

# comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES  
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA  
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN  
MUNDIAL  
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

**Tema 13 (b) del programa**

**CX/FH 05/37/14**

**Febrero de 2005**

## **PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS**

### **COMITÉ DEL CODEX SOBRE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS**

**Trigésima séptima reunión**

**Buenos Aires, Argentina, del 14 al 19 de marzo de 2005**

# S

### **DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LOS VIRUS EN LOS ALIMENTOS**

*Preparado por los Países Bajos*

#### **ANTECEDENTES**

Desde la preparación del documento CX/FH 99/11, “Documento de Debate sobre los Virus en los Alimentos” (véase el Apéndice de este documento), para la 32<sup>a</sup> reunión del Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos (CCFH), se ha logrado un avance considerable en los conocimientos sobre los virus que pueden ser transmitidos por medio de la cadena alimentaria. En el documento se recalcan algunas de las áreas de avance más importantes. Ésta no es una reseña exhaustiva, pero debería ser vista como un muestreo de las distintas áreas, que se concentra principalmente en la descripción del problema de la salud pública.

#### **EPIDEMIOLOGÍA**

En los Países Bajos y en el Reino Unido se han realizado estudios de enfermedades intestinales infecciosas extrahospitalarias y éstos han demostrado que las enfermedades víricas son la causa de un gran porcentaje de casos de gastroenteritis extrahospitalaria, especialmente los norovirus. En el caso de los Países Bajos (con una población de 16 millones), se estima que >500 000 casos de enfermedades causadas por norovirus ocurrieron en la comunidad durante el período de estudio (1999). Muchos estudios más pequeños, en poblaciones limitadas, han confirmado la gran cantidad de enfermedades causadas por los norovirus.

En un análisis de factores de riesgo, en el que se utilizaron datos recolectados mediante cuestionarios durante un estudio basado en la comunidad, se estimó que del 12% al 17% de las infecciones por norovirus en los Países Bajos están probablemente relacionadas con los alimentos. Esto no pudo ser especificado en más detalle, para definir los riesgos para productos alimenticios específicos, pero proporciona estimaciones de la incidencia de enfermedades transmitidas por los alimentos causadas por los norovirus que corresponden al mismo rango de las incidencias para *Salmonella* y *Campylobacter*.

Además de la gran influencia de los norovirus como una causa de casos “esporádicos” en la comunidad, estos virus son probablemente mejor conocidos por su propensión a causar brotes epidémicos en los

entornos institucionales. Hay una gran cantidad de estudios de brotes publicados desde 1999, los cuales describen a los norovirus como causas de enfermedades transmitidas por los alimentos y el agua causadas, por ejemplo, por mariscos o frambuesas contaminadas.

A pesar de que estas descripciones de brotes claramente indican la posibilidad de infecciones por norovirus relacionadas con los alimentos, se ha realizado muy poco trabajo para determinar el porcentaje de todos los brotes que es atribuible a los medios específicos de transmisión. Sin embargo, los sistemas de vigilancia de brotes que fueron creados en Australia, EE.UU. y Europa están empezando a determinar el porcentaje de los casos notificados de brotes que se cree es causado por virus, y de nuevo, los virus están siendo identificados cada vez más como los agentes etiológicos. Un problema en la comparación de los datos es que existe muy poca normalización en la manera en la que se preparan los informes de los brotes y en la manera en la que se detectan los virus. Por consiguiente, la comparación internacional de datos es una tarea desafiante.

Un estudio en Europa identificó entre 0 y 21 brotes de enfermedades causadas por norovirus por millón de habitantes en los distintos países. Estas diferencias muy probablemente resultan de las diferencias en la estructura de los sistemas de vigilancia o en la calidad de la vigilancia misma. Aproximadamente el 10 % de estos brotes fueron notificados a estar posiblemente relacionados con una transmisión por alimentos o por agua, aunque las pruebas presentadas eran con frecuencia descriptivas. Solamente en un pequeño porcentaje de todos los brotes notificados hubo datos anotados sobre el posible vehículo de infección. Entre ellos, el 12% fue atribuido al consumo de ostras, mientras que el resto se atribuyó a una mezcla de otros productos alimenticios. Es difícil separar la transmisión por alimentos de la transmisión por agua. Varios informes de casos ilustran que sí ocurre la transmisión de los norovirus por agua, y probablemente el número real de casos es mucho más alto que el número notificado. Un estudio que identificó genes víricos en un alto porcentaje de aguas minerales embotelladas provocó grandes debates pero los resultados no pudieron ser confirmados por otras fuentes. Los informes publicados sobre las enfermedades transmitidas por el agua, sin embargo, ilustran que éstas pueden ser difíciles de detectar por medio de la vigilancia rutinaria sin el uso de estudios específicos.

## **REPERCUSIONES INDIRECTAS DE LAS ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LOS ALIMENTOS**

El incremento de las infecciones transmitidas por los alimentos por medio de las transmisiones de persona a persona, es un problema que necesita ser estudiado más a fondo. Los brotes iniciales ocurrirán en las personas que comieron las ostras, por ejemplo, pero pueden ocurrir surgimientos secundarios y terciarios de infecciones, los cuales son entonces reconocidos como brotes transmitidos de persona a persona. A pesar de que desde un punto de vista técnico éstos son de hecho brotes transmitidos de una persona a otra, uno podría debatir el punto de que éstos también deberían ser atribuibles a los alimentos. Esto se ejemplifica en lo siguiente: En el invierno de 2000/2001, cerca de Año Nuevo, se presentaron en 3 países varios brotes de enfermedades causadas por norovirus, y éstas estaban relacionadas con mariscos importados. Los virus fueron focos obvios de atención, porque eran de un tipo poco común que no había sido observado en la mayoría de los estudios antes de esa fecha. Por medio del rastreo de este virus se descubrió que hubo más de 200 brotes en 7 países, después de esta introducción inicial.

## **GENÉTICA VÍRICA**

Además, en el ejemplo anterior, se demostró que éste era un linaje vírico extremadamente raro, porque consistía en 4 diferentes genomas recombinados. La recombinación sólo puede suceder si dos virus infectan la misma célula al mismo tiempo, y mezclan su material genético para formar esencialmente un nuevo virus. Debido a que se encontró con frecuencia más de un virus en los brotes examinados relacionados con las ostras, se puede postular que el consumo de ostras contaminadas con varios virus constituye un riesgo adicional para la generación de nuevas cepas de norovirus. Éste es esencialmente el mismo mecanismo que se presenta en las condiciones que conducen a la generación de un nuevo virus de la gripe pandémica. Hasta

el momento, la virulencia de las nuevas cepas no ha sido diferente, pero ésta es una situación muy fuera de control.

En 2002, Europa y los Estados Unidos fueron presa de una oleada de brotes de enfermedades con otra nueva variante del norovirus, que de alguna forma surgió alrededor de enero y que resultó en una cantidad que sobrepasó el número “normal” de brotes observados en los años anteriores. Los informes publicados posteriormente mostraron que estas variantes ya habían circulado en la comunidad por algunos meses, resultando en cantidades no habituales de casos de hospitalización que fueron solamente reconocidos retrospectivamente y por medio de un estudio con objetivos específicos. Otra “oleada epidémica” ocurrió en el invierno de 2004/2005. Ambas epidemias se presentaron a lo largo de una vasta región geográfica. La identificación de los mecanismos de evolución de estos virus continúa siendo un misterio, pero dadas las abundantes pruebas de la transmisión por los alimentos y el agua, es probable que los alimentos desempeñen una función en la propagación de tales variantes nuevas.

### **AVANCES EN LA DETECCIÓN DE LOS VIRUS EN LOS ALIMENTOS**

Desde 1999, se han dedicado muchos esfuerzos a la elaboración de métodos para la detección de los virus en los alimentos. En este punto, la situación es diferente para los mariscos en relación con otros productos alimenticios. Los métodos para la detección de virus en los mariscos han sido utilizados con un poco de éxito, y la UE ha iniciado una red de laboratorios de referencia. Esta red está trabajando en la armonización de los métodos de detección de virus en Europa. Los mayores avances se han logrado en el campo técnico, pero los datos sobre la aplicación de estos métodos para efectos de vigilancia continúan siendo demasiado irregulares. Todavía falta mucho para responder la pregunta sobre cómo implementar tales métodos en la vigilancia.

La detección de los virus en otros alimentos se encuentra todavía menos avanzada. Hay algunos informes de casos en los que se confirmaron los brotes transmitidos por los alimentos por medio de la identificación en un alimento de la cepa responsable por el brote, pero en la actualidad estos informes son las excepciones publicadas. Dado el carácter de la contaminación por virus, una pregunta fundamental es si la vigilancia de los alimentos, de una manera similar a los contaminantes bacterianos, será en algún momento un proceso confiable. Por lo tanto, será difícil obtener los datos sobre los niveles de la contaminación del alimento. Por consiguiente, otra pregunta es si las modificaciones fundamentales en el enfoque del análisis de riesgos son necesarias cuando éste se aplica a los virus.

### **AVANCES EN LOS CONOCIMIENTOS SOBRE LOS FACTORES DEL HUÉSPED**

Un avance importantísimo en el campo ha sido el descubrimiento de que existen diferencias claras en la predisposición encontrada entre las personas con distintos grupos sanguíneos y otros marcadores genéticos. Esto se explica mediante la observación de que las partículas de los norovirus se ligan a los carbohidratos que forman parte de los antígenos de histocompatibilidad en los grupos sanguíneos. Otras investigaciones han demostrado que las propiedades de ligación difieren entre las diferentes variantes genéticas, proporcionando de esta manera, patrones muy distintos de predisposición entre los huéspedes. En pocas palabras, no todas las variantes de los norovirus tienen la misma influencia. Algunos estudios en los seres humanos han demostrado que una variante en particular, los norovirus del genogrupo II.4, parece ser predominante en el mundo, especialmente como una causa de brotes en los entornos institucionales, tales como los hogares de ancianos y los hospitales. De manera interesante, en las ostras se encuentran con mayor frecuencia virus que pertenecen a un genogrupo diferente (GGI). No se entiende el por qué de esto. Una observación muy intrigante fue que la ligación (y, por lo tanto, la acumulación) de los norovirus en las ostras parece estar relacionada con la ligación a carbohidratos similares, y que la presencia de tales carbohidratos varía entre las distintas cepas de ostras. Por consiguiente, algunos tipos de ostras pueden ser más eficaces que otros en la acumulación de norovirus.

