

**LOS VIRUS ENTÉRICOS COMO RIESGOS
EMERGENTES EN LA CADENA
ALIMENTARIA: EL VIRUS DE LA
HEPATITIS E COMO EJEMPLO DE LA
ESTRATEGIA «UNA SALUD»**

**DISCURSO PRONUNCIADO POR EL
Prof. Dr. D. DAVID RODRÍGUEZ LÁZARO**

**ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE
CASTILLA Y LEÓN**

**LOS VIRUS ENTÉRICOS COMO RIESGOS
EMERGENTES EN LA CADENA
ALIMENTARIA: EL VIRUS DE LA
HEPATITIS E COMO EJEMPLO DE LA
ESTRATEGIA «UNA SALUD»**

**DISCURSO PRONUNCIADO POR EL
Prof. Dr. D. DAVID RODRÍGUEZ LÁZARO**

Leído en el solemne acto de su recepción pública como
Académico Correspondiente, celebrado el día 17 de mayo de 2017

LEÓN, 2017

© Universidad de León
Área de Publicaciones
© David Rodríguez Lázaro

ISBN : 978-84-9773-883-5
DEPOSITO LEGAL. LE-174-2017
Impreso en España / Printed in Spain

León, 2017

A mi hermano Roberto

A Guillermo y Guzmán



«S'il est terrifiant de penser que la vie puisse être à la merci de la multiplication de ces infiniment petits, il est consolant aussi d'espérer que la science ne restera pas toujours impuissante devant de tels ennemis»

Louis Pasteur, 1878
Théorie des germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
1. JUSTIFICACIÓN	1
2. INTRODUCCIÓN	5
3. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS ENTÉRICOS DE INTERÉS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA	17
4. RELEVANCIA DE LOS VIRUS ENTÉRICOS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA Y SALUD PÚBLICA	23
3.1. Situación en los Estados Unidos de América	28
3.2. Situación en la Unión Europea.	29
5. PRINCIPALES VIRUS ENTÉRICOS DE INTERÉS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA	37
5.1 Calicivirus: principales causas virales de gastroenteritis	37
5.2 Virus de la hepatitis A: prevalente en los países en desarrollo	47
5.3 Rotavirus: patógenos de origen hídrico que afectan principalmente a la infancia	55
5.4 Adenovirus: algunos serotipos causan gastroenteritis en niños	65
5.5 Virus de la hepatitis E: agente zoonótico emergente	72
5.6 Otros virus entéricos	74

6. TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS ENTÉRICOS: DEL AMBIENTE AL ALIMENTO	77
6.1 Transmisión zoonótica	77
6.2 Exposición ocupacional	81
6.3 Matrices ambientales que contienen virus patógenos humanos	83
7. EL VIRUS DE LA HEPATITIS E: LA TRANSMISIÓN ZONÓTICA COMO UN PROBLEMA EMERGENTE	93
8. PRIORIDADES DE INVESTIGACIÓN EN VIRUS ENTÉRICOS	119
8.1 Prioridades en investigación en la epidemiología e impacto en Salud Pública de los virus entéricos	124
8.2 Prioridades en investigación en la detección de los virus entéricos en la cadena alimentaria	127
8.3 Prioridades en investigación en el control de los virus entéricos en la cadena alimentaria	130
8.4 Prioridades globales en investigación en los virus entéricos en la cadena alimentaria	133
9. CONCLUSIONES	139
10. REFERENCIAS	143

AGRADECIMIENTOS

Excelentísimos Sres. Presidente y Secretario de la Academia de Ciencias Veterinarias de Castilla Y León,

Excelentísimos e Ilustrísimos Sres. Académicos: Fundadores, de Honor, de Número y Correspondientes

Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades académicas, políticas y profesionales,

Querida familia, Amigos y Compañeros

Señoras y Señores,

Mis primeras palabras son para manifestar mi agradecimiento a los miembros de esta Academia en la que hoy ingreso por la confianza que me han otorgado, así como por el inmenso honor que me han hecho al proponerme como miembro correspondiente de tal insigne Institución. De una forma particular quiero expresar mi gratitud a los tres Académicos que avalaron mi propuesta; los Excmos. Sres. Dres. D. Carlos Alonso Calleja, D^a. Rosa Capita González y D. César Gutiérrez Martín y en particular y con gran cariño a Rosa, que acaba de introducir este discurso.

En un día tan especial me gustaría destacar a una serie de personas que han marcado mi trayectoria, y que en muchos aspectos han hecho posible que hoy esté aquí ante Uds. recibiendo este honor.

En primer lugar, la Prof. Maria Pla de Solá-Morales, mi directora de tesis, la persona que me brindó la oportunidad de iniciar la que considero la profesión más fascinante; la de investigador. Además, de la confianza que tuvo en mí, me ofreció gran libertad que contribuyó en gran manera a mi madurez científica. Asimismo, he de hacer extensivo este agradecimiento a la Institución que me acogió (y financió), la Universitat de Girona, y en particular a los grupos en los que me integré, dirigidos por los Profs. Emili Montesinos y Carmen Carretero. Los años que pasé allí fueron magníficos. Muchas gracias.

En segundo lugar, la persona que más me ha influenciado en mi trayectoria profesional, y la que en definitiva es la responsable de que hoy esté aquí hablando sobre virus entéricos; el Prof. Nigel Cook. Escribí en los agradecimientos de mi tesis doctoral que *“es una de las personas con unas convicciones morales y éticas más sólidas, con un espíritu de trabajo y un concepto de la amistad más elevados que he encontrado”*. Además, añadí *“son muchas las cosas que debo agradecerle; el haberme ofrecido trabajar en su grupo, el enseñarme tantas cosas –especialmente aquellas que no se encuentran en los libros ni trabajando en el laboratorio-, el aceptar a un recién llegado como uno de los suyos, y sobre todo el haberme ofrecido su amistad sincera y sin condiciones”*. Han pasado desde entonces 13 años, y lo único que puedo añadir es que su amistad me ha seguido enriqueciendo tanto científica como humanamente.

Agradezco también a mi mentor postdoctoral, el Prof. José Antonio Vázquez Boland, que tanto en los buenos momentos como aquellos más difíciles, me permitió continuar mi formación en la Universidad de Bristol, lo que ha contribuido notoriamente en mi trayectoria profesional.

También me gustaría mostrar toda mi gratitud al Prof. Jordi Rovira Carballido, mi compañero de batallas (científicas) en la Universidad de Burgos. Muchas gracias Jordi, por apostar por mí y depositar tu confianza en mí de una manera incondicional.

De una manera muy especial, me gustaría agradecer a Marta por todo su apoyo, tanto científico como humano y emocional. Desde hace muchos años compartimos nuestra vida, y también nuestros progresos científicos. Además de muchos proyectos, artículos e incluso algún galardón, hemos conseguido los dos mayores premios; Guillermo y Guzmán.

Además de las personas, me gustaría agradecer a las instituciones en las que me he formado y trabajado. A la Universidad de León, en la que me formé como Veterinario y Tecnólogo de los Alimentos, e inicié mi periplo doctoral; a la Universitat de Girona donde me doctoré; y a la Universidad de Bristol y al Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM) del CSIC donde me formé como investigador postdoctoral. Especialmente me gustaría mostrar toda mi gratitud al Instituto

Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), donde trabajé durante 8 años como investigador; allí pasé momentos formidables y conseguimos grandes logros, aunque siento que no se supieron valorar lo suficiente. Finalmente, esta gratitud quiero hacerla también extensiva a la que hoy es mi casa, la Universidad de Burgos, y a todos los que la integran por hacerme sentir allí como uno más.

No puedo finalizar los agradecimientos, sin expresar todo mi cariño y gratitud a mis padres, quienes han sido un ejemplo de superación, trabajo y sacrificio; un espejo donde siempre he podido mirarme y unos sólidos pilares donde sostenerme.

Finalmente, quiero dedicar este discurso a mi hermano Roberto; estés donde estés, espero que hoy estés tan orgulloso de mí como siempre lo estuve yo de ti. Te echo de menos.

1. JUSTIFICACIÓN

En mi trayectoria profesional he tratado diversos aspectos fundamentales y aplicados en la seguridad microbiológica de los alimentos: el desarrollo de métodos de diagnóstico de patógenos de origen alimentario y animal como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Brucella*, *Mycoplasma agalactiae*, *Rhodococcus equi*, diferentes especies del género *Clostridium*, y distintos virus entéricos; la aplicación de tecnologías emergentes e innovadoras de inactivación microbiana como las altas presiones hidrostáticas; la biología y genómica de patógenos intracelulares como *Listeria monocytogenes* o *Rhodococcus equi*; la ecología y epidemiología de la contaminación microbiológica (tanto bacteriana como vírica) en distintas cadenas de producción alimentaria y animal, y más recientemente la ecología de la resistencia a antibióticos de una manera integral; de la granja al hospital, pero con mayor énfasis en la cadena alimentaria.

Tenía claro que la temática para este discurso debía pivotar sobre un concepto fundamental en Salud Pública: el concepto de «UNA SALUD». Es fundamental que todos los actores implicados en la Salud Pública actúen de una forma coordinada y que se plantee asimismo una estrategia integral para garantizar de una manera global la salud. Aspectos como la sanidad ambiental, la sanidad animal y la sanidad humana no deben estar disociados, y compartimentalizados de una manera rígida y sin conexión efectiva. No podemos permitirnos, como

profesionales en el ámbito de la Salud Pública, que problemas globales como las enfermedades infecciosas, sean abordados desde diversas áreas sin cooperación y conocimiento de las actividades que deberían ser, no obstante, coordinadas. Es chocante que muchas veces los facultativos médicos no conozcan cómo se abordan las enfermedades infecciosas en la producción primaria, teniendo en cuenta que más del 70% de las infecciones humanas tienen carácter zoonótico. Del mismo modo, es lamentable que los veterinarios no tomemos de una manera decidida una actividad proactiva para conocer cuáles son las necesidades y problemas que afectan a las poblaciones humanas tanto en el ámbito asistencial como más particularmente en los hospitales. Y es mucho más lamentable, que facultativos médicos y veterinarios, y profesionales de la salud pública olviden que el origen y reservorio de las infecciones radica y está en el medio ambiente, y que la sanidad ambiental, y no sólo la de humanos y animales, es un pilar incuestionable de la Salud Pública.

Hoy en día se verbaliza y emplea el concepto «UNA SALUD» en diversos foros y escenarios en este país. Esto es muy saludable porque significa que algo está cambiando, y que los distintos profesionales de los ámbitos de una salud global se están reconociendo como intérpretes necesarios. No obstante, como sucede en otros ámbitos, nuestro país avanza con retraso. Miro con envidia, la aproximación decidida que se ha tomado desde hace ya bastantes años en el Reino Unido sobre el concepto de una «UNA SALUD»; multitud de instituciones académicas

han creado centros mixtos médico-veterinarios para abordar problemas desde una estrategia global y común. En la misma Universidad donde hice mi primer postdoctorado, la Universidad de Bristol, la Facultad donde trabajaba se denominaba "*Faculty of Medical and Veterinary Sciences*" e integraba las escuelas de Medicina y Veterinaria; y hoy en día se denomina "*Faculty of Health Sciences*" e incluye además las Escuelas de Odontología y Medicina Comunitaria. Algo similar, están llevando a cabo las Universidades británicas que abren nuevas facultades de Veterinaria, como la Universidad de Surrey. Otras Universidades convergen sus intereses en investigación en enfermedades infecciosas en un único centro de investigación, como es el caso de la Universidad de Liverpool y el "*Institute of Infection and Global Health*". Espero que algún día, podamos ver algo similar aquí en nuestro país.

Otro aspecto que quería que estuviese incluido en este discurso era el carácter emergente, entendiendo como tal una característica propia del agente infeccioso que denotara su nueva aparición, o el incremento en su relevancia en la Salud Pública.

Al respecto, recuerdo que, en el año 2008, en una de las reuniones del Comité Científico de Lucha contra las Plagas Agrícolas de Castilla y León, el Prof. Rodríguez Ferri se congratulaba por la temática que estábamos desarrollando en nuestro laboratorio en el marco de un proyecto europeo sobre virus entéricos (VITAL), porque los consideraba

“como un tema emergente y con mucho futuro”. Como se pretende mostrar a lo largo de este discurso los virus entéricos constituyen un problema emergente en salud pública en general y en seguridad alimentaria en particular. Asimismo, algunos de ellos tienen un carácter zoonótico, y los reservorios principales de la infección humana son especies con un alto impacto ambiental por su producción intensiva; como es el caso del porcino. Por tanto, el medio ambiente, a través de la liberación de estiércol y purines, puede constituir una vía de difusión de la contaminación vírica, afectando por tanto la tercera parte del círculo del concepto «UNA SALUD».

