bactériennes
Quels sont les aliments sources?	1. Coquillages. 2. Aliments traités à la main et non chauffés par la suite.
Comment le pathogène est-il introduit?	1. Employés de la filière alimentaire à n'importe quelle étape de la distribution, de la ferme à la table du consommateur. 2. Irrigation ou lavage avec de l'eau contaminée (contamination fécale). 3. Transmission animale non déterminée.
Comment la traiter?	Traitement des symptômes uniquement
Comment prévenir la maladie ?	Mesures d'hygiène strictes
La stratégie préventive fonctionne-t-elle?	?

5. Législation, règles et réglementations La Directive du Conseil 91/492/EC demande un contrôle sanitaire légal des coquillages et stipule que les coquillages à destination du marché doivent contenir ≤ 230 *Escherichia coli*, ou dans 100 g de chair de coquillage. Toutefois, ces paramètres bactériologiques sont inadéquats relativement au contrôle de la contamination virale puisqu'une absence de corrélation a été démontrée entre la présence de virus et les bactéries coliformes (25, 96); en fait le virus HAV a été détecté dans des moules qui autrement correspondaient aux normes bactériologiques. L'investigation et la surveillance de la transmission

animale seront requises dans le cadre de la Directive du Parlement Européen et du Conseil sur la surveillance des zoonoses (DGVI, document VI/99EN-Rév.1a).

6. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

6.1. CONCLUSIONS

- Jusqu'à présent, les connaissances détaillées sur les virus dans les aliments n'ont pas été réunis ; ce « Document de Travail sur les Virus dans les Aliments » représente un début de compilation des informations. Les données présentées dans ce document démontrent que les virus dans les aliments peuvent être une source importante de maladies d'origine alimentaire.
- Ce Document de Travail offre de nombreux conseils pertinents. Il suggère la nécessité critique de recherches, d'études et d'évaluations afin de délimiter plus clairement les besoins tels que :
 - Déterminer les modes habituels de transmission des virus, y compris les infections d'origine alimentaire
 - Améliorer la surveillance de la maladie et les outils pour la détection moléculaire des virus au travers de la chaîne alimentaire
 - Elaborer des méthodes nouvelles et améliorées pour la détection et la classification des virus véhiculés par les aliments et utiliser ces méthodes pour analyser les aliments
 - Elaborer des plans de surveillance pour déterminer les aliments à haut risque sont associés à la contamination virale
 - Déterminer les mécanismes d'émergence de souches épidémiques, y compris le lien avec les infections par le calicivirus porcine
 - Evaluer si les campagnes publiques dirigées vers la prévention des infections virales d'origine alimentaire sont susceptibles de réussir.
 - Evaluer les risques de contamination virale des aliments suite à l'utilisation des dépôts et eaux usées pour l'irrigation relativement
 - Envisager l'incorporation des virus d'origine alimentaire dans les programmes de sécurité alimentaire
- Lorsque l'on conçoit un programme de contrôle d'hygiène, il est important de prendre en considération les conseils qui précèdent, spécialement dans les milieux où les virus venant de l'homme, de l'animal, ou de l'environnement seraient de nature à causer une contamination importante des produits alimentaires.
- Les mesures d'hygiène existantes destinées au contrôle bactérien des infections alimentaires pourraient contribuer à la prévention des infections virales de aliments, bien que ces mesures ne soient pas validées à cet effet dans la plupart des cas. Cela signifie que les infections virales ne peuvent pas être écartées quand des mesures d'hygiène « traditionnelles » sont appliquées correctement.
- A ce stade, tel que démontré dans ce document, la connaissance disponible concernant l'infection virale d'origine alimentaire n'est pas suffisante pour établir des mesures de maîtrise suffisantes sous forme de Directive Codex classique. Il sera peut-être possible de parvenir à cet objectif dans une phase ultérieure quand l'état des connaissances dans ce domaine permettra d'établir des mesures de maîtrise plus réalisables.

6.2 RECOMMANDATION

EN CAS D'ETUDE DU PRESENT « DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES VIRUS DANS LES ALIMENTS », IL EST RECOMMANDE DE COMMUNIQUER LES INFORMATIONS LIMITEES CI-INCLUSES AU PLUS GRAND NOMBRE DE PERSONNES POSSIBLE, NON SEULEMENT POUR ACCROITRE LES CONNAISSANCES DANS CE DOMAINE MAIS AUSSI POUR CONTRIBUER AUTANT QUE POSSIBLE A LA PREVENTION DES INFECTIONS VIRALES PAR LES ALIMENTS. UN DOCUMENT CODEX SUR LES « MESURES DE MAITRISE POUR LES VIRUS D'ORIGINE ALIMENTAIRE » COMPARABLE AU DOCUMENT ACTUELLEMENT PREPARE SUR LE LISTERIA MONOCYTOGENES SEMBLE REPRESENTER UN FORMAT APPROPRIE POUR COMMUNIQUER LES INFORMATIONS DISPONIBLES AU NIVEAU INTERNATIONAL.

7. RÉFÉRENCES

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 gastro-entérites 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 gastro-entérites 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 gastro-entérites 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. Gastro-entérites 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 épidémies 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 épidémies of gastro-entérites 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 gastro-entérites 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 gastro-entérites 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. Épidémies of food-borne and waterborne viral gastro-entérites. *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 épidémies of foodborne gastro-entérites 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 épidémies of acute gastro-enteritis. *Am. J. Public Health* 1982;72:1329-1332.
42. Keeffe 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 gastro-entérites associated with eating raw oysters. *JAMA* 1995;273:466-471.
44. Koopmans, M. Deaths asociated with épidémies 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 gastro-entérites. *Scand. J. Infect. Dis.* 1997;29:415-8.

47. Kukkula, M., Maunula, L. Silvennoinen, E. and C.- H. v.Bonsdorff: Outbreak of viral gastro-entérites 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 épidémies of gastro-entérites 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 gastro-entérites in a group of hospitals. *Epidemiol. Infect.* 1994;113:513-521.
62. Low, A., McNamara, M., Schweiger, M.S. Foodborne viral gastro-entérites. *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 sprodic 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 Surveill* 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 épidémies of nonbacterial acute gastro-entérites 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 gastro-entérites 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 gastro-entérites 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 gastro-entérites 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 gastro-entérites 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. Épidémies of Norwalk-like virus-associated gastro-entérites 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 épidémies of gastro-entérites 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 épidémies of gastro-entérites 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.