## TRANSMISIÓN ZONÓTICA

La posibilidad de la transmisión zoonótica fue un tema planteado en el documento de debate de 1999. Con el aumento en la disponibilidad de datos de la vigilancia en los seres humanos, no se han identificado virus en los que se pudiera establecer una correspondencia con cepas encontradas en los animales. Por consiguiente, no es probable que los norovirus sean directamente zoonóticos en una manera similar a *Salmonella*. No obstante, los virus encontrados en los animales y en los seres humanos están genéticamente relacionados; y la pregunta de si en ciertas circunstancias genéticas pudiera ocurrir la recombinación, resultando en la generación de nuevos virus, continúa también sin respuesta. No hay disponibilidad de datos sistemáticos de regiones de alto riesgo para tales circunstancias, concretamente las regiones en las que los seres humanos y los animales viven en estrecho contacto en condiciones de higiene deficiente.

## ENFERMEDADES VÍRICAS EMERGENTES

Para la hepatitis E, ahora hay pruebas sólidas de que las infecciones transmitidas por los alimentos sí ocurren, y de que el virus de la hepatitis E (VHE) es endémico en regiones que anteriormente se consideraban exentas de estos virus. Los medios exactos de transmisión se encuentran todavía bajo estudio. Se han identificado virus muy similares en los cerdos y en los seres humanos en varias regiones del mundo (Japón, EE.UU., Europa).

Durante la epidemia del síndrome respiratorio agudo severo (SARS) cada vez hubo mayor disponibilidad de pruebas para la posible propagación oral o por heces del coronavirus del SARS. De igual forma, con la amenaza cada vez mayor para los seres humanos del virus de la gripe aviar, se han planteado cuestiones sobre la posibilidad de la introducción y propagación de este virus por medio de la transmisión de los alimentos. A pesar de que no hay pruebas de que para estos virus la transmisión alimentaria haya desempeñado una función en su transmisión a los seres humanos, esto ha recalcado la importancia de las medidas de control dirigidas a objetivos específicos en caso de que se introduzca un nuevo virus en la cadena alimentaria. Los datos disponibles para los norovirus podrían servir como una plantilla para la identificación de lagunas de datos y de deficiencias en el control actual de las infecciones víricas transmitidas por los alimentos.

Los puntos débiles en el nivel de control actual de la transmisión de virus por medio de la cadena alimentaria son cada vez más visibles en las publicaciones, y se están convirtiendo en conocimientos comunes debido a un aumento en el interés público tras las epidemias de los brotes de norovirus que ocurrieron en 2002 y 2004. Muchos de los medios populares de comunicación han presentado programas informativos sobre los norovirus y sobre cómo se transmiten. Esto plantea problemas acerca de la vulnerabilidad de la cadena alimentaria en lo que respecta a la contaminación deliberada con virus.

## CONCLUSIONES

- *Desde 1999, los estudios epidemiológicos han demostrado que los virus, y especialmente los norovirus, son las causas más comúnmente diagnosticadas de los casos de gastroenteritis extrahospitalaria, con la inclusión de las enfermedades relacionadas con los alimentos. En la actualidad, las mejores estimaciones en el rango inferior de valores indican que aproximadamente del 10 al 15% de los casos y brotes extrahospitalarios puede ser atribuido directamente a los norovirus transmitidos por los alimentos.*
- *Los estudios sistemáticos de brotes son poco comunes, y actualmente proporcionan un nivel suficiente de pruebas solamente para los casos de origen común en un pequeño porcentaje de brotes. Cuando están disponibles, los datos respaldan consistentemente una función para la transmisión de los norovirus por los alimentos.*
- *El reciente ejemplo del SARS y la amenaza de la gripe aviar y del bioterrorismo han planteado preguntas importantes acerca de la posibilidad de la transmisión de tales patógenos de gran peligro por los alimentos.*

- *Se han presentado brotes transmitidos por los alimentos en los que las personas son expuestas simultáneamente a varios virus. Estos virus pueden intercambiar genes para formar nuevas variantes. Desde la perspectiva virológica, esta situación es altamente indeseable debido al carácter impredecible del resultado de tales combinaciones (recombinaciones). Tanto el SARS como la gripe pandémica son ejemplos de virus que pueden causar epidemias debido a cambios genéticos repentinos.*
- *En la actualidad, hay pocas pruebas de la transmisión zoonótica de los norovirus, aunque se han encontrado virus genéticamente relacionados en varias especies animales. La pregunta de si la combinación genética de virus animales y humanos pudiera resultar en una nueva variante patógena para los seres humanos continúa sin respuesta y no puede ser excluida en esta etapa.*
- *El avance en el campo de la detección de los virus en los alimentos es lento y está cargado de complejidades técnicas. Es muy poco probable que los datos rutinarios sobre la vigilancia de los virus en los productos alimenticios estarán disponibles en el futuro inmediato, con la posible excepción de los datos para los mariscos.*

## **RECOMENDACIONES**

Se propone la formación de un Grupo de acción del Codex que elaborará, en su función de Gestor de riesgos, un Perfil de riesgos a utilizarse para definir una política de la Evaluación de riesgos y posteriormente para asignar una Evaluación de riesgos para los (noro) virus en los alimentos.

El Grupo de acción debería concentrarse principalmente en el examen de los documentos vigentes y de los datos relevantes disponibles que sean adecuados para la evaluación y la gestión de los riesgos relacionados con los (noro) virus en los alimentos. Estas actividades deberían resultar en un Perfil de riesgos que permita definir el propósito y el ámbito de aplicación de una Evaluación de riesgos de los (noro) virus en los alimentos, a ser efectuada por JEMRA.

Tomando como base el Perfil de riesgos, se debería definir tanto un propósito como un ámbito de aplicación para la Evaluación de riesgos de los (noro) virus en los alimentos.

Cuando los resultados de la Evaluación de riesgos de los (noro) virus en los alimentos estén disponibles, el Grupo de acción debería elaborar una Orientación basada en la Evaluación de riesgos para reducir los riesgos de los (noro) virus en los alimentos.

La primera reunión del Grupo de acción debería celebrarse en 2005.

El Perfil de riesgos de los (noro) virus en los alimentos debería estar disponible y la política para la Evaluación de riesgo definida a principios de 2006, de manera que se pueda asignar a JEMRA la realización de una Evaluación de riesgos de los (noro) virus en los alimentos.

Los resultados de la Evaluación de riesgos deberían estar disponibles en el transcurso de 2007.

El Grupo de acción de los (noro) virus en los alimentos utilizará los resultados para preparar un proyecto de orientación de Codex para la gestión de riesgos de los (noro) virus en los alimentos, el cual será terminado en 2008 ó 2009. El proyecto de las directrices para la gestión de riesgos estará disponible en 2008 ó 2009, lo que permitiría su adopción y ratificación, respectivamente, en 2009.

# comisión del codex alimentarius

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

ORGANIZACIÓN MUNDIAL

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

**Tema 11 del programa**

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

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

**Trigésima segunda reunión**

**Washington, DC, EE.UU., del 29 de noviembre al 4 de diciembre de 1999**

# S

### **Documento de Debate sobre los Virus en los Alimentos**

**(Preparado por los Países Bajos, con la asistencia de Finlandia, Alemania, Italia y EE.UU.)**

#### **ANTECEDENTES**

En la 31ª reunión del Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos, la delegación de los Países Bajos presentó para examen del Comité un documento científico sobre los calicivirus<sup>1</sup> y propuso que el CCFH contemplara los peligros para la inocuidad de los alimentos, asociados con los virus, con miras hacia la elaboración de recomendaciones para su control.

El Comité estudió el documento y reconoció que, en espera de la formación de un órgano consultivo de expertos sobre la evaluación de riesgos microbiológicos, podría ser conveniente revisar los temas relacionados con las enfermedades víricas transmitidas por los alimentos, dentro del marco de un documento de debate con el fin de aclararlos.

El Comité acordó que la delegación de los Países Bajos prepararía un documento de debate sobre el mencionado tema en colaboración con algunos otros países interesados<sup>2</sup>.

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

El presente documento proporciona una reseña general de la gastroenteritis vírica transmitida por los alimentos y por el agua, con énfasis en los calicivirus y la hepatitis. El documento también contempla los productos alimenticios de alto riesgo, la detección de los virus en los alimentos y en el agua, y el estado actual de la prevención y la desinfección.

<sup>1</sup> CRD 23, *Infecciones de transmisión alimentaria causadas por los calicivirus similares al virus Norwalk (sin. virus de estructura pequeña y redonda, SRSV [siglas en inglés])*. M. Koopmans.

<sup>2</sup> ALINORM 99/13A, párrafos 116 – 118.

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones víricas transmitidas por los alimentos y el agua se reconocen cada vez con mayor frecuencia como causas de enfermedades en los seres humanos. Las razones más probables de este aumento son las pruebas de diagnóstico mejoradas que han, a su vez, mejorado la detección de algunos grupos de virus, y los cambios en el procesamiento de alimentos y patrones de consumo que resultan en la disponibilidad mundial de alimentos de alto riesgo (32). Como resultado, pueden suceder grandes brotes epidémicos debido a la contaminación de alimentos por un solo manipulador de alimentos o en un solo abastecedor, tal como se ha documentado en varias ocasiones para el grupo de virus Norwalk.

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

- i) Los virus que causan la gastroenteritis (los astrovirus, rotavirus, adenovirus tipos 40 y 41, y los dos géneros de los calicivirus entéricos, los virus de estructura pequeña y redonda o “los virus similares al virus Norwalk ” (NLV) y los calicivirus típicos o “los virus similares al virus Sapporo” (SLV).
- ii) Los virus de la hepatitis transmitidos oralmente o por heces: el virus de la hepatitis A (VHA), el virus de la hepatitis E (VHE).
- iii) Los virus que ocasionan otras enfermedades, p. ej., los enterovirus.

Además, se indican varios virus que también se replican en la vía intestinal, pero que no son implicados en la transmisión por alimentos, o cuya función es desconocida.

Los virus, en contraste con las bacterias, son parásitos estrictamente intracelulares y no se pueden replicar en los alimentos ni en el agua. Por consiguiente, la contaminación vírica de los alimentos no aumentará durante el procesamiento, y en realidad puede que disminuya. Esto implica que la infección vírica por medio de los alimentos contaminados depende de los siguientes factores:

1. La estabilidad vírica
2. Las cantidades de virus desprendidos o el grado de contaminación vírica
3. El procesamiento de los alimentos o del agua
4. La probabilidad de infección después de la ingestión de una partícula del virus
5. La predisposición del huésped

La mayoría de los virus transmitidos por los alimentos o el agua son relativamente resistentes al calor, la desinfección y los cambios en el pH. No es coincidencia que la mayoría de los grupos de virus implicados en los brotes sean partículas pequeñas y sin envoltura, en lugar de virus grandes, frágiles y envueltos. Los problemas en la detección de la contaminación vírica de los alimentos o el agua son, en general, que los productos contaminados tendrán una apariencia, olor, y sabor normales, y que los métodos (moleculares) de diagnóstico para la mayoría de estos virus no están disponibles rutinariamente en los laboratorios microbiológicos de alimentos. En el presente documento se contemplarán las principales causas víricas de las infecciones transmitidas por los alimentos. Hemos puesto énfasis en aquellos virus que son más comúnmente transmitidos por los alimentos, en particular los calicivirus y el virus de la hepatitis A.