Finalmente, este es un área en la que he trabajado intensamente en los últimos diez años, y por tanto a la que también me gustaría dedicarle un pequeño homenaje seleccionando un tema al respecto para mi discurso de ingreso en la Academia de Ciencias Veterinarias de Castilla y León.

Por todos estos aspectos, el concepto de «UNA SALUD», su emergencia y la experiencia en la temática, me decidí titular este discurso “LOS VIRUS ENTÉRICOS COMO RIESGOS EMERGENTES EN LA CADENA ALIMENTARIA: EL VIRUS DE LA HEPATITIS E COMO EJEMPLO DE LA ESTRATEGIA «UNA SALUD» y centrarlo sobre el papel de los virus entéricos en la cadena alimentaria, y en particular el agente zoonótico el virus de la hepatitis E.

2. INTRODUCCIÓN

Me gustaría empezar este discurso citando las palabras del premio nobel británico Sir Peter Brian Medawar (Figura 1) sobre cómo pueden definirse los virus; *«un virus no es más que un pedazo de ácido nucleico rodeado de malas noticias»*.



Figura 1. Peter Brian Medawar. Fotografía tomada en la *Royal Society* en Londres, febrero de 2016.

El Diccionario de la Real Academia Española los define como *«organismos de estructura muy sencilla, compuestos de proteínas y ácidos nucleicos, y capaces de reproducirse solo en el seno de células vivas específicas, utilizando su metabolismo»*¹. El término «virus» proviene del latín *virus*, que hace referencia a veneno o ponzoña, que probablemente deriva a su

vez de los términos del latín *viscum* «sustancia pegajosa, liga», del sánscrito *visan* «veneno», del avestánico *vish* «veneno» o del griego *iox* «muérdago, liga» (Online Etymology Dictionary, www.etymonline.com). Fue empleado por primera vez en la lengua inglesa en 1392, utilizándose por primera vez con una acepción asociada a enfermedades infecciosas en 1728 en referencia a una enfermedad venérea. Así en este sentido, el Diccionario terminológico de Ciencias Médicas define a los virus como *«cualquiera de los agentes infecciosos más pequeños (20-300 nm) que se caracterizan por replicar solamente en células vivas y ser parásitos absolutos, incapaces de generar energía ni de cualquier actividad metabólica»*².



Figura 2. Filtro Chamberland-Pasteur. Foto del National Museum of American History.

El descubrimiento de estos organismos se realizó de manera independiente y en paralelo en dos laboratorios a finales del siglo XIX por los investigadores Dimitri Ivanovski (1864-1920) en Rusia y Martinus Beijerinck (1851-1931) en los Países Bajos (Figura 4). En ambos casos emplearon una estrategia similar; se pasaron extractos de muestras infectadas por filtros de porcelana con un diámetro de poro de tamaño inferior al de una bacteria, los filtros Chamberland-Pasteur (Figuras 2 y 3), con lo que podría retenerse todo tipo de sustancias incluidos los agentes infecciosos de origen bacterianos. Así, Dimitri Ivanovski en 1892 estudiando la enfermedad del mosaico de la planta del tabaco, descubrió que el extracto de hojas molidas de plantas de tabaco infectadas seguía siendo infeccioso después de filtrarlo empleando este tipo de filtros, aunque inicialmente lo asoció a una toxina producida por bacterias³. En 1.898, Martinus Beijerinck, de una manera independiente y desconociendo los estudios previos de Ivanovski, obtuvo resultados similares, confirmando que se trataba de una nueva forma de agente infeccioso⁴. Además, para excluir la posibilidad de que el filtro de porcelana estuviera dejando pasar alguna bacteria de tamaño inferior al diámetro del poro de los filtros, difundió los extractos macerados infecciosos a través de gel de agar, observando que se retenía la capacidad infectiva. Asimismo, observó que el agente se multiplicaba únicamente en las células en división, soportando la desecación, pero siendo inactivado por ebullición. Habiendo fracasado



Figura 3. Charles Chamberland (1851–1908), inventor del filtro Chamberland-Pasteur utilizado para el descubrimiento de los virus. Foto de los Annales de l'Institut Pasteur 1908, volumen 22 página 369.

con los medios a su disposición para comprobar que estos agentes estuvieran compuestos de partículas, los denominó «*contagium vivum fluidum*» («fluido cotaminante viviente»).

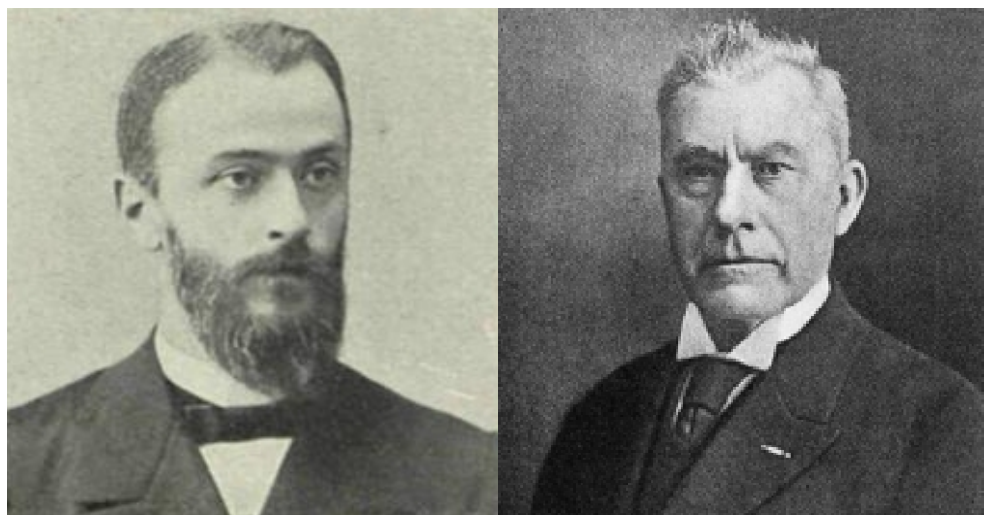


Figura 4. Dimitri Ivanovski (1864-1920) y Martinus Beijerinck (1851-1931) descubridores de los virus de una manera independiente. Fotos de la colección del Wellcome Institute.

Ese mismo año 1898, Loeffler y Frosch (Figura 5), ambos colaboradores de Robert Koch en Alemania, obtuvieron resultados similares para un virus animal; el virus de la fiebre aftosa^{3,4}. Estos investigadores descartaron la presencia de una toxina de origen bacteriano sobre la base de que la fiebre aftosa se podía pasar de un animal a otro, con una gran dilución en cada paso, y concluyeron primero que el agente debía ser capaz de replicarse, y segundo, que debía ser más pequeño que las bacterias más pequeñas entonces conocidas, y por lo tanto más allá de la poder de resolución de los microscopios entonces disponibles³.



Figura 5. Dimitri Ivanovski (1864-1920) y Martinus Beijerinck (1851-1931) descubridores de los virus de una manera independiente. Foto de la colección del Wellcome Institute.

La virología alimentaria y ambiental estudia principalmente los virus que pueden transmitirse a través del agua, las aguas residuales, el suelo, el aire, los fómites (objetos capaces de transmitir patógenos microbianos) o los alimentos⁵. Se puede considerar que uno de los padres de esta disciplina fue el Prof. Dean O. Cliver (1935-2011) (Figura 6), coordinador del primer programa de investigación sobre la transmisión de virus a través de los alimentos en el *Food Research Institute* entonces ubicado en la Universidad de Chicago (desde 1967 en la Universidad de Wisconsin, Madison)⁶.



Figura 6. Prof. Dean O. Cliver (1935-2011). Uno de los fundadores de la virología alimentaria y ambiental. Foto tomada el 11 de octubre de 2008 en Pisa durante la 1st Food and Environmental Virology Conference.

Un hito muy relevante en esta área de investigación, fue la creación de una sociedad científica internacional que se dedica al estudio y promoción de esta disciplina, la *International Society for Food and Environmental Virology* (ISFEV) (www.isfev.org). Esta sociedad, creada en 2012, fue fundada a partir de una acción europea COST «Acción COST 929: *A European Network for Environmental and Food Virology* (ENVIRONET)» liderada por el Prof. Nigel Cook la cual se extendió posteriormente. La ISFEV ha tenido dos presidentes, el presidente fundador, el Prof. Nigel Cook del FERA Science Ltd (York, Reino Unido) (Figura 7), y el actual presidente, el Prof. Albert Bosch de la Universidad de Barcelona (Figura 8), que es también actualmente presidente de la Sociedad Española de Virología (SEV)



Figura 7. Prof. Nigel Cook, primer presidente de la ISFEV, y fundador y primer editor jefe de la revista *Food Environmental Virology* editada por Springer-Nature.

Finalmente, otro de los hitos más importantes en el campo de la virología alimentaria y ambiental, ha sido la creación y consolidación de una revista científica internacional dedicada en exclusiva a esta disciplina; la revista *Food and Environmental Virology* editada por la editorial Springer-Nature (www.springer.com/12560). Esta iniciativa también fue iniciada por el Prof. Nigel Cook, quien fue el creador de la misma y editor jefe desde su creación en 2009 hasta el año 2015, y en la que también ha sido sustituido por el Prof. Albert Bosch.



Figura 8. Prof. Albert Bosch, actual presidente de la ISFEV, y editor jefe de *Food Environmental Virology*.

Aunque se tratan de unos grandes desconocidos, existe una amplia variedad de virus de origen humano o animal que pueden propagarse en el medio ambiente e infectar a las personas a través del agua y los alimentos, principalmente por ingestión y ocasionalmente por contacto con la piel. Estos virus son liberados en el medio ambiente por diversas vías, incluidas las escorrentías de agua y los aerosoles.

Además, los virus zoonóticos pueden infectar a los seres humanos expuestos a las aguas superficiales contaminadas. Los alimentos de origen animal pueden estar también contaminados y su consumo puede causar infección humana si los virus no se inactivan durante el procesamiento de alimentos.

La mayoría de estos virus son virus entéricos transmitidos por vía fecal-oral. Los seres humanos infectados pueden excretar grandes cantidades de virus patógenos humanos; y además los animales y las plantas, así como otras excretas y secretas, también pueden transportar cargas virales elevadas⁷⁻⁹. Los virus transmitidos por vía fecal-oral generalmente no están envueltos y por lo tanto son muy estables en el medio ambiente¹⁰ e incluyen agentes etiológicos importantes, algunos de los cuales se piensa que son patógenos zoonóticos emergentes. Estos virus no siempre pueden ser eliminados efectivamente por los métodos actuales de tratamiento de aguas residuales¹¹⁻¹³ y por consiguiente pueden causar la contaminación viral del medio ambiente tanto a través de aguas residuales tratadas como de no tratadas. Otros ejemplos de rutas indirectas de transmisión de virus entéricos son las escorrentías del estiércol utilizado en la agricultura. También se puede producir la contaminación fecal directa del medio ambiente por parte de seres humanos y animales, por ejemplo, por bañistas o por defecación de animales salvajes en el suelo o en aguas superficiales. La consiguiente contaminación viral de las aguas marinas y costeras, los ríos y otras aguas superficiales, las aguas subterráneas y los vegetales y frutas se

asocia con los riesgos posteriores de la reintroducción de los patógenos virales en las poblaciones humana y animal¹⁵⁻¹⁸. La exposición humana a niveles aún bajos de estos virus patógenos en el medio ambiente, como en el caso de los norovirus, puede causar infección y proceso patológicos¹⁹⁻²⁰. Los individuos con un sistema inmunitario deteriorado, incluyendo niños, ancianos, mujeres embarazadas y personas infectadas con el VIH, son más susceptibles a estas infecciones y el pronóstico de la enfermedad puede ser más grave. Este es el caso, por ejemplo, de los rotavirus, que es un problema más grave para los niños pequeños en los países en desarrollo que en los desarrollados²¹. La susceptibilidad genética también puede desempeñar un papel en la susceptibilidad a la infección, como en el caso de los norovirus y el genotipo del receptor del histo-grupo sanguíneo ABO²²⁻²³.