Cuadro 1. Enterovirus clasificados según el síndrome clínico asociado.

<i>Gastroenteritis</i>	<i>Posible gastroenteritis</i>
Grupo de rotavirus A, B, C	Picobirnavirus
Adenovirus, tipos 40 y 41	Torovirus
Astrovirus, serotipos 1 a 8	Coronavirus
Los calicivirus similares al virus Norwalk	Citomegalovirus
Los calicivirus similares al virus Sapporo	VIH
	Los virus similares al parvovirus, SRFV (Wollan, Ditchli)
<i>Hepatitis</i>	<b>OTROS</b>
Virus de la Hepatitis A	Enterovirus: polio 1-3 coxsackie A 1-22, 24 coxsackie B 1-6 eco 1-9, 11-27, 29-34 entero 68-71
Virus de la hepatitis E	¿Parvovirus?

## 1.2. TENDENCIAS INTERNACIONALES

Se está reconociendo con mayor frecuencia la importancia de la transmisión de los virus por los alimentos, y la Organización Mundial de la Salud ha señalado una tendencia de crecimiento en su incidencia. También se entiende que el número identificado de infecciones por medio de la vigilancia rutinaria es extremadamente inferior al real. La población de la tercera edad (con números cada vez mayores de personas en riesgo de complicaciones de las infecciones entéricas) y la globalización de las enfermedades infecciosas, debido a la capacidad de viajar rápidamente en el ámbito internacional y al comercio (de los alimentos), respaldan la idea de que es probable que el número de casos de enfermedades aumente en los años venideros. Esto se refleja en la atención prestada por las organizaciones nacionales e internacionales: catorce instituciones de salud pública, mediante un esfuerzo conjunto, han clasificado a las infecciones transmitidas por los alimentos como la preocupación más importante en el área de la salud pública en la Unión Europea. En varios países (los Países Bajos, el Reino Unido, Francia, Finlandia) los Ministros de Salud Pública y Agricultura han pedido las opiniones de los Consejos de Salud Pública o de grupos de expertos acerca del número de enfermedades y de la posible prevención de infecciones transmitidas por los alimentos, debido a su alta y creciente incidencia (Comité Consultivo sobre la inocuidad microbiológica de los alimentos [*Advisory Committee on microbiological safety of food*], 1998). Además, los ministerios en los Países Bajos, el Reino Unido, y Francia han ordenado estudios epidemiológicos en gran escala para vigilar las tendencias en la incidencia de la gastroenteritis en diversas poblaciones.

En Finlandia, como consecuencia del trabajo de un grupo de expertos, se inició en 1997 un programa mejorado de vigilancia (incluido el examen virológico), el cual resultó en una cantidad mucho más alta de casos registrados de brotes transmitidos por los alimentos o el agua. En los Estados Unidos, el vice



presidente Al Gore ha lanzado una iniciativa de millones de dólares para controlar la creciente tendencia de infecciones transmitidas por los alimentos.

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

En dicha iniciativa, se ha subrayado la necesidad de mejores métodos de diagnóstico para algunas enfermedades, tales como las infecciones víricas transmitidas por los alimentos. El Parlamento y Consejo Europeo ha acordado crear una red de vigilancia para el monitoreo y control epidemiológicos de enfermedades infecciosas en la Unión Europea (Directiva 2119/98/EG).

### **1.3. COSTO DE ENFERMEDADES.**

No se sabe con exactitud cuál es el costo de las enfermedades causadas por las infecciones víricas transmitidas por los alimentos, pero es probable que sea alto. En EE.UU., aproximadamente 9,000 muertes y 81 millones de enfermedades se atribuyen cada año al consumo de alimentos contaminados (<http://www2.nas.edu/new/21b6.html>). Respecto a los costos estimados para tan sólo unos cuantos patógenos transmitidos por los alimentos, ya se ha sumado un valor anual de \$5 a 6 mil millones de dólares por cargos médicos y costos de productividad perdida para la sociedad estadounidense (81). El costo total estimado de la salmonelosis es de \$1.2 a \$1.5 mil millones de dólares. En comparación: cada vez es más claro, mediante el uso de estudios epidemiológicos, que los calicivirus por sí solos pueden ser una causa de enfermedades, e incluso muertes, tan frecuentemente como *Salmonella* (14). Aunque las infecciones víricas entéricas generalmente ocasionan enfermedades leves, el costo puede resultar alto, debido a su alta frecuencia y al alto grado de transmisión. Los brotes que aparecen en instituciones pueden crear problemas logísticos mayores cuando, como es típico de los brotes de gastroenteritis, el 30% al 40% del personal se enferma en un momento en el que el nivel necesario de atención al paciente es mayor (94, 95). Muchas veces, tales instituciones pueden contener el problema solamente por medio del cierre de sus salas a nuevos pacientes. Además, existen estudios que indican que las infecciones víricas entéricas causan la muerte en las personas de la tercera edad, muertes que en su mayoría son evitables (14, 18, 44, 56). La contaminación de los alimentos y la enfermedad posterior también pueden tener graves consecuencias económicas, como se demostró en dos brotes recientes y relativamente pequeños en Dinamarca y en Suecia tras el consumo de mariscos y frambuesas, respectivamente; aunque en dichos brotes la causa de la enfermedad no fue comprobada en realidad, en ambos casos se anunció un paro provisional de la comercialización de estos alimentos.

En los Estados Unidos, anualmente se notifican alrededor de 60,000 casos de hepatitis A, de los cuales un porcentaje estimado del 7.3% de ellos fue transmitido por los alimentos o el agua. Los brotes de la hepatitis A son comunes en lugares donde hay mucha gente, tales como instituciones, escuelas, prisiones y en el ejército. El porcentaje de adultos con inmunidad incrementa con la edad, pero la edad en la cual la mayoría de las infecciones ocurren es cada vez mayor en Europa. El incremento en el número de personas predispuestas permite la rápida evolución de epidemias de origen común, y la probabilidad de tales epidemias es cada vez mayor (67).

## **2. GASTROENTERITIS VÍRICA TRANSMITIDA POR LOS ALIMENTOS Y EL AGUA, CON ATENCIÓN ESPECIAL EN LOS CALICIVIRUS**

### **2.1. INTRODUCCIÓN**

En la mayoría de los estudios epidemiológicos de los virus transmitidos por los alimentos y el agua, se han analizado muestras para la detección de virus mediante las técnicas de cultivo de cepas en tejidos o mediante la microscopía electrónica (ME). Sin embargo, algunos virus entéricos no pueden crecer en cultivos de tejidos, y la microscopía electrónica no es un método muy sensible para la detección de estos virus. Se ha informado del uso de pruebas de diagnóstico sencillas, tales como los inmunoanálisis enzimáticos (ELISA), solamente en los rotavirus y adenovirus de grupo A en muestras clínicas. No existen pruebas similares para el análisis de muestras tomadas de alimentos. Como resultado de estas limitaciones, no son habituales los diagnósticos de la gastroenteritis vírica transmitida por los alimentos.

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

No se sabe precisamente cuál es la importancia relativa de los distintos virus como causas de infecciones, pero ciertamente los calicivirus son la causa principal de los brotes víricos (41), y según se informa, su incidencia se ha incrementado en los últimos años (62, 99). Es más probable que este “surgimiento” de los calicivirus como el virus principal transmitido por los alimentos, no sea un verdadero aumento en su incidencia, sino un incremento en la sensibilización, junto con las pruebas mejoradas de diagnóstico. Se han notificado grandes brotes de los rotavirus de los grupos B y C en China y en Japón, respectivamente (31). El resto de esta sección se enfocará en los NLV, a menos que se indique lo contrario.

## 2.2. SÍNTOMAS CLÍNICOS

Después de un período de incubación de 1 a 3 días, las personas infectadas pueden contraer fiebre (de bajo grado), vómito, diarrea y dolores de cabeza como los síntomas característicos. Estos síntomas usualmente desaparecen en dos o tres días, aunque el curso de la enfermedad puede prolongarse en las personas de la tercera edad. Se ha informado de muertes relacionadas con los brotes de NLV. El porcentaje promedio de incidencia es alto (típicamente el 45% o más). Los virus se desprenden del huésped por la defecación y el vómito, lo cual inicia durante el período de incubación y dura hasta 10 días o posiblemente más tiempo (36, 78). Las infecciones de NLV son altamente contagiosas, lo que resulta en un alto índice de transmisión de persona a persona. Nota: debido a que los alimentos contaminados pueden contener múltiples agentes, se pueden presentar síntomas variados.

## 2.3. EPIDEMIOLOGÍA

Tras el desarrollo de los métodos de detección molecular, se ha aclarado el hecho de que las infecciones por NLV se cuentan entre las causas más importantes de gastroenteritis en adultos y que frecuentemente ocurren como brotes, los cuales pueden ser transmitidos por los alimentos (Cuadro 2). En los Países Bajos, aproximadamente el 80 % de los brotes de gastroenteritis que se han notificado a los servicios municipales de salud son causados por los NLV (95). Más de la mitad de estos brotes ocurren en los hogares de ancianos. El porcentaje de los brotes transmitidos por los alimentos fue del 17% de 1994 a 1999, con el 70% de éstos atribuidos al NLV (45). Éste cálculo es muy probablemente menor al número real, ya que los brotes transmitidos por los alimentos son normalmente notificados por medio de los servicios regionales de inspección de alimentos, en vez de por los servicios municipales de salud. En un estudio de todos los brotes de enfermedades intestinales infecciosas en Inglaterra y en Gales entre 1992 y 1994, el 27 % de los brotes fueron causados por el NLV (el 32 % de los brotes fueron causados por *Salmonella* spp). Los NLV fueron la causa del 6 % de brotes transmitidos por los alimentos. Debido a que las muestras de los brotes fueron examinadas principalmente por medio de la microscopía electrónica, es probable que la cantidad real de brotes de NLV sea más alta (14). En EE.UU., 86 de los 90 (el 96 %) brotes de gastroenteritis aguda no bacteriana que fueron notificados al CDC (Centros del Control de Enfermedades) entre enero de 1997 y junio de 1998 fueron causados por infecciones de NLV. Para los brotes en los que se reportó el medio de transmisión, 24 de los 51 (el 47 %) se consideraron a ser transmitidos por los alimentos (15). Asimismo, en Finlandia, los brotes que se presentan en los hospitales (principalmente en las salas de geriatría) son ocasionados casi exclusivamente por los NLV, pero el número real de casos es mucho más alto que el número notificado. En Finlandia, el 56

% de las epidemias notificadas como transmitidas por los alimentos, y para las que se habían entregado muestras de heces (y de productos alimenticios, en algunos casos) para la detección virológica, resultaron positivas para los NLV (65). De las epidemias transmitidas por agua, 12 de 15 han resultado positivas para los NLV. Desde 1998 han ocurrido 15 epidemias relacionadas con las bayas (frambuesas), lo cual ha resultado en una prohibición del uso de las frambuesas no tratadas térmicamente en todos los servicios de comidas para colectividades y en otras cocinas de gran escala (79). A partir de entonces han ocurrido algunos brotes relacionados con las bayas (frambuesas), cuando se ha ignorado dicha prohibición. La mayoría de estos brotes fue relacionada con las bayas (frambuesas) importadas. Por medio del tipado molecular, se demostró que se podían encontrar muchos linajes distintos de NLV, lo que sirve para ilustrar que la contaminación de estos alimentos no fue relacionada con un sólo origen común (Figura 1).

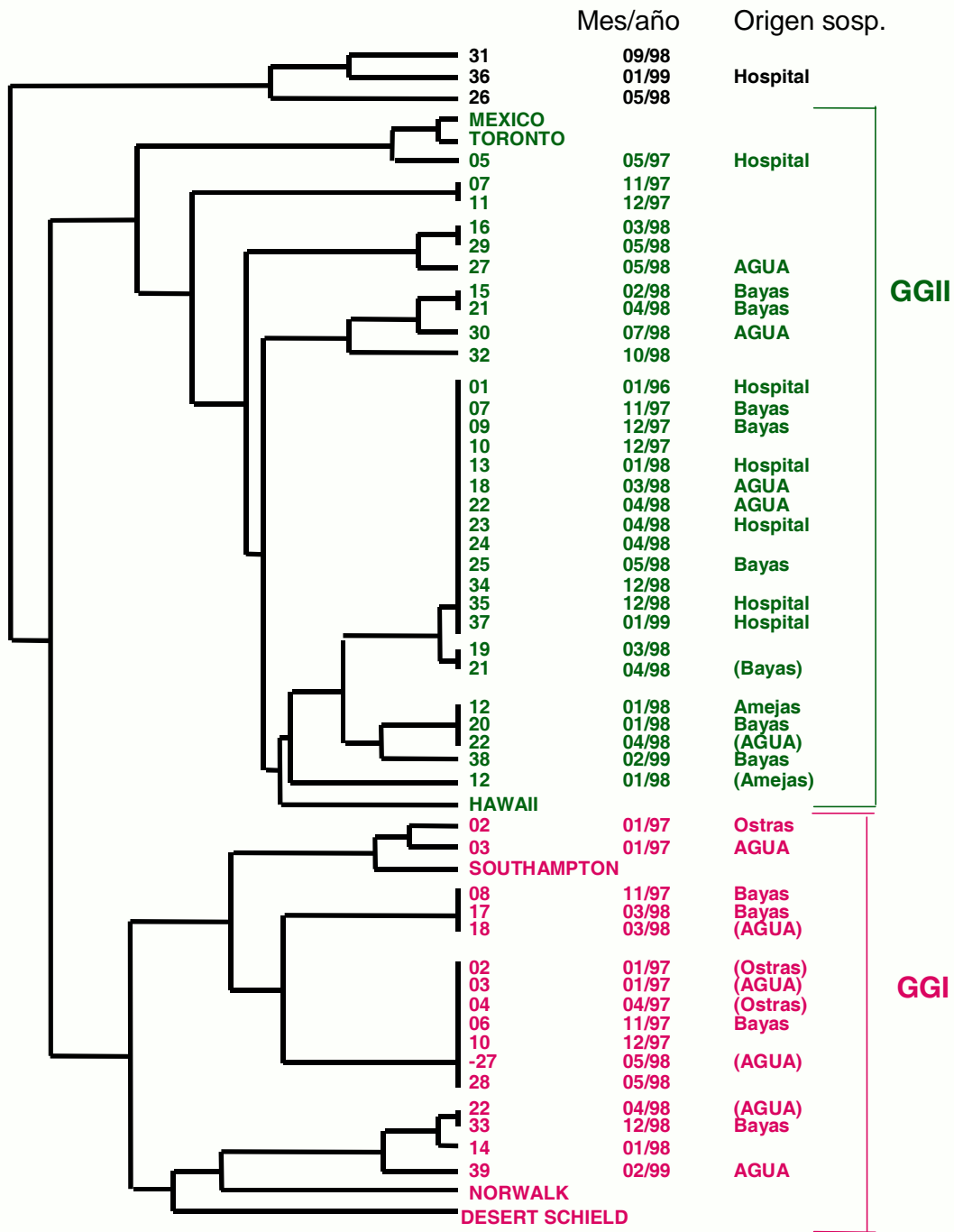
Cuadro 2. Cuadro de resumen de los estudios de brotes, en los que se analizaron las muestras para la detección de los NLV.

<i>País</i>	<i>Estudio</i>	<i>Porcentaje transmitido por los alimentos</i>	<i>% NLV (de los transmitidos por los alimentos)</i>	<i>Método</i>	<i>Referencia</i>
<b>EE.UU.</b>	Brotos transmitidos por los Alimentos	100	32 - 42	Epidemiología	Kaplan, 1982
<b>Reino Unido</b>	Todos los Brotes	50	6	ME	Djuretic, 1996
<b>EE.UU.</b>	Brotos no bacterianos	47	96	RCP (reacción en cadena de la polimerasa)	Fankhauser, 1998
<b>PB</b>	Todos los Brotes	17	70	RCP	Vinjé, 1996, 1997; Koopmans, 1999
<b>Finlandia</b>	Transmitidos por los Alimentos y el agua	100	56	RCP	Maunula, 1999

Además de los brotes, algunas publicaciones recientes sugieren que los calicivirus se encuentran entre las causas más comunes de la gastroenteritis esporádica (45, 75, 97). En los Países Bajos, el 5 % de los pacientes que consultan a sus médicos a causa de la gastroenteritis estuvieron infectados por los NLV (en comparación con el 4 % que estuvo infectado por *Salmonella*), así como también el 17 % de las personas en una población vigilada que contrajo diarrea en los meses de invierno (1, 33, 45). Afectó a personas de todos los grupos de edades, con una incidencia un poco mayor en los niños muy pequeños.

**Figura 1: Árbol filogenético que muestra los linajes de NLV que se encontraron en los brotes de gastroenteritis en Finlandia (identificados por número), con la inclusión de 12 brotes en los que se implicaron las frambuesas como el origen más probable de infección. GG = genogrupo. Las cepas de referencia de los NLV son México, Toronto, Hawaii, Southampton, Norwalk y el virus *Desert shield*.**

**Dendograma PILEUP construido de las secuencias nucleotidas de NLV**



## 2.4. GRUPOS DE RIESGO

Los brotes de gastroenteritis de NLV (no solamente los transmitidos por los alimentos) son comunes en instituciones, tales como los hogares de ancianos y hospitales. El alto porcentaje de incidencia tanto en los residentes como en el personal de tales instituciones con frecuencia resulta en problemas de falta de personal durante los brotes. Los casos esporádicos de gastroenteritis vírica también ocurren con frecuencia en estos entornos. Los factores de riesgo para estas infecciones están siendo investigados actualmente en el Reino Unido y los Países Bajos. Según Gerba *et al* (21), el grupo de personas que tendría el mayor riesgo de contraer enfermedades graves e incluso de morir a causa de microorganismos entéricos transmitidos por los alimentos y el agua incluye los niños pequeños, las personas de la tercera edad, las mujeres embarazadas, y las personas inmunocomprometidas. Este segmento representa actualmente casi el 20 % de la población (en los Estados Unidos) y se prevé que aumentará considerablemente para principios del próximo siglo, debido a los aumentos en la duración probable de la vida y en el número de personas inmunocomprometidas.

Mundialmente, las enfermedades diarreicas son responsables por millones de muertes anualmente, principalmente en los países en desarrollo. En los países desarrollados, la mortalidad atribuida a la diarrea es baja, pero sí ocurre en los niños pequeños (7, 11, 76) y en las personas de la tercera edad (> 50 %; 18, 21, 56). Aunque no se dispone de los datos específicos de mortalidad en relación con los NLV, debido a la alta incidencia de las infecciones de los calicivirus en las personas de la tercera edad, es probable que sí ocurran muertes resultantes de infecciones por los calicivirus.

## 2.5. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

Dentro del género de los NLV existe una gran diversidad de tipos de virus, según el análisis de la secuencia genómica y la caracterización antigénica (57, 58, 73). Hasta la fecha, se han reconocido 15 genotipos distintos, pero a medida que se caracterizan más cepas, es probable que este número aumentará. Es un hecho bien conocido, que muchos tipos diferentes de NLV cocirculan en la población en general, siendo causa de casos esporádicos y de brotes. Típicamente, las secuencias de las cepas son (casi) idénticas dentro de los brotes, y distintas cuando se analizan muestras de distintos brotes. Por ello, cuando se encuentran secuencias idénticas en diferentes pacientes o diferentes grupos de enfermedades, debe sospecharse un origen común de la infección. A la inversa, el encontrar distintas secuencias en personas con un origen de infección supuestamente común sugiere contaminaciones independientes, a menos que haya una relación con agua contaminada por aguas negras; en epidemias causadas por contaminación con aguas negras, muchas veces se encuentra más de una cepa (47, 65, 88).

A veces ocurren epidemias en las que la mayoría de los brotes son causados por un solo tipo genético (p.ej. en los Países Bajos en 1996; 95). Las epidemias pueden tener una distribución extendida e incluso mundial (74). No se conocen los mecanismos responsables del surgimiento de los tipos epidémicos. Las hipótesis incluyen la transmisión en gran escala de una sola cepa por medio de los alimentos, y el excedente de un hospedador que posiblemente no sea humano. Recientemente se hallaron NLV en cerdos en Japón y en ganado en el Reino Unido (12, 60, 89).

## 2.6. INMUNIDAD

Poco se conoce sobre la inmunidad a las infecciones causadas por los NLV. De las infecciones experimentales en voluntarios, se sabe que las personas infectadas pueden desarrollar la inmunidad, pero solamente por un corto plazo, y está limitada al genotipo infeccioso o a cepas estrechamente relacionadas (29, 73). Los voluntarios con anticuerpos al genotipo infeccioso tienen un riesgo mayor de contraer una enfermedad y una curva de dosis y respuesta más pronunciada (26, 72). No es claro qué significa esto. La falta de una inmunidad a la infección natural, que sea de larga duración y reactiva a una variedad más amplia de genotipos, sugiere que el desarrollo de una vacuna protectora puede ser problemático.