Los virus transmitidos por el medio ambiente incluyen agentes etiológicos importantes de enfermedades leves tales como gastroenteritis, así como agentes de enfermedades más graves, tales como meningitis y hepatitis. La mayoría de estos virus pertenecen a las familias Adenoviridae, Caliciviridae, Hepeviridae, Picornaviridae y Reoviridae²⁴⁻²⁶. Las principales familias de virus entéricos incluyen uno o varios tipos y variantes de virus; los diferentes grupos pueden diferir en cuanto a persistencia, patogenicidad e infectividad. Algunos de estos virus, como el virus de la hepatitis E (el único miembro de los Hepeviridae), se cree que son patógenos zoonóticos. Por tanto, este virus, así como otros de carácter zoonótico pueden representar un

ejemplo de la aplicación de la estrategia «UNA SALUD», ya que pueden converger los intereses de la sanidad animal, ambiental y humana. Asimismo, nuevos virus patógenos humanos que también pueden transmitirse a través del medio ambiente emergen con frecuencia²⁷. Los virus entéricos se transmiten predominantemente a través de la vía fecal-oral y están presentes en las aguas residuales, y, por lo tanto, tal agua es una fuente potencial de infección si no se trata o se usa apropiadamente²⁸⁻³⁰. Estos agentes se adaptan al ambiente hostil del intestino y, en la mayoría de los casos, pueden persistir durante mucho tiempo en diferentes ambientes y matrices como el suelo, el agua o en diversidad de alimentos³¹⁻³⁵.

3. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS ENTÉRICOS DE INTERÉS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA

Las principales características comunes de los virus entéricos de especial relevancia en seguridad alimentaria se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales características de los virus entéricos

Específicos de hospedador, principalmente limitado a humanos.
Transmisión oral-fecal.
No se multiplican («replican») en los alimentos.
Muy baja dosis infectiva (<u>de 1 a 100</u> partículas infectivas)
Pueden ser eliminados de una manera elevada: 10^5 - 10^{11} partículas víricas/ml de heces diarreicas. 10^7 virus partículas víricas/ml de vómito.
Muy estables fuera del hospedador.
Resistentes a pH ácidos y básicos y a otros desinfectantes
No hay indicadores fecales de contaminación
No hay líneas de cultivo para los principales virus entéricos

Una de las principales diferencias entre los virus entéricos y las bacterias patogénicas de carácter alimentario es la especificidad de hospedador. Mientras que la inmensa mayoría de las bacterias patógenas de origen alimentario presentan una capacidad zoonótica, es decir el origen o fuente de infección procede de los animales y pueden transmitirse al hombre vía la ingestión de alimentos contaminados, como en el caso de bacterias importantes como *Salmonella* spp.,

Campylobacter termotolerantes o *Listeria monocytogenes*, la mayoría de los virus entéricos asociados a brotes alimentarios, sólo presentan una especificidad única para el hospedador humano. Así los virus entéricos principalmente asociados a gastroenteritis sólo pueden transmitirse a humanos susceptibles vía la ingestión de alimentos contaminados con heces humanas que contengan dichos virus, como en el caso de los calicivirus (norovirus y sapovirus) y el virus de la hepatitis A, los cuales representan más del 95% de las infecciones intestinales mediadas por virus en humanos³⁶. Hasta hace poco, se pensaba que todos los virus entéricos transmitidos por alimentos sólo podían originarse en seres humanos y, por lo tanto, su transmisión se limitaba a manipuladores de alimentos contaminados, contaminación cruzada de alimentos y contaminación por agua. Sin embargo, varios brotes recientes del virus de la hepatitis E han demostrado que es un virus zoonótico capaz de transmitirse por el consumo de productos cárnicos crudos o ligeramente cocidos³⁷⁻³⁸.

Una de las principales características de los virus entéricos es que no presentan envoltura lipoproteica, lo que los confiere una elevada estabilidad en el medio ambiente, así como en los ambientes de procesado de alimentos. □ Los virus que se encuentran fuera de un hospedador pueden considerarse como partículas inertes y, al no poseer metabolismo intrínseco, no requieren que ningún nutriente persista. Sin embargo, poseen un grado de robustez que les permite permanecer infecciosos durante las diferentes situaciones y condiciones que pueden

encontrar entre un hospedador a otro. Cuanto más tiempo puede sobrevivir un virus fuera de un hospedador, mayores son sus posibilidades de transmisión. Estas posibilidades se verán afectadas por diversas condiciones ambientales y factores como el calor, la humedad y el pH; los virus entéricos son muy resistentes a la desecación, a radiaciones ionizantes y a bajas temperaturas, incluso a las de congelación. Esto se ilustra por el número de brotes asociados a virus entéricos atribuible a la transmisión de agua o alimentos^{36,39}. Además, la presencia de materia orgánica y la tendencia de los virus a formar agregados aumentan la estabilidad vírica. Asimismo, las principales condiciones de conservación que se utilizan en los procesos alimentarios tienen un efecto letal no muy considerable sobre este tipo de organismos; son resistentes a pH ácidos y básicos y a diferentes tipos de desinfectantes e incluso a altas temperaturas, sobre todo a temperaturas inferiores a 90-100 °C⁴⁰. Así, una vez en alimentos como verduras, los virus pueden persistir en condiciones normales de almacenamiento durante los tiempos habituales entre la compra y el consumo. Se ha observado, por ejemplo, la supervivencia de poliovirus en apio y espinacas almacenadas a 4 ° C en una atmósfera húmeda durante más de 55 días (76 en el caso del apio) con una disminución de aproximadamente de 2 logs⁴¹, o ese mismo tipo de virus en ostras (*Crassostrea virginica*) almacenadas a 5 °C hasta 77 días⁴² -teniendo en cuenta que el tiempo más largo normalmente empleado entre la recogida y el consumo es de unos 28 días, si los enterovirus infecciosos

están presentes en las ostras en el momento de la cosecha, seguirán presentes cuando se compren los moluscos para su consumo en el hogar o en la restauración colectiva.

Otras características de especial relevancia en la epidemiología de las enfermedades víricas de tipo entérico son tanto la muy baja dosis infectiva -por debajo de 100 partículas víricas, y en algunos casos cantidades próximas a 1-5 partículas víricas infectivas⁴³ - como la gran capacidad de excreción tanto en vómitos como en diarrea de los hospedadores infectados (por encima de 10^5 partículas víricas por ml). Es de especial relevancia esa dosis infectiva tan baja, en marcado contraste por ejemplo a la observada en el caso de patógenos bacterianos de origen alimentario como *Listeria monocytogenes*, o *Campylobacter* termotolerantes donde las dosis descritas superan los 100 y 1000 ufc, respectivamente^{44,45}, y los requerimientos legales presentes o futuros (como será el caso futuro de los *Campylobacter* termotolerantes) de su presencia en los alimentos se ajustan a esos datos. Asimismo, la forma de eliminar los virus entéricos en ciertos casos favorece de gran manera su dispersión por el ambiente; este es el caso de los vómitos en proyectil en infecciones por norovirus donde las excreciones pueden alcanzar más de dos metros de distancia. Estos dos hechos, baja dosis infectiva y elevada excreción por parte de los hospedadores infectados, facilita la diseminación y la posibilidad de producir brotes con un número muy elevado de afectados. Asimismo, en el caso de los calicivirus y en particular en los norovirus humanos no existe

inmunidad natural no confiriéndose por tanto inmunidad post-infección, y siendo susceptibles los pacientes de padecer nuevos episodios a las pocas semanas.

Finalmente, una de las particularidades de los virus entéricos de más relevancia en seguridad alimentaria es su elevada dificultad para su detección asociada al hecho que no se multiplican («replican») en los alimentos y de que no haya líneas de cultivo totalmente establecidas para los principales virus entéricos; no existen para los calicivirus humanos o el virus de la Hepatitis E, y las cepas salvajes del virus de la Hepatitis A asociados a brotes alimentarios se adaptan muy mal a su replicación en líneas celulares en el laboratorio.

4. RELEVANCIA DE LOS VIRUS ENTÉRICOS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA Y SALUD PÚBLICA

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son uno de los problemas más serios en salud pública y una de las principales causas de enfermedad y fallecimientos⁴⁶⁻⁴⁹. Este problema se ha incrementado en las últimas décadas con la globalización de los mercados y el aumento de los viajes⁵⁰. Actualmente se conocen más de 200 enfermedades transmitidas por los alimentos⁵¹ que pueden provocar desde ligeras gastroenteritis hasta síndromes con un desenlace fatal, con la posibilidad añadida de complicaciones crónicas⁵². Se han descrito más de 40 agentes que pueden ocasionar toxiinfecciones alimentarias⁵³.

Se estima que anualmente se producen unos 600 millones de casos de gastroenteritis en todo el mundo⁵⁴, provocando unos 60 millones de litros de diarrea al día, lo que es equivalente a todo el agua que pasa por las cataratas Victoria en un minuto. En este sentido un estudio recientemente publicado estima que cada año en los EE.UU. de América se producen casi cuarenta y ocho millones de episodios asociados a los alimentos ocasionados por microorganismos patógenos^{48,49}, provocando pérdidas económicas anuales asociadas a gastos médicos y horas de trabajo de casi 78 mil millones de dólares⁵⁵, gasto equivalente al programa plurianual de investigación europeo Horizonte 2020. Únicamente los 31 más destacados (entre los que están incluidos bacterias como *Salmonella* spp o *Listeria monocytogenes*, virus como los norovirus o el virus de la hepatitis A y protozoos como *Toxoplasma*

gondii o *Cryptosporidium* spp.) ocasionan casi 9,5 millones de episodios que acarrearán casi 56.000 hospitalizaciones y más de 1.000 fallecimientos⁴⁸. Entre ellos destacan principalmente los norovirus humanos que ocasionan el mayor número de casos y el segundo mayor en hospitalizaciones⁴⁸. Datos similares se observan en otros países como el Reino⁵⁶ o Australia⁵⁷. Por lo tanto, el impacto de los microorganismos patógenos alimentarios en los sistemas de Salud Pública es muy considerable. Por ejemplo, se ha estimado que las enfermedades provocadas por microorganismos patógenos ocasionan el 1% de las hospitalizaciones y el 0,2% de los fallecimientos en los EE.UU.⁵⁸.

La humanidad ha padecido enfermedades producidas por virus desde antes de los albores de la civilización. Sólo en el siglo pasado los avances tecnológicos han llevado a una caracterización de los agentes etiológicos y su epidemiología. El primer brote registrado de enfermedades transmitidas por alimentos de probable etiología viral ocurrió a principios del siglo XX; en 1914, cuatro casos de enfermedad parálitica ocurrieron en una comunidad inglesa, entre los niños que bebían leche de una fuente común; no se determinó el modo de contaminación de la leche⁵⁹ (Figura 9). Nueve brotes adicionales de poliomielitis transmitida por alimentos se notificaron en el Reino Unido y los EE.UU. hasta 1949. Los diagnósticos en estos brotes fueron necesariamente clínicos - 1949 fue el año en que se anunció por primera vez el cultivo in vitro de poliovirus⁶⁰-, de modo que los métodos de diagnóstico de laboratorio todavía no estaban disponibles. La leche

cruda era el vehículo aparente en cinco de estos brotes adicionales⁶¹⁻⁶⁵, y la leche pasteurizada que quizás había sido contaminada después del calentamiento estaba implicada en dos más⁶⁶⁻⁶⁷. Los únicos otros alimentos sospechosos de haber servido de vehículos en estos brotes fueron limonada en un caso⁶⁸ y pasteles rellenos de crema en otro⁶⁹. Asimismo, se describieron otros ocho brotes de poliomielitis transmitidos por el agua hasta 1953; seis de ellos en Suecia⁷⁰. Un brote de hepatitis transmitido por el agua que parecía no haber sido causado por el virus de la hepatitis A, pero tal vez fue causado por el virus de la hepatitis E, se produjo en Nueva Delhi, India, en 1955 a 1956, con 28.000 casos⁷¹. Asimismo, la leche cruda fue el vehículo registrado de un brote de hepatitis que comprendía 14 casos en Escocia en 1943⁷². Lo que puede haber sido el primer brote asociado a crustáceos, que provocó más de 600 casos de hepatitis, ocurrió entre personas que comían ostras crudas en Suecia entre 1955 y 1956⁷³.

ill-effects of any compressing agent effused beneath the window of bone. On the other hand, nibbling operations are more difficult and more prolonged, yet there is complete freedom from any fear of inefficient relief of pressure. What I suggest, then, is preliminary resection of a flap of soft tissue and bone in the usual way, following this up by "pepper pot" trephining of the flap raised. This can be done effectively and quickly with a burr, perforations $\frac{3}{8}$ to $\frac{1}{2}$ inch in diameter being drilled at close intervals from the interior of the reflected plaque, right through the osseous tissue, but not including the soft parts. The bone flap will then be a sort of retaining cage of a basket-like, fenestrated, or pepper-pot texture. This should efficiently retain the brain without risk of hernia and yet with satisfactory relief from pressure. A diagram of the idea of the operation is given.

A THIRD OUTBREAK OF EPIDEMIC POLIOMYELITIS AT WEST KIRBY.