## 2.7. TRANSMISIÓN

Los NLV se transmiten directamente por contacto de persona a persona o indirectamente por el agua, alimentos o superficies ambientales contaminadas. Claramente, la transmisión de persona a persona es sin

duda la ruta más común de infección. Sin embargo, se han detallado muchos brotes de los NLV transmitidos por los alimentos, con frecuencia resultantes de la contaminación por medio de un manipulador de alimentos contaminado (15, 20, 45, 65, 94, 95). Es importante notar que la contaminación puede ocurrir no solamente al final de la cadena de distribución alimentaria, sino en casi cualquier etapa, desde la granja a la mesa. Los manipuladores de alimentos infectados pueden transmitir los virus infecciosos durante el período de incubación y después de recuperarse de una enfermedad (20, 61, 76). Además, se han descrito varios brotes de los NLV transmitidos por el agua, tanto directa (p. ej., por medio del consumo de agua contaminada) como indirectamente (p. ej., por las frutas lavadas, por nadar o participar en actividades de piragüismo en aguas de recreación) (6, 9, 27, 46, 47). Existen algunas indicaciones anecdóticas de la transmisión aerógena de los NLV, pero no es claro si esta ruta es de mayor importancia.

Además de la transmisión de persona a persona por medio de vehículos alimentarios, se ha reportado la transmisión zoonótica para algunos virus entéricos. Tomando como base las similitudes entre las cepas víricas, la transmisión de los rotavirus de los monos, gatos, perros, caballos y ganado a los seres humanos es posible. No existen informes que han tratado este tema, pero a la vez existen pocas pruebas de la transmisión zoonótica como un origen principal de las infecciones de los rotavirus transmitidos en los alimentos (23, 98).

Hasta hace poco, se creía que los seres humanos eran el único huésped de los virus NLV. No obstante, hace poco se hallaron NLV en cerdos sanos en Japón y en muestras históricas de heces de becerros del Reino Unido y Alemania (12, 60, 89). Los virus de becerros, designados agente Newbury y virus Jena, son patógenos para los becerros. Los dos calicivirus entéricos bovinos y el calicivirus entérico porcino son genéticamente distintos de las cepas humanas, pero se agrupan dentro del género de los NLV. En un estudio piloto en los Países Bajos, muestras combinadas de heces tomadas de becerros, cerdos de engorde y vacas adultas fueron analizadas para detectar la presencia de los NLV. Treinta y tres (el 45 %) de los hatos de becerros resultaron positivos para las cepas de los NLV pertenecientes al genotipo Newbury, y un hato de cerdos resultó positivo para un virus muy similar al calicivirus porcino de Japón (45). Estos hallazgos plantean importantes preguntas sobre la gama de huéspedes de los NLV. En este momento no es claro si los NLV de animales forman linajes estables que son genéticamente distintos, o que de hecho son parte de un grupo común de los virus que cocirculan entre los animales y los seres humanos.

## **2.8. DIAGNÓSTICO EN LOS SERES HUMANOS**

En las muestras de heces, se pueden detectar los virus por medio de microscopía electrónica (todos los virus), inmunoensayos (los rotavirus del grupo A, los adenovirus de tipos 40/41, los astrovirus), y métodos moleculares (todos los virus descritos). El límite para detección varía para los distintos métodos, siendo la microscopía electrónica el método menos sensible (el límite de detección es aproximadamente de  $10^6$  partículas por ml), y la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) es el método más sensible (el límite de detección es de 10 a 100 partículas por ml) (94). Por ello, la detección exitosa de los virus en las muestras de heces depende de los métodos empleados y del número máximo de los valores desprendidos de los virus (para los rotavirus  $10^{10}$  por ml, astrovirus  $10^8$  por ml, NLV  $10^7$  por ml). Puesto que el valor del virus desprendido disminuye durante las enfermedades, es importante que las muestras de heces se obtengan durante los primeros días después del comienzo de los síntomas, y que se almacenen a una temperatura de 4 °C.

Históricamente, las infecciones por NLV o SLV han sido diagnosticadas mediante la visualización de las partículas de los virus por microscopía electrónica. Actualmente, hay varios ensayos disponibles de RT-PCR que son reactivos a una variedad más amplia de genotipos, y que pueden emplearse tanto en la detección como en el genotipado (28, 73, 94). Los NLV se han dividido en dos genogrupos (Figura 1) y tentativamente en 15 genotipos.

## **3. LOS VIRUS DE LA HEPATITIS**

### **3.1. INTRODUCCIÓN**

Los virus que causan la hepatitis pueden dividirse en los virus transmitidos entéricamente (el virus de la hepatitis A, el virus de la hepatitis E), y los virus de la hepatitis transmitidos por la sangre (hepatitis B, C,

D, G). En cuanto a la transmisión por los alimentos o el agua, solamente son pertinentes los virus transmitidos entéricamente. El virus de la hepatitis A (VHA) es un virus en la familia *Picornaviridae*, a la cual también pertenecen los enterovirus (incluido el poliovirus). El virus de la hepatitis E muestra alguna semejanza con los virus de la familia *Caliciviridae* (a la cual pertenecen los NLV), pero no se ha incluido (todavía) en una familia de virus debido a algunas características únicas.

El virus de la hepatitis E no se había establecido como una causa de hepatitis sino hasta que, hace poco tiempo, ocurrieron grandes brotes transmitidos por el agua en India y Pakistán. No se han documentado brotes transmitidos por los alimentos del virus de la hepatitis E. El virus es endémico, con una vasta distribución geográfica, principalmente en los países con saneamiento deficiente donde la hepatitis A también es endémica (el Sureste de Asia, el subcontinente de la India, África), pero no está tan extendido como el VHA. En los países industrializados, las infecciones de hepatitis E son raras y normalmente están relacionadas con viajes (48, 91, 92). Existen algunas indicaciones que las infecciones de la hepatitis E pueden transmitirse desde un animal hospedador (70, 71). Pueden distinguirse brotes de hepatitis E tomando como base el porcentaje más alto de incidencia de enfermedades clínicamente evidentes en personas de 15 a 40 años de edad, en comparación con otros grupos, con porcentajes totales más altos de casos mortales (0.5 a 3%), y el número extraordinariamente alto de muertes de mujeres embarazadas (15 a 20%). En grupos de edades más jóvenes, la mayoría de las infecciones de hepatitis E puede presentarse sin ictericia, diferenciándose de la infección clínicamente aparente de la hepatitis A (67). Puesto que el VHE puede ocasionar una enfermedad con alta mortalidad en las mujeres embarazadas, un estudio de la transmisión de los virus por los alimentos, en nuestra opinión, debería incluir el VHE.

El resto de esta sección tratará solamente sobre el virus de la hepatitis A, puesto que la mayoría de la información disponible es sobre este patógeno, y es un patógeno reconocido transmitido por los alimentos. Esto no implica que el virus de la hepatitis E pueda no ser importante, pero la información sobre este patógeno y su función en la enfermedad transmitida por los alimentos es escasa.

### 3.2. SÍNTOMAS CLÍNICOS

Después de un período de incubación de 2 a 7 semanas, la infección por el VHA resultará en síntomas no específicos, tales como fiebre, dolores de cabeza, fatiga, náusea y vómito, para luego presentarse las indicaciones de la hepatitis de 1 a 2 semanas más tarde. El desprendimiento del virus típicamente continúa hasta 1 semana después del comienzo de la ictericia en adultos y hasta 1 ó 2 semanas en los niños, aunque el desprendimiento intermitente y prolongado del virus puede ocurrir por hasta 90 días en pacientes que padecen recaídas clínicas. Se han reportado recaídas en el 1.5 a 18.5% de las personas (85). Los virus pueden desprenderse de los lactantes por hasta 5 meses después de la infección (84).

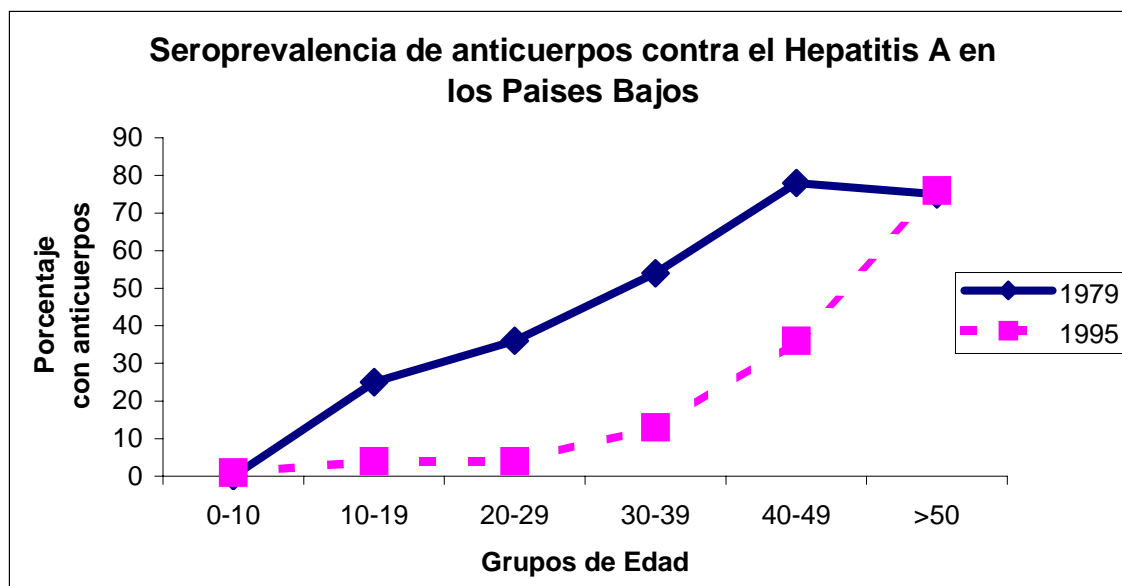
### 3.3. EPIDEMIOLOGÍA

La Hepatitis A ha sido endémica mundialmente, pero la incidencia ha disminuido dramáticamente en numerosas regiones solamente por medio de medidas sanitarias. Irónicamente, después de una disminución inicial, esto ha resultado en un aumento en el número de casos clínicos; cuando las infecciones de la hepatitis A son menos comunes, menos personas desarrollarán la inmunidad en los primeros años de vida, y la población en riesgo se incrementará (Figura 2). Como resultado, las infecciones pueden ocurrir más comúnmente en los grupos de mayor edad (p. ej., durante viajes a las áreas endémicas). En niños pequeños que contraen la infección en áreas donde el virus es endémico, la mayoría de las infecciones (>95%) no resultan en síntomas y no serán detectadas; en contraste, en los adultos, una infección por el VHA puede resultar en enfermedades bastante graves en el 70 al 80% de las personas afectadas, con un porcentaje de casos mortales de hasta el 3% (67). En Inglaterra y Gales, la tasa anual de notificación de infecciones por el VHA ha incrementado cuatro veces su valor entre 1987 y 1991, de 3.6 a 14.6 por 100 000 personas (63). Por esta misma razón, la posibilidad de brotes del VHA ha aumentado (67). El número de notificaciones declinó considerablemente a principios de los años sesenta y se estabilizó en los años setenta, a un nivel de 5 a 7 notificaciones por 100,000 habitantes. En Italia, los datos recolectados de un sistema de vigilancia para un tipo específico de hepatitis aguda vírica (SEIEVA) mostró que la incidencia del VHA disminuyó de 10/100,000 en 1985 a 2/100,000



durante el período de 1987 a 1990, mientras se observó un aumento después de 1991. El porcentaje más alto de incidencia se observó en el grupo de las edades 15 a 24 años (68).

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



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

De los estudios realizados en Italia, el consumo de mariscos (OR = 2.6; CI = 2.4-2.9), los viajes a áreas endémicas para las personas residentes en el norte y centro de Italia (OR = 5.4; CI = 4.6-6.2) y tener a un niño que asiste a una guardería infantil (OR = 1.2; CI = 1.03-1.4), fueron nuevamente factores independientemente relacionados con un riesgo mayor de infección por el VHA (68). El consumo de mariscos fue la fuente de infección notificada con mayor frecuencia en el período de estudio. Se han descrito varios brotes de hepatitis A transmitidos por los alimentos y el agua, relacionados con el consumo de alimentos contaminados (10, 13, 35, 55, 66). En 1996 y 1997, ocurrió una gran epidemia de VHA en el sur de Italia, en la región de Puglia, con 11,000 notificaciones, especialmente entre los adultos jóvenes. El factor principal de riesgo en este brote epidémico fue el consumo de mejillones (64). Una gran epidemia de hepatitis A ocurrió en Finlandia entre las personas drogodependientes (aproximadamente 300 casos), debido a anfetaminas contaminadas. En situaciones de brote, hasta un 20% de los casos son consecuencias de la transmisión secundaria.

### 3.4. GRUPOS DE RIESGO

Puesto que la proporción de casos-muertes en la infección de la hepatitis aumenta con la edad, los riesgos son más altos para los grupos de mayor edad, siempre y cuando no han sido expuestos al virus de la hepatitis A

anteriormente en su vida. La seroprevalencia decreciente de la hepatitis A combinada con el envejecimiento de la población resulta en una probabilidad más alta de brotes y en una evolución más grave de la enfermedad (16). Las personas con infección de hepatitis C y posiblemente aquellas con la infección crónica de la hepatitis B, tienen un riesgo mayor de contraer la hepatitis fulminante después de una sobreinfección por hepatitis A (42, 93).

### **3.5. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR**

Se han elaborado ensayos de detección y tipado moleculares para el virus de la Hepatitis A (8, 82, 83). Éstos han sido evaluados para usarse con muestras de heces de pacientes con hepatitis (90). Se han reconocido siete genotipos del virus de la hepatitis A, de los cuales 4 se presentan en los seres humanos. Los otros tres genotipos han sido encontrados en monos del viejo continente en captividad (54). Se pueden diferenciar los patrones de transmisión endémica de aquellas situaciones en las que se importan las infecciones a causa de viajes, mediante el análisis de secuencias de cepas del virus de la hepatitis A en los pacientes. Esta diversidad genómica puede utilizarse y ha sido utilizada para determinar con precisión el origen de los brotes transmitidos por los alimentos (35, 66), y por agua (13).

### **3.6. INMUNIDAD**

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

### **3.7. TRANSMISIÓN**

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

El virus de la hepatitis A puede sobrevivir de 12 semanas a 10 meses en el agua, y como resultado, puede ocurrir una infección por medio del consumo de una variedad de mariscos provenientes de áreas contaminadas con aguas negras. Se han reportado brotes transmitidos por el agua, relacionados tanto con haber bebido agua contaminada con heces como con haber nadado en piscinas y lagos contaminados (67).

### **3.8. DIAGNÓSTICO EN LOS SERES HUMANOS**

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

## **4. ASPECTOS GENERALES**

### **4.1. PRODUCTOS ALIMENTICIOS DE ALTO RIESGO**

Los mariscos tienen fama de ser una fuente de infecciones víricas transmitidas por los alimentos, porque concentran activamente los virus del agua contaminada (43). La depuración, una práctica que puede reducir la contaminación bacteriana, no es eficaz para reducir la contaminación vírica. Sin embargo, también se han implicado otros alimentos como vehículos de transmisión (postres, frutas, hortalizas, ensaladas, sándwiches); el mensaje final es que cualquier alimento que ha sido manipulado manualmente y que posteriormente no ha sido sometido a un tratamiento térmico (adecuado), es una posible fuente de infección (14). Es importante notar, sin

embargo, que la contaminación puede ocurrir no solamente al final de la cadena alimentaria, sino en casi todas las etapas de la cadena, de la granja a la mesa.

#### **4.2. DETECCIÓN DE LOS VIRUS EN LOS ALIMENTOS Y EL AGUA**

Aunque se han desarrollado métodos de diagnóstico para la detección de los virus o el ARN vírico en los alimentos y el agua, dichos métodos no han sido implementados en los laboratorios rutinarios en la mayor parte del mundo (4, 5, 19, 22, 24, 25, 37, 49-53). La mayoría de los estudios de la detección de los virus en los alimentos se ha enfocado en los mariscos, para lo que varios grupos han desarrollado protocolos un poco diferentes, y se necesitan estudios comparativos para determinar cuáles ensayos deberían ser recomendados. El valor de una prueba con resultados negativos, en función de su capacidad de predicción, es todavía confuso. Esta información es necesaria antes de realizar análisis de detección en dichas muestras para vigilar la contaminación.

Un problema especial es que los calicivirus no pueden crecer en un cultivo de tejidos, y los virus de la hepatitis A solamente lo hacen con un éxito moderado. Como resultado, se carece de datos sobre la correlación entre la presencia de los genes víricos (según el análisis por RT-PCR) y los virus viables. Para el diagnóstico de un brote, el enfoque actual es el análisis de detección realizado en las muestras de heces para estudios de casos y controles, combinado con una investigación epidemiológica para evaluar las proporciones de incidencias con relación a alimentos específicos. Los alimentos con una cociente de posibilidades significativa pueden examinarse mediante métodos moleculares, aunque no se dispone de ninguna información sobre la sensibilidad de dichos métodos para el diagnóstico de brotes. El control de la calidad de los alimentos y el agua, según la detección de organismos indicadores para la contaminación fecal, ha resultado ser un factor de predicción no confiable para la contaminación vírica.

Para los mariscos, se podría realizar el análisis tanto de las aguas de cría como de los mariscos mismos, pero las sensibilidades relativas de tales enfoques necesitan ser evaluadas. Cuando se detectan NLV en los alimentos, podrían emplearse los ensayos de tipado para determinar las vías de transmisión y para apoyar o refutar las relaciones epidemiológicas con los casos.

#### **4.3. PREVENCIÓN Y DESINFECCIÓN**

Es necesario aumentar la sensibilización de todos los manipuladores de alimentos sobre la transmisión de los virus entéricos, con énfasis especial en el riesgo de la transmisión “silenciosa” por personas infectadas asintomáticas y por aquellas personas en las que el virus continúa desprendiéndose después de la desaparición de los síntomas. A pesar de que puede no ser claro qué porcentaje de las infecciones transmitidas por los alimentos puede ser atribuido a los trabajadores en las distintas partes de la cadena alimentaria, es importante que los virus sean parte de los Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) basados en la ciencia, para identificar los riesgos y ayudar en la identificación de las lagunas de datos (p. ej., Cuadro 3). Por el momento, se carece de los datos necesarios para determinar qué etapas van a ser críticas para todos los alimentos. Las medidas preventivas difieren para las distintas vías de transmisión.

i) Mariscos: para los mariscos, el control estricto de la calidad de las aguas de cría puede prevenir la contaminación en ellos. Esto incluye el control del desecho de agua generado por las embarcaciones comerciales y de recreación. Se necesitan directrices dirigidas específicamente a la reducción de la contaminación vírica, ya que se ha mostrado claramente que los indicadores actuales de la calidad del agua y los mariscos son inadecuados como factores de predicción de la contaminación vírica.

ii) Los productos alimenticios contaminados por los manipuladores de alimentos, que están infectados; la higiene personal es de suma importancia para prevenir la infección vírica transmitida por los alimentos, e incluye el lavado frecuente de las manos y el uso de guantes. Lo anterior debería aplicarse para todos los puntos en la cadena alimentaria en los cuales se manipulan manualmente los productos alimenticios. La ID50 (la dosis que causa infección en el 50% de las personas expuestas) de los NLV parece ser extremadamente baja (72). Como consecuencia, aún con medidas de higiene muy estrictas, puede no ser posible el prevenir la infección en todo momento. Han ocurrido brotes transmitidos por los alimentos debido a alimentos contaminados que

pasaron exitosamente todos los ensayos microbiológicos. Una directriz basada en el sentido común es retirar de la cadena de producción a las personas que muestran síntomas consistentes con la gastroenteritis vírica hasta por lo menos dos días después de la remisión de los síntomas. Un problema práctico con esta directriz es que una proporción desconocida de infecciones víricas será subclínica y que, aún durante el período de incubación, se pueden desprender cantidades suficientes de virus de las personas infectadas para causar la contaminación de los alimentos (61). Se ha estudiado la cinética del desprendimiento vírico solamente en unos cuantos voluntarios infectados, y puede no reflejar la situación en la vida real donde es posible que las personas hayan sido infectadas con una dosis baja del virus infeccioso. Tomando en cuenta la naturaleza altamente infecciosa del NLV y el riesgo documentado de la transmisión del virus a los alimentos durante el período de incubación, se prevé que deberían elaborarse directrices que contemplen la incidencia de la gastroenteritis en las personas que entran en contacto (p. ej., los niños) con las personas trabajando en puntos críticos de la cadena alimentaria. Esto debería basarse en los datos sobre la cinética del desprendimiento vírico después de la infección natural.

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

Los brotes documentados de infecciones transmitidas por los alimentos podrían notificarse más rápidamente, empleando, por ejemplo, el “sistema de alerta rápida para los alimentos” (“*rapid alert system for food*”) de la Unión Europea o la Red de Alimentos de los Estados Unidos (*US Foodnet*), y resultaría mucho más informativo si se incluyera la información del tipado de las cepas de los virus.