BY GEORGE JUBB, M.D. GLASG., D.P.H. OXON.,

MEDICAL OFFICER OF HEALTH, HARTLEPOOL; LATE ACTING MEDICAL OFFICER OF HEALTH, NORTH-WEST CHESHIRE COMBINED DISTRICTS.

THE occurrence of cases of poliomyelitis at West Kirby for the third year in succession appears to me to present so many interesting features that I have ventured to put these few notes together, as so far I am not aware that there have been similar occurrences in any other district.

The first case in 1914 occurred on August 10th in a house within a quarter of a mile of the solitary case of 1912, and within the same distance of the first case of 1913, and equidistant from many of the other cases of 1913. The father of the first patient is a medical practitioner who attended two of the cases of 1913, and although this may only be a coincidence, yet it opens up a field of speculation and emphasises the importance and necessity of precautionary methods being adopted by all who come in contact with, or have to deal with, acute poliomyelitis. The following are the numbers of children attacked in each outbreak: 1912, 1 case; 1913, 7 cases;¹ and 1914, 4 cases. Some brief clinical notes of the cases may be of interest.

CASE 1.—A male aged 3 years; West Kirby. The illness began on August 10th with violent headache but no sickness. He complained also of dryness of the mouth, and his breathing was very laboured and difficult. On the 13th twitching of his right arm and leg was noticed, and on the 15th paralysis was definitely established. The paralysis of his right arm and leg gradually disappeared, and three weeks later the boy was going about practically well. The affected muscles, however, remained flaccid, and the right knee-jerk absent. There were no other children in the house.

CASE 2.—A female aged 6 years; Hoylake. The illness began on Sept. 22nd with headache and sickness. On the next day there was complete paralysis of the child's arms and legs, and she was unable to lift her head. Death occurred two days later (on the 25th). There were two other children in the house, one younger than this case.

CASE 3.—A male aged 3 years; Hoylake. The illness began on Oct. 1st with feverishness and vomiting, but without headache. On the 4th paralysis of the left arm was noticed. There were two other children in the house, both older than this case.

CASE 4.—A male aged 6 years; Hoylake. The illness began on Oct. 2nd with feverishness, headache, and

vomiting. On the 6th there was paralysis of both arms and legs, but left arm paralysis was pronounced. There was one younger child in the house.

Distribution of Cases.

Case 1 occurred in West Kirby in the circumstances already mentioned. Case 2 occurred in Hoylake, about a mile away from Case 1. It may be mentioned here that Hoylake and West Kirby are practically one town and are model seaside resorts, clean, well drained, and well paved. Cases 3 and 4 were also in Hoylake, one on either side of Case 2 and about half a mile away from it. No other cases occurred in West Kirby and, as far as is known, no cases developed among visitors after leaving the district. No cases were reported from any of the adjoining districts.

Possible Sources of Infection.

Milk.—All the Hoylake cases had a common milk-supply. In outbreaks of poliomyelitis it is most unusual to find the milk-supply concerned. The apparent implication of the milk-supply here might, of course, be only another coincidence, but Case 3 was fully a mile away from Case 4, in a well-populated district, or rather town, and therefore the milk, with those engaged in its distribution, is bound to fall under suspicion.

Dust.—The two towns are very clean and free from ordinary dust. Sand from the shore is often blown about the towns by the wind, but this is more usual in winter than in summer.

Flies.—No excessive prevalence of flies was noticed. Against the theory of infection by means of flies it may be pointed out that poliomyelitis is increasing, while owing to the diminishing use of horses the chances of infection by biting flies are steadily decreasing.

Other insects.—In the facts elicited regarding the cases of 1912 and 1913 there appeared to me to be some foundation for suggesting that possibly the infective agent was at times conveyed by means of lice. In this outbreak it has not been possible to collect any evidence which would substantiate this theory. On the other hand, I may say that on several occasions I have been asked if it was possible for sand fleas to convey the infection of poliomyelitis, as most of the children affected had paid recent visits to the shore.

Carriers.—It is held by many that the disease is spread by carriers, and that the cases are only "unfortunate incidents in a widespread benign infection" (R. McLaren). It is quite possible that this is so either directly or indirectly. The occurrence of these four cases would appear to support the theory of carriers, and additional support is probably given by the implication of the milk-supply.

It is worthy of note also that these four cases occurred within a very limited area, and amongst a population of 14,000, and that the disease has taken two years to spread from West Kirby to Hoylake, a distance of only a mile, in, as already mentioned, a well-populated area.

In conclusion, I may remark that though it was not possible to trace any connexion between Case 1 in West Kirby and Case 2 in Hoylake, yet in the recurring outbreaks of three successive years it seems as if one could almost trace a case-to-case infection. I have little doubt that the many puzzles the epidemiology of poliomyelitis apparently presents will, much as in the case of malaria, be finally solved when the means of distribution of the infective agent is or are clearly established.

Hartlepool.

¹ THE LANCET, Nov. 15th, 1913, p. 1380.

Figura 9. Primer caso de enfermedad vírica asociada a alimentos.⁵⁹

Se han publicado varios estudios que proporcionan información sobre el peligro de los virus transmitidos por los alimentos⁷⁴⁻⁷⁶. Sin embargo, hoy en día, la importancia de las enfermedades víricas transmitidas por los alimentos y el agua en todo el mundo sigue siendo subestimada en gran parte debido a las dificultades para acumular datos precisos sobre la incidencia de brotes y los casos aislados pasan muchas veces desapercibidos al no recibir tratamiento médico. No obstante, aunque existe una clara evidencia que los datos pueden estar claramente subestimados, la incidencia de los virus entéricos asociada al consumo de alimentos ha aumentado en los últimos años en países desarrollados, y se han convertido en la principal causa de gastroenteritis, ocasionando casi el 60% de los episodios asociados a alimentos⁴⁸ (Tabla 2).

4.1. Situación en los Estados Unidos de América

Como se ha indicado anteriormente, los norovirus humanos, son el principal agente causal de gastroenteritis alimentarias en los EE.UU. con casi 5,5 millones de episodios anuales y más de 14.500 hospitalizaciones⁴⁸ (Tabla 2). En un estudio económico publicado, se ha estimado que el gasto anual asociado a los procesos asociados a norovirus humanos de origen alimentario en los EE.UU. supone 2.000 millones de dólares y 5.000 QALYs - es decir pérdida de 5.000 años con una perfecta salud⁴⁹.

Tabla 2. Número anual estimado de episodios de enfermedades de origen alimentario producidas por los 31 patógenos más relevantes en los EE.UU. (adaptado de Scallan et al., 2011⁴⁸)

Organismo	Asociado a alimentos	N. casos de origen alimentario
Bacterias	-	3.645.773 (2.321.468 - 5.581.290)
Parásitos	-	232.705 (161.923- 369.893)
Virus	-	5.509597 (3.273.623 - 8.355.586)
Astrovirus	<1 %	15.433 (5.569-26.643)
Virus de la hepatitis A	7 %	1.566 (702-3.024)
Norovirus	26 %	5.461.731 (3.277.078-8.309.480)
Rotavirus	<1 %	15.433 (5.569-26.643)
Sapovirus	<1 %	15.433 (5.569-26.643)
TOTAL	-	9.388.075 (6.641.440-12.745.709)

4.2. Situación en la Unión Europea.

Datos similares a los descritos para los EE.UU. pueden considerarse también en Europa (Figura 10). En el año 2015, año del que se disponen los últimos datos estadísticos, el 9,2% de los brotes alimentarios fueron asociados a virus entéricos⁷⁸. Sin embargo, este dato es más bajo que el obtenido en el año 2014, donde estos organismos representó la primera causa de brotes alimentarios con un 20,4% (1.072 brotes)⁷⁹. En 2015, la tasa de notificación de brotes de origen alimentario causados por virus entéricos fue de 0,09 brotes por 100.000 habitantes (Tabla 3), ligeramente superiores a las observadas para *Campylobacter*⁷⁸. Es de especial relevancia que, aunque el número de brotes no fue el más elevado en el año 2015, el número total de personas afectadas por infecciones gastrointestinales de origen vírico asociados a alimentos sí lo fue con 14.754, y sólo un agente causal, los norovirus, provocaron 13.436 casos. Los norovirus fueron también los agentes causales asociados con los brotes más grandes en términos de casos humanos totales involucrados y el número medio más alto de casos por brote (Tabla 3). Este agente estuvo involucrado en tres de las cinco combinaciones más relevantes (combinaciones de los agentes causales y los vehículos alimentarios) que causaron el mayor número de casos humanos en brotes con evidencia fuerte; brotes en combinación con agua del grifo, comidas tipo buffet y otros alimentos⁷⁸. Así, en Suiza, se notificaron 1.194 casos en un único brote, mientras que, tres brotes de norovirus causaron en la República Checa un total de 5.344 casos de enfermedad.

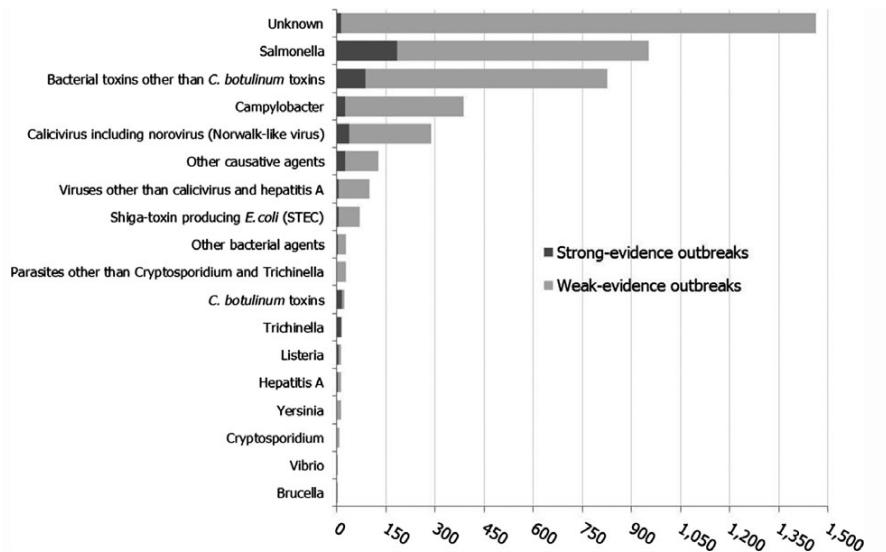


Figura 10. Distribución de brotes transmitidos por alimentos y agua, por agentes causantes en los Estados miembros de la UE, 2015⁷⁸

Tabla 3. Número de brotes transmitidos por los alimentos (incluidos los transmitidos por agua), casos humanos, hospitalizaciones y defunciones por agente causal en los Estados miembros de la UE, 2015.⁷⁸

Organismo	Brotes		Casos			
	N.	Ratio de notificación	N.	Media por brote	Hospitalización	Fallecimientos
Bacterias	1.470	0,32	9.382	6,4	1.968	8
Toxinas bact.	849	0,18	8.847	10,4	497	3
Parásitos	52	0,01	302	5,8	44	0
Virus	401	0,09	14.754	36,8	531	5
Calicivirus	289	0,07	13.536	46,8	352	1
V. hepatitis A	13	<0,01	78	6	49	1
Otros	99	0,02	1.140	11,5	130	3
TOTAL	4,362	0,95	45.874	10,5	3.892	17

Otros dos aspectos importantes estudiados en los brotes alimentarios en Europa es la asociación entre los agentes infecciosos casuales y los alimentos involucrados en los brotes (Figura 11), así como con los lugares donde se producen los brotes (Figura 12). En productos pequeños incluyendo moluscos, crustáceos y sus derivados, los norovirus estuvieron implicados en el 25% de los casos de brotes de fuerte evidencia, siendo sólo superados por la histamina (52,5%), y siendo muy superior a aquellos asociados a *Salmonella* (12,5%). En los brotes asociados con huevo predominó *Salmonella* (92,9%). Asimismo, en las hortalizas, frutas, cereales, brotes, hierbas y especias, los norovirus ocuparon el tercer lugar con una implicación en el 21,1% de los brotes en este tipo de alimentos.