En cuanto a los otros virus entéricos, la higiene personal es lo más importante para prevenir la infección vírica de la hepatitis transmitida por los alimentos. Los problemas incluyen el largo período de incubación, y los hechos de que las personas infectadas desprenden las cantidades más altas de virus infecciosos antes del comienzo de la enfermedad y que las infecciones pueden no resultar en síntomas clínicos. Como consecuencia, otra vez se han descrito algunos brotes transmitidos por los alimentos en los cuales el manipulador de alimentos fue la fuente de infección (30, 86). Además, la transmisión de infección ha ocurrido por medio de frutas frescas cultivadas en áreas en las cuales las mismas eran irrigadas con agua contaminada con heces. Esto implica que los productos destinados para el consumo humano deben cultivarse solamente con el agua de alta calidad. Hay disponible una vacuna para la hepatitis A, y las personas en contacto pueden ser tratadas con la administración de la inmunoglobulina. El Comité Consultivo Estadounidense sobre las Prácticas de Inoculación (ACIP), recomienda la inoculación contra el VHA para 1) las personas que viajan a los países endémicos de alto o intermedio grado; 2) niños en comunidades que tienen proporciones altas de infección por el VHA; 3) hombres que practican actos sexuales con hombres; 4) drogodependientes; 5) personas que tienen el riesgo ocupacional del VHA; 6) personas que padecen enfermedades crónicas del hígado; 7) personas que tienen problemas con factores de coagulación; 8) otros grupos, posiblemente los manipuladores de alimentos (2). Si la inoculación contra el VHA será factible para prevenir la transmisión por los alimentos para países o regiones particulares depende de muchos factores locales (p. ej., el grado endémico, condiciones higiénicas) y necesitan evaluarse para estas situaciones particulares, basado en el análisis de HACCP.

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

Es importante notar que la contaminación puede ser extendida después del vómito, debido a la formación de aerosol y transporte posterior de las partículas de virus por aire. El efecto de los desinfectantes sobre el grado de infección de NLV casi no se ha estudiado, debido a la carencia de un sistema de cultivos de tejidos o ejemplar animal. De los experimentos realizados con voluntarios adultos en los años ochenta, se ha sugerido que el virus Norwalk (uno de los prototipos NLV) es resistente a bajo pH (2.7), la extracción de éter y el tratamiento térmico (30 minutos a 60°C). El virus según se informe es bastante resistente al cloro, como el virus permanece infeccioso después de 30 minutos en la presencia de 0.5-1 mg de cloro libre por litro. En concentraciones más

altas, se inactiva el virus (>2 mg por litro de cloro libre; 40). Estos hallazgos tienen que interpretarse con cuidado, ya que los datos de estudios recientes de dosis y respuestas lo hacen muy claro que las dosis muy altas del virus fueron usadas en los experimentos de desafío realizados anteriormente con voluntarios. Por eso, la reducción del grado infeccioso debido a varios tratamientos puede no ser detectada.

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

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

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

¿Cuál es la enfermedad?	Gastroenteritis
¿Cuál es el patógeno microbiano?	NLV
¿Cómo se puede identificar fácilmente en personas?	Por medio de ensayos de detección molecular
¿Cómo se puede identificar en los alimentos?	?? Algunos ensayos son disponibles, pero carece la información sobre el valor de predicción de una prueba negativa.
¿Qué tan común es la infección?	Es la causa más importante de brotes de gastroenteritis no bacteriana transmitidos por los alimentos
¿Qué alimentos son fuentes de infección?	1. Mariscos. 2. Cualquier alimento que se ha manipulado manualmente y que no ha recibido posteriormente un tratamiento térmico
¿Cómo entró el patógeno en el alimento?	1. Por manipuladores de alimentos, que están infectados, que trabajan en cualquier punto de la cadena, de la granja a la mesa. 2. El riego o lavado con agua contaminada con heces. 3. La información sobre la transmisión zoonótica es confusa.
¿Cómo se puede tratar?	Solamente por tratamiento sintomático
¿Cómo se puede prevenir?	Higiene estricta
¿Resulta exitosa la estrategia de prevención?	?

## 5. LEGISLACIÓN, REGLAS Y REGLAMENTOS

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

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1. CONCLUSIONES

- Hasta el momento, no se habían compilado datos detallados sobre los virus en los alimentos; con este “Documento de Debate sobre los Virus en los Alimentos”, se ha logrado el comienzo de la recolección de información sobre este tema. Los datos en este documento demuestran que los virus en los alimentos pueden ser una fuente importante de enfermedades transmitidas por los alimentos.
- Se dan muchos consejos pertinentes en el presente Documento de debate. Las sugerencias se dirigen a la necesidad crítica de investigaciones, estudios y evaluaciones para delinear más claramente las necesidades, tales como aquellas en relacionadas con:
  - La determinación de las vías comunes de la transmisión de los virus, incluida la infección transmitida por los alimentos
  - La mejora de la vigilancia de las enfermedades así como también de las herramientas para el rastreo molecular de los virus por toda la cadena alimentaria
  - El desarrollo de métodos nuevos y mejorados para la detección y tipado de los virus transmitidos por los alimentos, y del empleo de tales métodos en el análisis de alimentos
  - El desarrollo de planes de vigilancia para determinar cuáles son los alimentos de alto riesgo en conexión con la contaminación por los virus
  - La determinación del mecanismo del surgimiento de las cepas epidémicas, incluida la relación con las infecciones porcinas por los calicivirus
  - La evaluación de si las campañas públicas concebidas para la prevención de las infecciones víricas transmitidas por los alimentos tienen probabilidades de ser exitosas
  - La evaluación del uso de aguas negras y aguas residuales en el riego para los riesgos de la contaminación vírica en los alimentos
  - La consideración de la incorporación de los virus transmitidos por los alimentos en los programas de inocuidad de los alimentos
- Cuando se está diseñando un programa de control de la higiene, es importante tomar en consideración los consejos anteriores, particularmente en los ambientes en los que los virus humanos, animales o ambientales podrían causar una contaminación significativa de los productos alimenticios.
- Las medidas de higiene vigentes, previstas para controlar las infecciones bacterianas en los alimentos, podrían ayudar a prevenir la infección vírica transmitida por los alimentos; sin embargo, estas medidas no ha sido validadas para este efecto en la mayoría de los casos. Esto significa que no se pueden excluir las infecciones víricas, cuando las medidas de higiene “tradicionales” son aplicadas de manera adecuada.

- En la presente fase, como se documenta en este texto, la ciencia disponible en relación con las infecciones víricas transmitidas por los alimentos todavía no es suficiente para establecer las medidas adecuadas de control en el formato de una directriz típica del Codex. Esto podría ser posible en un futuro, cuando los descubrimientos más novedosos de la ciencia proporcionen las medidas del control más viables.

## 6.2 RECOMENDACIÓN

- En caso de que se examine este “Documento de Debate sobre los Virus en los Alimentos”, se recomienda dar a conocer, a tantas personas como sea posible, el estado limitado de los conocimientos disponibles sobre el tema aquí debatido, no solamente para expandir los conocimientos, sino también para contribuir a la prevención de las infecciones víricas por los alimentos, cuando esto sea factible. Un formato adecuado para comunicar a la comunidad mundial los conocimientos disponibles podría ser un documento del Codex titulado “Medidas de Control para los Virus Transmitidos por los Alimentos”, comparable al documento sobre *Listeria monocytogenes* en su redacción actual.

## 7. REFERENCIAS

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



16. Forbes A., Williams R. Changing epidemiology and clinical aspects of hepatitis A. *Br Med Bull.* 1990;46(2):303-18.
17. Frösner, G., Papaevangelou, G., Butler, R., Iwarson, S., Lindholm, A., Courouce-Pauty, A., Haas, H., and Deinhardt, F. Antibody against hepatitis A in seven european countries. *Am. J. Epidemiol.* 1979;110:63-69.
18. Gangarosa, R.E., Glass, R.I., Lew, J.F., and Boring, J.R. Hospitalizations involving gastroenteritis in the United States, 1985: the special burden of the disease among the elderly. *Am. J. Epi.* 1992;135:281-290.
19. Gajardo R, Dmez JM, Jofre J, Bosch A. Adsorption-elution with negatively and positively-charged glass powder for the concentration of hepatitis A virus from water. *J of Virol Meth* 1991;31:345-352.
20. Gaulin C.D., Ramsay D., Cardinal P., D'Halevyn M.A. Epidemic of gastroenteritis of viral origin associated with eating imported raspberries. *Can J Public Health.* 1999;90:37-40. French.
21. Gerba CP, Rose JB, Haas CN. Sensitive populations: who is at the greatest risk? *Int. J. Food Microbiol.* 1996;30(1-2):113-23.
22. Gilgen, M, German, D., Lüthy, J. and Hübner, P. Three-step isolation method for sensitive detection of enterovirus, rotavirus, hepatitis A virus and small round structured viruses in water samples. *Int J Food Microbiol.* 1997; 37:189 – 199.
23. Glass, R.I., Gentsch, J., en Smith, J.C. Rotavirus vaccines: success by reassortment? *Science* 1994;265:1389-1391.
24. Gouvea, V., Santos, N., Carmo Timenetsky, M., and Estes, M. Identification of Norwalk virus in artificially seeded shellfish and selected foods. *J. Virol. Meth.* 1994;48:177-187.
25. Goyan et al 1979 *Appl. Env. Microbiol* 37, 572-575
26. Graham DY, Jiang X, Tanaka T, Opekun AR, Madore HP, Estes MK. Norwalk virus infection of volunteers: New insights based on improved assays. *J Infect Dis* 1994;170:34-43.
27. Gray J.J., Green J., Cunliffe C., Gallimore C., Lee J.V., Neal K., Brown D.W. Mixed genogroup SRSV infections among a party of canoeists exposed to contaminated recreational water. *J Med Virol.* 1997;52:425-9.
28. Green J, Norcott JP, Lewis D, Arnold C, Brown DW. Norwalk-like viruses: demonstration of genomic diversity by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993;31:3007-12.
29. Hale AD, Crawford SE, Ciarlet M, Green J, Gallimore C, Brown DW, Jiang X, Estes MK. Expression and self-assembly of Grimsby virus: antigenic distinction from Norwalk and Mexico viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6(1):142-5.
30. Halliday M.L., Kang L.Y., Zhou T.K., Hu M.D., Pan Q.C., Fu T.Y., Huang Y.S., Hu S.L. An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *J Infect Dis.* 1991;164(5):852-9.
31. Hedberg, C.W. en Osterholm, M.T. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. *Clin. Microbiol. Rev.* 1993;6:199-210.
32. Hedberg, C., MacDonald, K., and Osterholm, M. Changing epidemiology of food-borne disease: a Minnesota perspective. *Clin Infect Dis.* 1994;18:671-682.
33. Hoogenboom-Verdegaal, A.M.M., During, M., Engels, G.B., Hoekstra, J.A., Leentvaar-Kuypers, A., Peerbooms, P.G.H., Kooij, W.C.M., van Vlerken, R., en Sobczak, H. Epidemiologisch en microbiologisch onderzoek met betrekking tot gastro-enteritis bij de

- mens in de regio's Amsterdam en Helmond in 1987 en 1988. RIVM rapport no. 148612 002, 1990.
34. Hutin Y.J., Bell B.P., Marshall K.L., Schaben C.P., Dart M., Quinlisk M.P., Shapiro C.N. Identifying target groups for a potential vaccination program during a hepatitis A communitywide outbreak. *Am J Public Health*. 1999;89(6):918-21.
  35. Hutin YJ, Pool V, Cramer EH, Nainan OV, Weth J, Williams IT, Goldstein ST, Gensheimer KF, Bell BP, Shapiro CN, Alter MJ, Margolis HS. A multistate, foodborne outbreak of hepatitis A. National Hepatitis A Investigation Team. *N Engl J Med*. 1999;340:595-602.
  36. Iversen A.M., Gill M., Bartlett C.L., Cubitt W.D., McSwiggan D.A. Two outbreaks of foodborne gastroenteritis caused by a small round structured virus: evidence of prolonged infectivity in a food handler. *Lancet*. 1987;2(8558):556-8.
  37. Jehl-Pietri CH, Hugues B, Andri M, Diez JM, Bosch A. Comparison of immunological and molecular hybridization detection methods for demonstration of hepatitis A virus in sewage. *Letters in Appl Microbiol* 1993;17:162-166.
  38. Jiang, X., Graham DY, Wang KN, Estes MK. Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science*. 1990;250:1580-3.
  39. Jiang X, Wang M, Wang K, Estes MK. Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology*. 1993;195:51-61
  40. Kapikian, A.Z., and Chanock, R.M. Norwalk group of viruses. In: *Fields Virology 2nd Ed.*, B.N. Fields and D.M. Knipe (Eds.), Raven Press Inc. New York, NY, USA, 1990:671-693.
  41. Kaplan, J.E., Feldman, R., Campbell, D.S., Lookabaugh, C., en Gary, G.W. The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastro-enteritis. *Am. J. Public Health* 1982;72:1329-1332.
  42. 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 gastroenteritis associated with eating raw oysters. *JAMA* 1995;273:466-471.
  44. Koopmans, M. Deaths asociated with outbreaks of gastreenteritis: an underestimated problem? *Infect. Dis. Bull. (NL)* 1997;8:251-252.
  45. Koopmans, M., Vinjé, J., de Wit, M., Leenen, I., van der Poel, W., and van Duynhoven, Y. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands. *J. Infect. Dis.* In press.
  46. Kukkula M., Arstila P., Klossner M.L., Maunula L., Bonsdorff C.H., Jaatinen P. Waterborne outbreak of viral gastroenteritis. *Scand. J. Infect. Dis.* 1997;29:415-8.
  47. Kukkula, M., Maunula, L. Silvennoinen, E. and C.- H. v.Bonsdorff: Outbreak of viral gastroenteritis due to drinking water contaminated by Norwalk-like viruses. *J. Infect. Dis* (in press) 1999.
  48. Lavanchy, D., Morel, B., and Frei, P.C. Seroprevalence of hepatitis E virus in Switzerland. *Lancet* 1994;344:747-748.
  49. Lees, D.N., Henshilwood, K., and Dore, W. Development of a method for detection of enteroviruses in shellfish by PCR with poliovirus as a model. *Appl Environm Microbiol* 1994;60:2999-3005.
  50. LeGuyader, F. , Apaire-Marchais, V., Brillet, J., and Billaudel, S. Use of genomic probes to detect hepatitis A virus and enterovirus RNAs in wild shellfish and relationships of viral contamination to bacterial contamination. *Appl Environm Microbiol* 1993;59:3963-3968.

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

- factor for hepatitis A in Italy: public health indications from a 10-year surveillance. *Journal of Hepatology* 1997; 26: 743-747.
69. Melker, H. de, van der Peet, T., Berbers, G., van de Akker, R., van Knapen, F., Schellekens, J., and Conyn-van Spaendonck, M. Pilot-study for the PIENTER project: seroprevalence of mumps, measles, rubella, Bordetella pertussis, toxoplasma gondii, Trichinella spiralis, and hepatitis A. RIVM report 213675004 (in Dutch).
  70. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:9860-5.
  71. Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, Purcell RH, Emerson SU. Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol*. 1998;72:9714-21.
  72. Moe, C., Sobsey, M., Stewart, P., and Crawford-Brown, D. Estimating the risk of human calicivirus infection from drinking water. *Proc. 1<sup>st</sup> Int. Workshop on Human Caliciviruses, Atlanta 1999*:P4-6.
  73. Noel JS, Ando T, Leite JP, Green KY, Dingle KE, Estes MK, Seto Y, Monroe SS, Glass RI. Correlation of patient immune responses with genetically characterized small round-structured viruses involved in outbreaks of nonbacterial acute gastroenteritis in the United States, 1990 to 1995. *J Med Virol* 1997;53:372-83.
  74. Noel J.S., Fankhauser R.L., Ando T., Monroe S.S., Glass R.I. Identification of a distinct common strain of "Norwalk-like viruses" having a global distribution. *J Infect Dis*. 1999;179(6):1334-44.
  75. Pang XL, Joensuu J, Vesikari T. Human calicivirus-associated sporadic gastroenteritis in Finnish children less than two years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 1999;5:420-6.
  76. Parashar UD, Kilgore PE, Holman RC, Clarke MJ, Bresee JS, Glass RI. Diarrheal mortality in US infants. Influence of birth weight on risk factors for death. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1998;152:47-51.
  77. Parashar U.D., Dow L., Fankhauser R.L., Humphrey C.D., Miller J., Ando T., Williams K.S., Eddy C.R., Noel J.S., Ingram T., Bresee J.S., Monroe S.S., Glass R.I. An outbreak of viral gastroenteritis associated with consumption of sandwiches: implications for the control of transmission by food handlers. *Epidemiol Infect*. 1998;121:615-21.
  78. Patterson W., Haswell P., Fryers P.T., Green J. Outbreak of small round structured virus gastroenteritis arose after kitchen assistant vomited. *Commun Dis Rep CDR Rev* 1997;7:R101-3
  79. Pönkä, A, Maunula, L, v.Bonsdorff, C.-H. and O Lyytikäinen: Outbreak of calicivirus gastroenteritis associated with eating frozen raspberries. *Eurosurveillance*, 4, 66 - 69, 1999.
  80. Purcell, R.H., and Ticehurst, J.R. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis: epidemiology and clinical characteristics. *Viral hepatitis and Liver Disease* 1988:131-137.
  81. Roberts, T., and Unnevehr, L. New approaches to regulating food safety. *Food Review* 1994;17:2-8.
  82. Robertson BH, Friedberg D, Normann A, Graff J, Flehmig B, Shouval D. Sequence variability of hepatitis A virus and factor VIII associated hepatitis A infections in hemophilia patients in Europe. An update. *Vox Sang*. 1994;67 Suppl 1:39-45
  83. Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan OV, Siegl G, Widell A, Margolis HS, Isomura S, Ito K, et al. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J Gen Virol*. 1992;73:1365-77.

84. Rosenblum L.S., Villarino M.E., Nainan O.V., Melish M.E., Hadler S.C., Pinsky P.P., Jarvis W.R., Ott C.E., Margolis H.S. Hepatitis A outbreak in a neonatal intensive care unit: risk factors for transmission and evidence of prolonged viral excretion among preterm infants. *J Infect Dis.* 1991;164(3):476-82.
85. Sjogren M.H., Tanno H., Fay O., Sileoni S., Cohen B.D., Burke D.S., Feighny R.J. Hepatitis A virus in stool during clinical relapse. *Ann Intern Med.* 1987;106(2):221-6.
86. Skala, M., Collier, C., Hinkle, C.J., Donnell, H.D. Foodborne hepatitis A - Missouri, Wisconsin, and Alaska, 1990-1992. *MMWR* 1993;42:526-529.
87. Sobsey, M., Shin, G.-A., Battigelli, D., and Newland, S. Reduction of Norwalk virus by drinking water treatment processes. *Proc. 1<sup>st</sup> Int. Workshop on Human Caliciviruses, Atlanta 1999*:P4-3.
88. Sugieda M., Nakajima K., Nakajima S. Outbreaks of Norwalk-like virus-associated gastroenteritis traced to shellfish: coexistence of two genotypes in one specimen. *Epidemiol Infect.* 1996;116:339-46.
89. Sugieda M, Nagaoka H, Kakishima Y, Ohshita T, Nakamura S, Nakajima S. Detection of Norwalk-like virus genes in the caecum contents of pigs. *Arch Virol.* 1998;143:1215-21.
90. Taylor. Molecular epidemiology of South African strains of hepatitis A virus: 1982-1996. *J Med Virol* 1997;51:273-299.
91. Trautwein, C., Kiral, G., Tillmann, H.L., Witteler, H., Michel, G., and Manns, M.P. Risk factors and prevalence of hepatitis E in German immigrants from the former Soviet Union. *J. Med. Virol.* 1995;45:429-434.
92. Vandenvelde, C., Heyvaert, F., Maes, F., Kadi, L., and Opstelten, R. Hepatitis E virus infection in Belgian soldiers. *Lancet* 1994;344:747.
93. Vento S., Garofano T., Renzini C., Cainelli F., Casali F., Ghironzi G., Ferraro T., Concia E. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med.* 1998;338(5):286-90.
94. Vinjé, J., and Koopmans, M. Molecular detection and epidemiology of NLV in outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *JID* 1996;174:610-615.
95. Vinjé, J., Altena, S., and Koopmans, M. The incidence and genetic variability of small-round-structured viruses (SRSV) in outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *JID* 1997;176:1374-1378.
96. Wait et al. 1983 *J. Food Prot.* 46, 493-497
97. Wheeler, J.G., Sethi, D., Cowden, J.M., Wall, P.G., Rodrigues, L.C., Tompkins, D.S., Hudson, M.J., Roderick, P.J. Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to the general practitioner, and reported to national surveillance. *BMJ* 1999;318:1046-50.
98. Zhang, X.M., Herbst, W., Kousoulas, K.G., and 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.