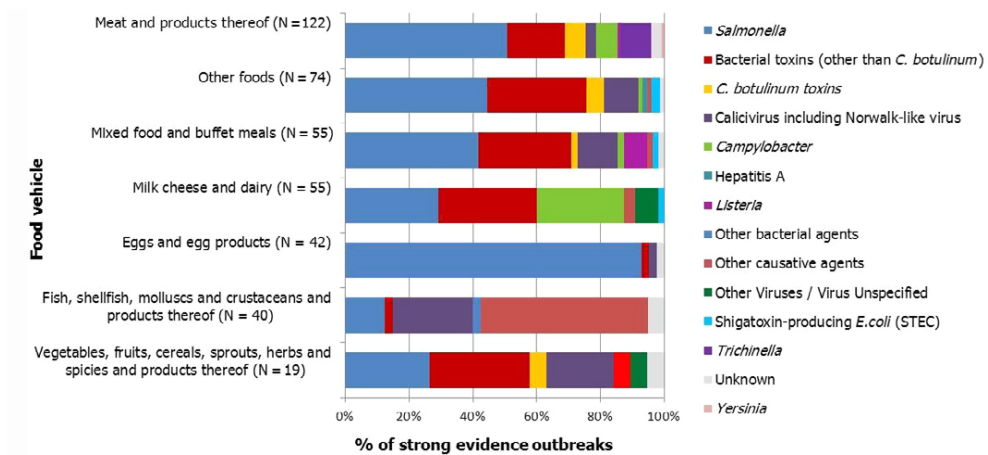


Figura 11. Distribución de frecuencias de los agentes causales asociados a brotes con fuerte evidencia de origen alimentario y de transmisión hídrica por vehículos alimentarios implicados reportados en los Estados miembros de la UE, 2015.⁷⁸

En cuanto a los lugares asociados a los brotes de origen alimentario e hídrico, los brotes producidos por norovirus estuvieron

más asociados con servicios de restauración colectiva que con el consumo en el hogar⁷⁸. En contraste, los brotes asociados a *Salmonella* fueron 4 veces más frecuentes en el hogar que fuera de éste.

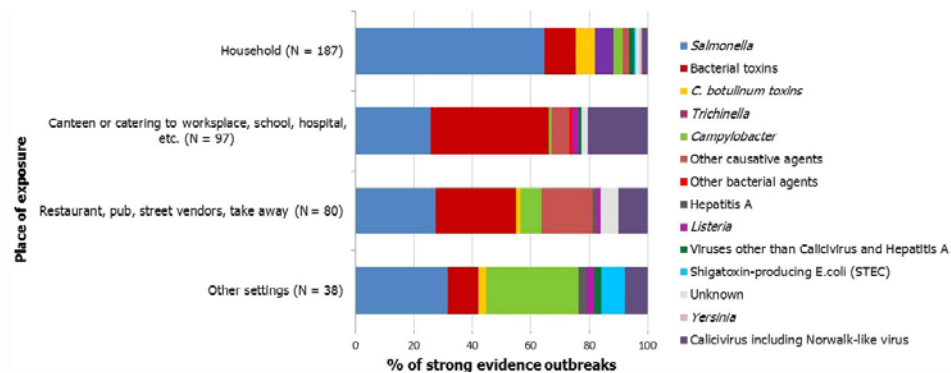


Figura 12. Distribución de frecuencias de los brotes con fuerte evidencia de origen alimentario y de transmisión hídrica reportados en los Estados miembros de la UE en diferentes lugares de exposición, por agente causal, 2015.⁷⁸

En más detalle, en relación con los **calicivirus**, en el año 2015, 15 estados miembros de la UE reportaron 285 brotes causados por este tipo de agentes, de los cuales todos fueron causados por norovirus, a excepción de cuatro brotes. Asimismo, los norovirus fueron los virus más comúnmente implicados en los brotes con fuerte evidencia (36 de 43 brotes con fuerte evidencia)⁷⁸. En 2015, la tasa global de notificación de norovirus en la UE fue de 0,07 brotes por 100.000 habitantes, similar a la observada en los 5 años anteriores. En general, los brotes por norovirus implicaron 12.591 casos, 349 hospitalizaciones y una muerte. Francia fue el país que informó el mayor número de brotes (22,4% de todos los brotes notificados por norovirus), seguido por Polonia (14,7%) y Letonia (13%). Francia y Hungría reportaron además el mayor número

de brotes con fuerte evidencia debido a norovirus (11 y 7 brotes, respectivamente). Además, Noruega informó de 13 brotes. En los 36 brotes con fuerte evidencia causados por norovirus, los «crustáceos, mariscos, moluscos y sus derivados» fueron el vehículo alimentario más implicado (27,8% de los brotes), seguido de «otros alimentos» (19,4% de los brotes) y «comidas variadas» (11,1%) y «comidas tipo buffet» (8,3%) (Figura 13).

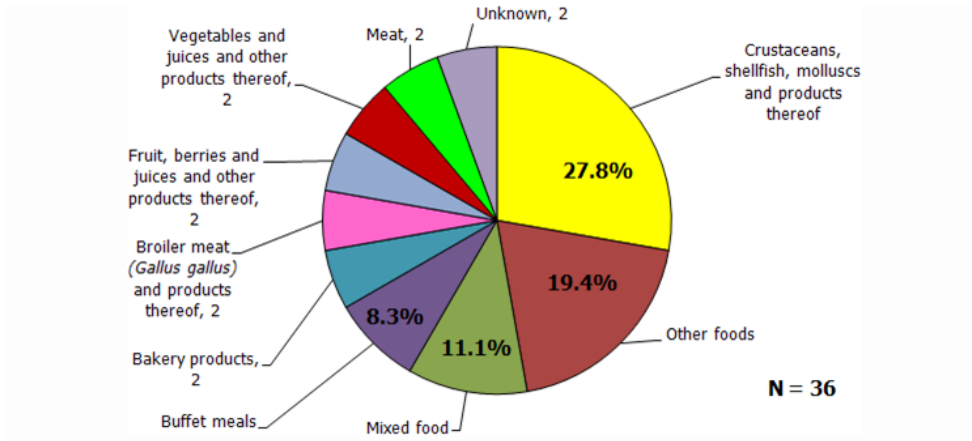


Figura 13. Distribución de vehículos alimentarios en brotes de fuerte evidencia causados por norovirus (excluidos los brotes de origen hídrico) en la UE, 2015. Se incluyen datos de 36 brotes: Croacia (3), Finlandia (6), Francia (11), Alemania (1), Hungría (7), Polonia (4), Suecia (2) y Reino Unido (2). Otros alimentos (N = 7): otros alimentos (5), Huevos y ovoproductos (1), Dulces y chocolate (1). Carne (N = 2): Carne y productos cárnicos (1) y Carne de cerdo y sus productos (1).⁷⁸

En cuanto al **virus de la hepatitis A**, se registraron un total de 13 brotes en cinco países (Finlandia, Alemania, Grecia, Hungría, Polonia) con 78 casos humanos, 49 hospitalizaciones y un fallecimiento (Tabla 3). Únicamente se pudo asociar el alimento implicado en un brote con evidencia débil (crustáceos, mariscos, moluscos y productos derivados).

Asimismo, los lugares asociados a los brotes fueron «restauración colectiva (3), hogar (3) y «múltiples lugares de exposición» (1). Los brotes causados por el virus de la hepatitis A tuvieron la mayor proporción de casos hospitalizados 62,8% junto con *Clostridium botulinum* (71,7%), y con la mayor proporción de casos mortales (1,3%) junto con *Listeria monocytogenes* (1,7%)⁷⁸.

Finalmente, para **otros virus entéricos** (incluyendo adenovirus, flavivirus y virus sin determinar) se notificaron un total de 98 brotes (5 con fuerte evidencia y 93 con evidencia débil) en nueve estados miembros de la UE. Los rotavirus fueron los virus más comúnmente notificados (en 45 de 98 brotes), representando el 79% de los casos (619 casos de 784). La mayor parte de ellos fueron notificados por Polonia (78,4%). Es importante subrayar que 46 brotes fueron causados por virus no especificados. Cuatro de los cinco brotes con fuerte evidencia relacionados con virus distintos de calicivirus y del de la hepatitis A fueron causados por flavivirus y asociados con el consumo de leche (leche cruda de cabra en tres de los brotes). Estos brotes se caracterizaron por la alta severidad de la enfermedad clínica con 13 hospitalizaciones y 2 muertes entre los 14 casos involucrados⁷⁸. El otro brote con fuerte evidencia fue causado por rotavirus y asociado con el consumo de «hortalizas y zumos y otros productos derivados». En cuanto a los 93 brotes con baja evidencia, sólo se obtuvo información sobre los vehículos alimentarios en 53: los principales vehículos identificados eran «otros alimentos» (15), «alimentos mixtos» (14),

«crustáceos, moluscos y moluscos» (8) y «pescado y productos de la pesca» (4)⁷⁸. Asimismo, los lugares de exposición más frecuentes fueron los hogares (31 brotes) seguido de servicios de restauración colectiva (8 brotes). Los tres factores contribuyentes más frecuentemente reportados fueron «manipuladores de alimentos infectados» en 7 brotes, «ingrediente contaminado sin procesar» en 3 brotes, «tratamiento térmico inadecuado» en 3 brotes⁷⁸.

A esta importancia numérica destacable hay que añadir otros dos factores importantes: la amplia variedad de alimentos que pueden transmitir este tipo de virus¹⁴, así como la dificultad de poder ser propagados en el laboratorio para su diagnóstico o estudio⁸⁰. Los principales alimentos involucrados en infecciones víricas transmitidas por alimentos son los moluscos bivalvos, las verduras que se consumen crudas, las frutas tipo baya y los alimentos preparados. La importancia de los virus entéricos en el campo de la seguridad alimentaria se pone de manifiesto por el interés mostrado por distintas organizaciones internacionales; así la comisión del Codex Alimentarius emitió un documento sobre la relevancia de los virus en alimentos y los aspectos que necesitan ser desarrollados; entre otros métodos rápidos de diagnóstico, estudios para establecer la correlación entre infectividad y detección molecular y estudios sobre la efectividad de distintos tratamientos de procesado de alimentos para la inactivación de virus entéricos⁸¹. En este sentido, la EFSA también ha publicado varias directrices sobre la relevancia y el control de virus en alimentos⁸²⁻⁸⁴; en

línea con las directrices sobre principios generales de higiene para el control de virus en alimentos elaboradas por la comisión del Codex Alimentarius⁸⁵, que subraya que el control de los riesgos en alimentos debe empezar durante la producción agrícola o animal y continuar durante toda la cadena alimentaria («*from farm to fork*»).

5. PRINCIPALES VIRUS ENTÉRICOS DE INTERÉS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA

5.1 Calicivirus: principales causas virales de gastroenteritis

La familia Caliciviridae se compone de cinco géneros: *Norovirus*, *Sapovirus*, *Lagovirus*, *Vesivirus* y *Nebovirus*⁸⁶. Los géneros *Norovirus* y *Sapovirus* contienen cepas de virus tanto de origen humano como animal, mientras que los tres últimos sólo infectan a animales^{87,88}. Los calicivirus recibieron su nombre por las depresiones superficiales en forma de copa (calix = una copa) que se observan en el microscopio electrónico (Figura 14). Los norovirus muestran una apariencia borrosa en la visualización por microscopía electrónica directa, mientras que los sapovirus tienen un aspecto morfológico más característico de los calicivirus (estructura en forma de estrella de David)⁸⁹.

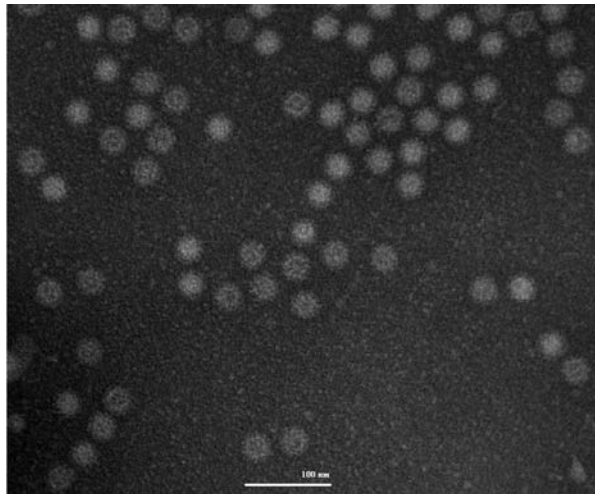


Figura 14. Imagen de microscopía electrónica de norovirus en una muestra fecal de un paciente con gastroenteritis, tomada en el Laboratorio de microscopía electrónica y diagnóstico de virus gastrointestinales, Instituto de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Liubliana (Eslovenia). Cortesía de Katarina Kovac.

Los norovirus y los sapovirus son los agentes humanos más importantes de diarrea en todo el mundo⁹⁰. Los norovirus son la principal causa de brotes de gastroenteritis aguda de origen alimentario y la causa más común de gastroenteritis infecciosa esporádica que afecta a personas de todas las edades^{90,91}. Sin embargo, los sapovirus se asocian principalmente con gastroenteritis aguda esporádica en niños pequeños⁹²⁻⁹⁴ y están menos involucrados que los norovirus en casos de gastroenteritis epidémica⁹⁵, aunque sí se han descrito algunos brotes⁹⁶⁻⁹⁸. La incidencia y relevancia de los calicivirus está claramente documentada en numerosas áreas geográficas en todo el mundo^{48,57,78}.

Norovirus humanos

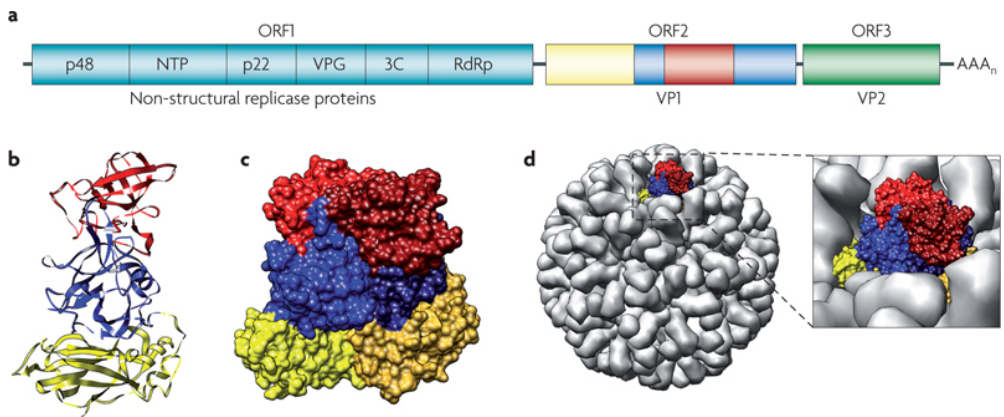
El agente prototipo del género *Norovirus*, el virus de Norwalk, fue descubierto por Kapikian y colaboradores⁹⁹ en el examen microscópico inmunoelectrónico de las heces de voluntarios inoculados con filtrados fecales procedentes de estudiantes afectados por un brote de gastroenteritis en una escuela de primaria en Norwalk, Ohio en 1969¹⁰⁰. El descubrimiento del virus de Norwalk proporcionó la primera evidencia de una etiología viral para la enfermedad diarreica humana.

Debido a la escasa disponibilidad de métodos diagnósticos de detección viral, la epidemiología de los norovirus se ha subestimado durante mucho tiempo. Hoy en día, los norovirus, antes conocidos como virus pequeños estructurados redondeados (SRSVs) y virus tipo Norwalk (NLV), se consideran como la causa principal de

gastroenteritis no bacteriana en todo el mundo y también los agentes virales más ampliamente reconocidos asociados con alimentos y agua⁸⁹. Se estima que cada año causan 64.000 episodios de diarrea que requieren hospitalización y 900.000 visitas clínicas de niños de países industrializados y hasta 200.000 muertes de niños menores de 5 años en países en desarrollo⁹¹.

Morfología y clasificación

Los norovirus son virus icosaédricos no envueltos con un diámetro de ~ 38 nm. El genoma viral es un ARN de cadena sencilla de sentido positivo de ~ 7,5 kb que contiene tres marcos de lectura abiertos (ORFs) que codifican proteínas tanto estructurales como no estructurales (Figura 15a). La cápside se compone de 180 copias de la proteína mayor de la cápside (VP1) organizada en 90 dímeros con una simetría icosaédrica $T = 3$ (T es el número de triangulación), utilizando dos tipos distintos de dímeros para formar la estructura de orden superior (Figura 15c,d). El monómero capsídico se compone de dos dominios distintos, el dominio de la cáscara (S) y el dominio sobresaliente (P), que están unidos por una bisagra flexible (Figura 15b). La proteína estructural menor (VP2) se incorpora en la estructura en un número de copias bajo¹⁰¹⁻¹⁰³.



Nature Reviews | Microbiology

Figura 15. Organización del genoma de los norovirus y estructura de la cápside. **A.** El genoma se compone de tres marcos de lectura abiertos (ORFs). ORF1 (~ 5 kb) se encuentra en los dos primeros tercios del genoma y codifica una poliproteína de ~ 200 kDa que se auto-procesa por una proteasa similar a 3C (3C) codificada viralmente para producir las proteínas de replicasa no estructurales que son esenciales para la replicación viral. Las proteínas resultantes son: p48, una proteína amino-terminal de función desconocida (~ 48 kDa); Nucleósido trifosfatasa (NTP), una proteína similar a 2C; P22, una proteína similar a 3A de 22 kDa; Proteína ligada al genoma viral (VPG), una proteína que está covalentemente unida al extremo 5' del genoma; y la ARN polimerasa dirigida por ARN (RdRp), una proteína similar a 3D. La ORF2 es de 1,8 kb de longitud y codifica la proteína principal de la cápside estructural de 57 kDa, la proteína viral 1 (VP1). VP1 se divide en dos dominios, el dominio de la cáscara (amarillo) y el dominio sobresaliente, que se divide más adelante en dos subdominios conocidos como P1 (azul) y P2 (rojo). ORF3 es de ~ 0,6 kb de longitud y codifica una proteína estructural básica menor de 22 kDa, VP2. **B.** Se muestra la estructura del monómero VP1, con dominios proteicos coloreados como para la Figura 15A. **C.** Dos monómeros de proteína de cápside forman el dímero A-B (indicado con el monómero A en tonos más claros y el monómero B en tonos más oscuros), lo que permite que el dominio P2 sobresalga de la partícula vírica. **D.** La partícula vírica se forma de 180 monómeros de la proteína de la cápside que se ensamblan a través de diferentes dímeros. El dímero A-B, mostrado en color, se extiende lejos de la cápside y proporciona la región de unión al receptor y los sitios de variación antigénica. En la partícula vírica, VP2 se incorpora en un número de copias bajo. Modelos estructurales por MacPyMOL (Delano Scientific LLC, Palo Alto, California, EE.UU.) Tomado de Donaldson et al., 2010¹⁰³.

Dado que actualmente no existen líneas de cultivo celular fiables para propagar norovirus humanos, ni modelos de animales de experimentación, se han desarrollado sistemas de expresión recombinantes que permiten la formación de partículas virales (VLP)¹⁰³⁻¹⁰⁵. Las VLPs (Figura 15d) son capas proteicas virales sin ácido nucleico y con propiedades morfológicas y antigénicas similares a los norovirus

nativos^{102,106}. Contienen determinantes inmunogénicos específicos de la cepa y del grupo específico¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ y se han utilizado para diversos tipos de estudios como la identificación de un receptor celular para los norovirus, o el estudio de la interacción entre los norovirus y la célula hospedadora¹⁰⁷⁻¹⁰⁸.

Los norovirus son genéticamente y antigénicamente muy diversos. Una nomenclatura propuesta recientemente basada en la diversidad de secuencias en la proteína VP1 total de la cápside los divide en cinco genogrupos (GI-GV)¹⁰⁹ con 33 grupos genéticos: 9 genotipos en GI; 19 en GII; 2 en GIII; 2 en GIV, y 1 en GV¹¹⁰. Por lo tanto, la detección de los norovirus puede ser difícil debido al gran número de genogrupos y genotipos; además, los métodos de detección actualmente disponibles no son suficientemente potentes y, por tanto, es muy probable que la prevalencia de variantes raras esté subestimada¹¹¹. Las cepas más relevantes asociadas a problemas gastrointestinales en humanos pertenecen a los genogrupos GI y GII y en menor medida a GIV^{90,109}. El GII.4 es el grupo más activo y contiene las cepas que han causado el 70-80% de los brotes de norovirus en todo el mundo¹⁰³.

Los norovirus se consideran generalmente específicos de especie, aunque se han encontrado cepas humanas en la carne de vacuno y en especies porcinas mediante RT-PCR¹¹². Asimismo, se ha observado que una cepa GII.4 de origen humano puede infectar a cerdos y terneros gnotobióticos¹¹³⁻¹¹⁴. Sin embargo, hasta la fecha, no se han identificado

infecciones con cepas animales en humanos¹¹⁰, pero, no obstante, la existencia de genogrupos y cepas con hospedadores animales aumenta la posibilidad de transmisión zoonótica¹¹². Asimismo, la vigilancia de las cepas circulantes en la población humana ha revelado la presencia de varios genotipos poco comunes, que pueden representar cepas zoonóticas, pero sin embargo la transmisión zoonótica no ha sido probada en ningún caso¹¹⁵.

Patogénesis, inmunología, epidemiología

Los norovirus infectan a todos los grupos de edad, con una sintomatología particularmente grave en niños pequeños, ancianos e inmunocomprometidos^{90,116}. La dosis infectiva es muy baja; se necesitan menos de 10 partículas de virus para la infección¹¹⁷ y se replican en el citoplasma de los enterocitos, donde el ARN de polaridad positiva actúa como ARNm¹¹⁸.

El periodo de incubación es de 10-51 h¹¹⁹⁻¹²¹, y los síntomas se caracterizan por un inicio agudo de náuseas, vómitos en proyectil, calambres abdominales, diarrea no sanguinolenta y mialgia⁹⁰. Los síntomas generalmente desaparecen en 2-3 días, pero pueden durar más tiempo (i.e. 4-6 días) en los pacientes afectados durante los brotes hospitalarios y en los niños menores de 11 años de edad^{90,121}.

Sólo después de la infección aparece inmunidad a corto plazo y específica de cepa. Algunas personas nunca desarrollan síntomas,

incluso después de un contacto directo^{89,123}. Usando VLPs se ha demostrado recientemente que los antígenos del grupo histo-sanguíneo humano (HBGAs) pueden actuar como receptores primarios de la infección por norovirus o potenciar la infectividad y/o la unión a un receptor celular común^{108,124}. Por lo tanto, la infección por norovirus depende de la presencia de receptores HBGA específicos en el intestino en el hospedador susceptible¹⁹. La combinación de la unión específica de la cepa y la expresión variable de los receptores HBGA puede explicar la susceptibilidad variable de hospedador observada en brotes y estudios con voluntarios^{90,123}.

Por lo general, los norovirus se transmiten a través de la vía fecal-oral, por contacto directo de persona a persona o por alimentos, agua y ambientes contaminados por contenido fecal¹²⁵. Los individuos sintomáticos y asintomáticos los eliminan en las heces hasta durante 3 semanas¹²⁶ o más tiempo y, por lo tanto, transmiten el virus incluso después de la desaparición de los síntomas clínicos¹²⁷⁻¹²⁸. Se puede producir propagación o contaminación secundaria, que puede producirse por vía aérea asociada a los vómitos en proyectil de individuos infectados¹²⁹⁻¹³⁰. Los brotes ocurren normalmente en entornos cerrados o semicerrados, como escuelas, hospitales, campamentos, casas de reposo, centros turísticos, prisiones, cruceros o restaurantes, donde el virus, una vez introducido, se propaga muy rápidamente⁸⁹. En el pasado la infección por norovirus se denominaba «*enfermedad de vómito de invierno*» ya que los brotes ocurrían con más

frecuencia en invierno. Sin embargo, hoy en día esta estacionalidad ya no es evidente ya que los brotes de norovirus se notifican a lo largo de todo el año⁸⁹.

El consumo de alimentos o agua contaminada por materia fecal o vómito¹²⁹⁻¹³¹ así como la exposición a superficies o fómites contaminados¹³²⁻¹³³ pueden considerarse también como fuentes de infección. La facilidad con la que los norovirus se transmiten y son diseminados se debe principalmente a que su dosis infecciosa es baja - menos de 10 partículas víricas son únicamente necesarias para la infección¹³⁴ -, su alta resistencia a la desinfección¹³⁵⁻¹³⁷ y la posible estabilidad y persistencia a largo plazo en el medio ambiente¹³².

La causa más común de los brotes transmitidos por alimentos asociados a norovirus es el consumo de mariscos, vegetales frescos y alimentos listos para el consumo contaminados por manipuladores de alimentos infectados, pero posiblemente asintomáticos¹³⁸⁻¹³⁹. La estabilidad a largo plazo y la persistencia de estos virus en las superficies contaminadas utilizadas en las áreas de preparación de alimentos también contribuyen sustancialmente a la transmisión de enfermedades^{112,138,140-145}. Por otra parte, también son resistentes a muchos métodos industriales de conservación de alimentos, y puede sobrevivir a la refrigeración, congelación, acidificación, reducción de la actividad del agua y a envases en atmósfera modificada⁴⁰.

Los norovirus también se han definido como un patógeno transmitido por el agua, y se han documentado numerosos brotes originados por la contaminación de agua potable¹⁴⁶⁻¹⁴⁹ o aguas recreativas¹⁵⁰⁻¹⁵¹ con aguas residuales. Esto puede ser consecuencia de su supuesta resistencia a los tratamientos empleados actualmente en la desinfección de aguas residuales¹⁵²⁻¹⁵⁵, además de su capacidad de supervivencia en entornos acuáticos¹⁵⁶⁻¹⁵⁸. Además, los crustáceos crecidos y cosechados en aguas contaminadas con aguas residuales pueden concentrar norovirus, y pueden ser eliminados inadecuadamente por los procedimientos estándar de depuración¹⁵⁹, teniendo como consecuencia brotes de gastroenteritis después de su consumo¹⁶⁰.

Sapovirus humanos

Los sapovirus, antes llamados virus de tipo Sapporo (SLV), causan infecciones en todos los grupos de edad y son cada vez más asociados como causa de gastroenteritis esporádica o a brotes en todo el mundo¹⁶¹⁻¹⁶³. Causan una diarrea y vómitos similares a los norovirus, generalmente más frecuentemente en niños pequeños que en adultos. Sin embargo, existe menor información en relación el período de incubación de los sapovirus o la duración de la excreción fecal.

Son virus icosaédricos, no envueltos con un diámetro de ~ 34 nm¹⁶⁴. El genoma viral es un ARN de cadena sencilla de ~ 7,5 kb, de sentido positivo. Basados en las secuencias completas del gen de la

cápside, los sapovirus humanos se han dividido en cuatro genogrupos (GI, GII, GIV y GV) y 16 genotipos; GI y GII cada uno en 7 genotipos, y GIV y GV cada uno en 1 genotipo¹⁶⁵. Otros genogrupos (GIII, GVI, GVII, GVIII, GIX y GX) incluyen cepas porcinas¹⁶⁶⁻¹⁶⁷. Curiosamente, el GVIII está genéticamente más estrechamente relacionado con los sapovirus humanos que con otros genogrupos de sapovirus porcinos¹⁶⁸⁻¹⁶⁹. Sin embargo, no se ha encontrado evidencia de transmisión zoonótica en cerdos¹⁷⁰.

No existen evidencias sólidas hasta ahora de la transmisión de sapovirus por alimentos y agua, pero estudios recientes muestran que pueden ser transmitidos por crustáceos, tal como se ha detectado en las heces de pacientes que habían consumido este tipo de alimentos¹⁷¹, en mariscos destinados al consumo humano¹⁷² o en ambos; heces de pacientes y mariscos¹⁷³⁻¹⁷⁴. También se ha detectado en aguas residuales y agua fluviales¹⁷⁵⁻¹⁷⁹. Estos datos indican que los sapovirus pueden transmitirse de persona a persona a través de la ruta fecal-oral y a través de alimentos y agua contaminados¹⁷⁹.

5.2 Virus de la hepatitis A: prevalente en los países en desarrollo

Morfología y clasificación

El virus de la hepatitis A es virus icosaédrico no envuelto con un diámetro de ~ 30 nm, que pertenece al género Hepatovirus de la familia Picornaviridae (Figura 16).

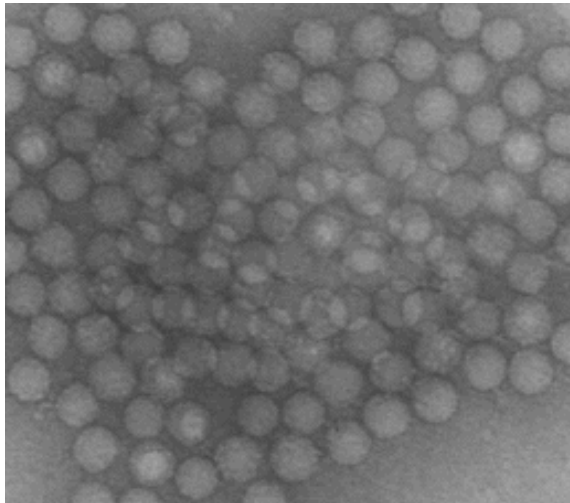


Figura 16. Imagen de microscopio electrónico del virus de la hepatitis A en muestra fecal de paciente con hepatitis, capturado en el Laboratorio de microscopía electrónica y diagnóstico de virus gastrointestinales, Instituto de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Liubliana (Eslovenia)

El genoma viral es un ARN de cadena sencilla de ~ 7,5 kb, de sentido positivo¹⁸⁰. El genoma posee diferentes regiones: las regiones no codificantes 5' y 3'; La región P1, que codifica las proteínas estructurales VP1, VP2, VP3 y una VP4 putativa; Y las regiones P2 y P3, que codifican proteínas no estructurales asociadas con la replicación. Se ha observado cierto grado de heterogeneidad de la secuencia de nucleótidos de la

región genómica P1 entre aislados del virus de la hepatitis A aislados en diferentes regiones del mundo¹⁸¹⁻¹⁸³. Sin embargo, esta variabilidad a nivel de nucleótidos no se refleja en un grado equivalente de variación en el nivel de aminoácidos¹⁸⁴⁻¹⁸⁵. El alto grado de conservación de las secuencias de aminoácidos de las proteínas de la cápside implica una baja diversidad antigénica. Por lo tanto, sólo se ha reconocido un solo serotipo del virus de la hepatitis A humano¹⁸⁴. Aunque sólo se ha descrito un serotipo, se pueden diferenciar varios genotipos basados en la unión putativa VP1/2A¹⁸⁶. Inicialmente se identificaron siete genotipos: los genotipos I, II, III y VII, asociados a infecciones humanas, y los genotipos IV, V y VI en simios. Sin embargo, publicaciones recientes han reclasificado el genotipo VII como un subgenotipo del genotipo II¹⁸⁷⁻¹⁸⁸. Los genotipos I y III son los genotipos más frecuentes aislados en humanos. El subgénero IA parece ser responsable de la mayoría de los casos de hepatitis A en todo el mundo, mientras que los virus del subgenotipo IB se han encontrado principalmente en la región mediterránea¹⁸⁹. Recientemente se ha propuesto un nuevo subgénero IC¹⁹⁰; este subgénero probablemente se deriva, por dinámica de cuasiespecies, del subgenotipo IA, más común en América del Sur.

Patogénesis, inmunología y epidemiología

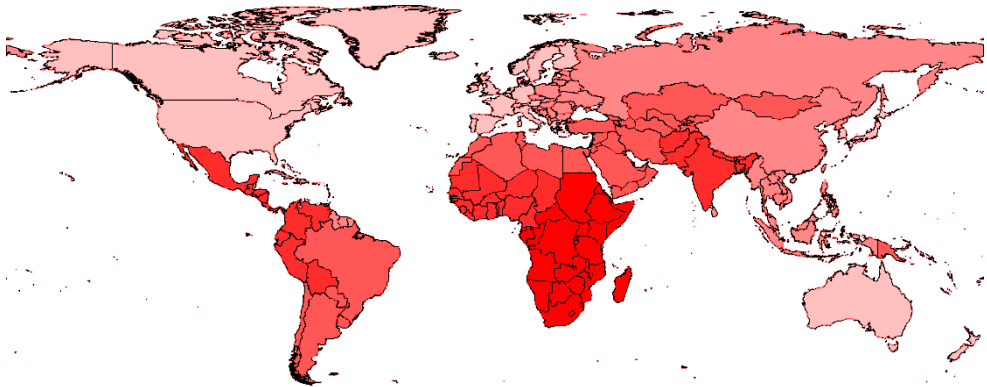
La hepatitis A es la principal causa de hepatitis viral en todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud, hay más de 1,4 millones de nuevos casos de hepatitis A en todo el mundo cada año¹⁹¹, y

el coste por caso individual de los problemas derivados de la hepatitis A se estima en los EE.UU. en más de 36.000 dólares¹⁹². La incidencia de la infección varía entre las distintas regiones del mundo, con la tasa más alta en los países en desarrollo donde el tratamiento de aguas residuales y las prácticas de higiene pueden ser deficientes (Figura 17). Por el contrario, el número de casos notificados de infección por el virus de la hepatitis A ha disminuido sustancialmente en países con programas eficaces de inmunización. Por ejemplo, en los EE. UU. el número de casos se ha reducido en un 92%, con una tasa de infección de 1 caso por cada 100.000 personas al año¹⁹³. Situaciones similares también se observan ahora en otros países, incluyendo Canadá, Australia, Japón y Nueva Zelanda¹⁹⁴.

El virus de la hepatitis A presenta un carácter muy endémico en los países en desarrollo con condiciones sanitarias e higiénicas deficientes (partes de África, Asia y América Central y del Sur). En estos países la infección suele ser adquirida durante la primera infancia como una infección asintomática o leve. Por lo tanto, las tasas de enfermedad notificadas en estas áreas son bajas y los brotes de enfermedad son raros. La incidencia de la enfermedad puede llegar a 150 por 100.000 por año. Por el contrario, el virus de la hepatitis A registra un carácter endémico intermedio en países en desarrollo, países con economías transitorias y en algunas regiones de países industrializados donde las condiciones sanitarias son variables (Europa meridional y oriental y algunas regiones de Oriente Medio). En estos países los niños escapan

de la infección durante la primera infancia. Sin embargo, estas mejores condiciones económicas y sanitarias pueden conducir a una mayor incidencia de la enfermedad debido a que las infecciones ocurren en grupos de edad avanzada y las tasas de hepatitis A clínicamente evidentes son más altas.

A



B

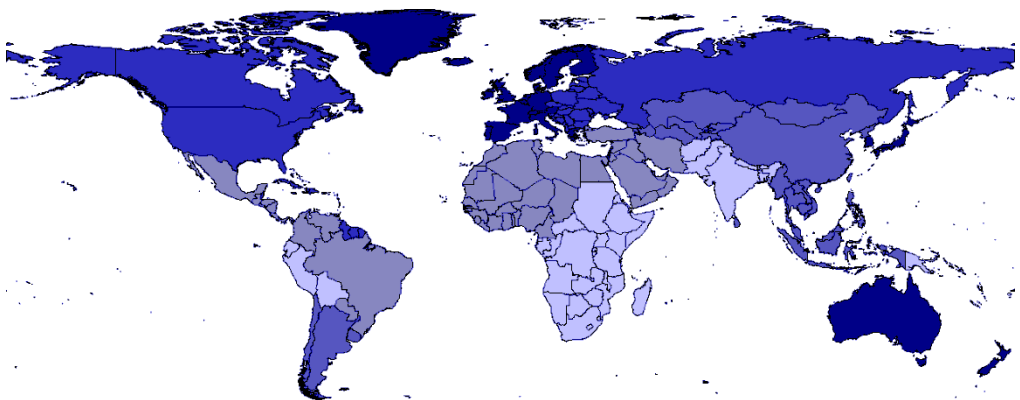


Figura 17. Estimación de la tasa de susceptibilidad de VHA en (A) niños y (B) adultos. Los tonos más oscuros indican una mayor proporción en riesgo. Tomado de OMS, 2010.

Finalmente, el virus de la hepatitis A presenta un carácter endémico bajo en países desarrollados (Norte y Europa Occidental, Japón, Australia, Nueva Zelanda, EE.UU. y Canadá) en las que existen buenas condiciones sanitarias e higiénicas, y presentan tasas de infección generalmente bajas. En países con tasas de infección del virus de la hepatitis A muy bajas, la enfermedad puede ocurrir entre grupos de riesgo específicos como los viajeros o hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (HSH).

La infección se produce principalmente por vía fecal-oral ya sea por contacto directo con una persona infectada con el virus de la hepatitis A o por ingestión de agua potable y alimentos contaminados, que representan el 2-7% de la carga total de la enfermedad. Sin embargo, esta cifra es probablemente una subestimación, ya que una proporción considerable de casos (~ 68%) siguen sin caracterizarse. La propagación secundaria del virus de la hepatitis A después de la introducción primaria, por ejemplo, por contaminación relacionada con los alimentos, es común y a menudo resulta en brotes más prolongados¹⁸⁴. Ocasionalmente, el virus de la hepatitis A se adquiere a través de transfusiones de sangre¹⁹⁵ o de contacto sexual (anal-oral). Los HSH son un grupo conocido en riesgo de hepatitis A; se han descrito brotes periódicos de hepatitis A en este colectivo desde principios de los noventa en varios países desarrollados¹⁹⁶, el último y de carácter internacional asociado al Festival del Orgullo Gay celebrado en verano del 2017 en Madrid (Ana Avellón, comunicación personal).

La hepatitis A es una enfermedad autolimitante que resulta en hepatitis fulminante y muerte en sólo una pequeña proporción de pacientes. El período de incubación promedio oscila entre 15-50 días, con una dosis infecciosa estimada de 10-100 partículas virales, y la enfermedad clínica por lo general no dura más de 2 meses¹⁹⁷. Los individuos pueden excretar un alto número de partículas víricas (10⁶-10⁸ partículas/g de heces) durante la infección, pudiendo comenzar en las últimas 2 semanas del período de incubación y en algunas personas puede continuar hasta 5 meses después de la infección¹⁸⁴. Los síntomas se desarrollan gradualmente e incluyen pérdida de apetito, fiebre, dolor de cabeza, náuseas y vómitos, seguido de ictericia 1-2 semanas después, sin enfermedad crónica asociada. La infección por el virus de la hepatitis A induce inmunidad durante toda la vida¹⁸⁴. Mientras que en los niños pequeños la enfermedad asintomática y leve es común, en los adolescentes y en la edad adulta la infección suele cursar con síntomas, a menudo con ictericia aguda¹⁸⁰. La muerte puede sobrevenir, particularmente, en los ancianos (2,1%). La tasa de mortalidad es inferior al 0,1%, aunque los brotes recientes tienden a ser más graves. Por ejemplo, el brote en 2003 asociado con la ingestión de cebollas verdes contaminadas causó tres muertes entre 601 casos¹⁹⁸. La infección por el virus de la hepatitis A se ha vuelto mucho menos común en los países desarrollados debido a las medidas de higiene en aumento lo que conlleva a poblaciones con una gran mayoría de personas que no son inmunes. En consecuencia, los adultos proporcionalmente más

susceptibles se infectan cuando se producen brotes y, por lo tanto, se observan síntomas clínicos más graves¹⁹⁹.

El virus de la hepatitis A puede contaminar el suelo, los cultivos agrícolas y los cursos de agua naturales mediante la descarga de aguas residuales contaminadas²⁰⁰⁻²⁰¹ y puede sobrevivir allí durante largos periodos de tiempo¹⁰. En consecuencia, los alimentos²⁰² y el agua potable²⁰³⁻²⁰⁸ se consideran los principales vehículos de transmisión de este virus a los seres humanos. El virus de la hepatitis A es capaz de sobrevivir en distintos tipos de ambientes, especialmente en el agua y en el suelo y en diferentes tipos de alimentos¹⁰. El agua se considera la fuente más importante ya que puede sobrevivir durante largos periodos. Por ejemplo, el virus puede sobrevivir hasta 60 días en agua del grifo²⁰⁹, durante seis semanas en agua de río²¹⁰, durante ocho semanas en aguas subterráneas²¹¹ e incluso hasta 30 semanas en agua de mar²¹². El virus de la hepatitis A también es capaz de sobrevivir en varios tipos de suelo y seguir siendo infeccioso después de 12 semanas²¹¹.

Los brotes relacionados con alimentos se asocian principalmente a tres categorías de alimentos: los moluscos bivalvos, vegetales y bayas, y alimentos listos para el consumo. Los moluscos bivalvos son animales filtradores que ingieren y distribuyen grandes cantidades de agua para tamizar y consumir pequeñas partículas de alimento. Como parte de este proceso, pueden acumular el virus de la hepatitis A si el agua ha

sido contaminada con aguas residuales humanas. Los mariscos también están en riesgo porque a menudo se comen crudos, como las ostras; mal cocidos, como la mayoría de los otros moluscos; o al vapor durante sólo unos minutos. Las bayas y vegetales (productos frescos) pueden estar contaminados por agua de riego o por individuos infectados por virus (por ejemplo, los trabajadores estacionales que recogen bayas)²¹³. Un ejemplo ilustrativo es el brote asociado con el consumo de cebollas verdes que se originó en dos explotaciones agrícolas en México^{203,214-216}. Por otro lado, las comidas listas para el consumo pueden contaminarse durante la preparación por contacto con las manos y superficies contaminadas por contenido fecal. Se han notificado varios brotes asociados con manipuladores de alimentos inmunoglobulina M positivos que contaminaron uno o más alimentos; donuts²¹⁷, *deli food*²¹⁸ o carne cruda²¹⁹.

Finalmente, a parte de los alimentos mencionados anteriormente, los brotes recientes del virus de la hepatitis A asociados con tomates deshidratados²²⁰ o la presencia de ARN de virus de la hepatitis A en dátiles²²¹ ponen de relieve la importancia de considerar otros alimentos durante las investigaciones epidemiológicas de brotes. Además, este tipo de brotes están asociados a alimentos que se consumen sin tratar importados de países endémicos del virus de la hepatitis A.

5.3 Rotavirus: patógenos de origen hídrico que afectan principalmente a la infancia

Los virus del género *Rotavirus* pertenecen a la familia Reoviridae, y su nombre deriva de su forma en forma de rueda (*rota* en latín) (Figura 18).

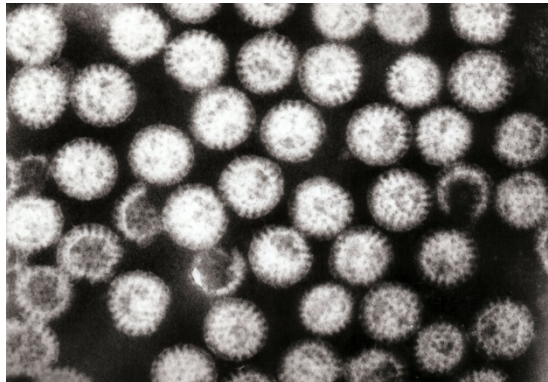


Figura 18. Imagen de microscopio electrónico de rotavirus de una muestra fecal de un niño con gastroenteritis. Imagen tomada de Wikipedia.

El descubrimiento de los rotavirus a principios de los años setenta representó un gran avance en la comprensión de la etiología de la gastroenteritis aguda infecciosa²²². Pronto se hizo evidente que estos agentes representaban un patógeno entérico de importancia primordial, particularmente en la infancia²²³⁻²². Los rotavirus siguen siendo actualmente el principal agente etiológico de la gastroenteritis aguda en la infancia en todo el mundo, asociado con más muertes atribuidas a diarrea que cualquier otro organismo viral, bacteriano o parásito²²⁸. Asimismo, también es cada vez más reconocido como una causa de diarrea infecciosa en adultos²²⁹.

Recientemente, se ha descrito una evidencia creciente de la transmisión zoonótica de los rotavirus animales a seres humanos y de la adaptación al hospedador que implica mecanismos de reordenamiento durante la infección dual. Esto ha reforzado la posible amenaza de nuevas cepas de rotavirus originadas de animales domésticos y salvajes²³⁰. La propagación de rotavirus animales en el medio ambiente y la consiguiente contaminación de alimentos crudos puede favorecer la introducción de cepas de rotavirus raras en las poblaciones humanas, y consecuentemente podría reducir la eficacia de las vacunas actuales.

Morfología y clasificación

Los rotavirus son virus icosaédricos no envueltos de ~ 70 nm con una estructura de triple cápside (Figura 20) y un genoma de ARN de doble cadena de ~ 19 kb segmentado en 11 segmentos independientes²³¹ (Figuras 19 y 21). El rango de tamaño de los segmentos oscila entre los 667 y los 3,302 bp. Cada segmento es monocistrónico excepto el segmento 11 que es más corto y que contiene dos marcos de lectura abiertos funcionales que codifican las proteínas no estructurales NSP5 y NSP6. Además de las seis proteínas virales (VP), el genoma del rotavirus también codifica seis proteínas no estructurales (NSP1-6), implicadas en la transcripción de ARN o en la maduración del virus de la progenie.

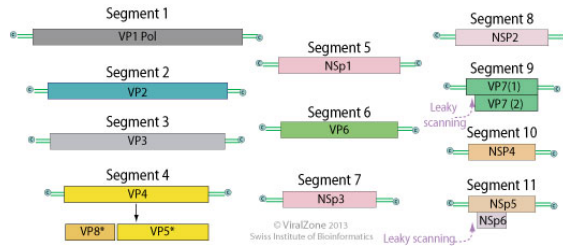


Figura 19. Estructura del genoma de los rotavirus. El genoma consta de 11 segmentos independientes. El rango de tamaño de los segmentos oscila entre los 667 y los 3,302 bp.

La cubierta más externa de los rotavirus comprende dos proteínas, VP7 y VP4, que contienen ambos epítomos reconocidos por anticuerpos neutralizantes (Figuras 20 y 21). La proteína glicosilada VP7 forma una capa continua de trímeros dispuestos en una red T=13 atravesada por 60 proyecciones en forma de picos de la proteína sensible a la tripsina VP4. VP7 se estabiliza en el virión de los rotavirus por la presencia de iones de Ca^{2+} , representa el antígeno de neutralización principal, y se ha reconocido inicialmente como la única proteína que define el serotipo del virus²³¹. VP4 es la proteína de unión viral²³², y es activada por la tripsina pancreática mediante una escisión que da dos fragmentos, VP8* y VP5*, resultando en una mayor infectividad²³³.

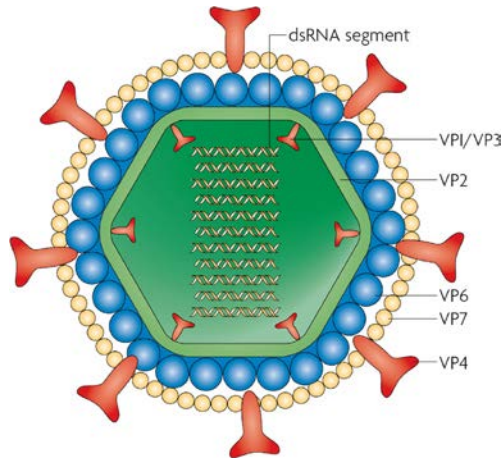


Figura 20. Diagrama esquemático del virión de los rotavirus: el virión consta de una capa de la proteína VP2 interna que rodea los segmentos de ARN y varias moléculas de proteínas VP1 y VP3, una cápside media de proteína VP6 y una capa externa que contiene puntos de proteína VP4 incrustados en una cápside VP7 (Adaptado de Angel et al.²³⁴).

Durante el ensamblaje viral, la VP4 no segregada se incorpora en los viriones como un trímero, pero tras la escisión de tripsina experimenta una modificación notable, y la espiga viral activada por tripsina exhibe dos dominios de unión VP8* tipo lectina en su punta, soportados por tres tallos de VP5*. El tercer VP8* se pierde durante este proceso de modificación conformacional²³⁵. Las puntas VP4 sobresalen a través de la capa VP7, lo que contribuye a su anclaje a la cubierta interna del rotavirus, que también sigue una simetría T=13²³⁶ y está constituida únicamente de la proteína VP6, que se reconoce como El «antígeno grupal» de los Rotavirus²³⁷.

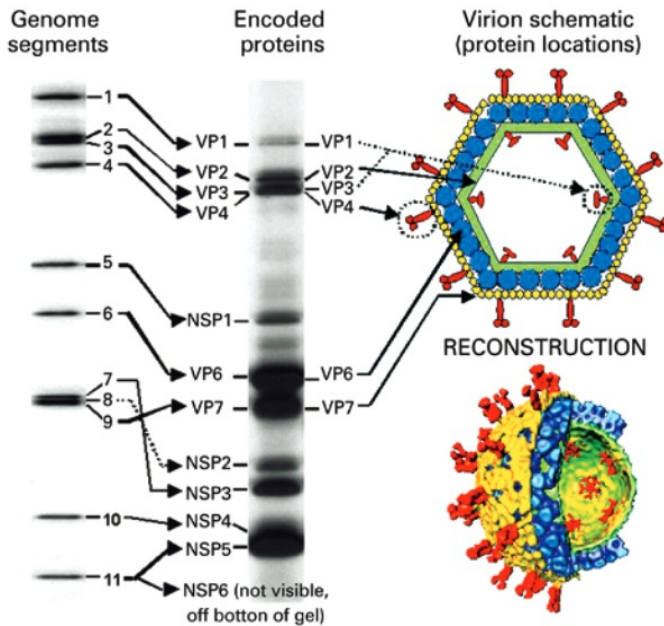


Figura 21. Segmentos codificantes del genoma de los rotavirus, ubicación de las proteínas y la estructura de la partícula vírica. El genoma y las proteínas codificadas de la cepa RV SA11 se separaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida. Las flechas indican el segmento del genoma que codifica cada proteína. El esquema muestra las ubicaciones de las proteínas estructurales en una cápside de capa triple. Las flechas indican la localización de las proteínas estructurales en el virión maduro. Los picos externos rojos representan VP4; La capa amarilla de la cápside externa representa VP7. La capa media de la cápside de VP6 es azul. El verde representa la cápside interna de VP2 con los complejos de replicación (VP1 y VP3) mostrados en rojo. NSP = Proteína no estructural; VP = proteína del Virión. Figura adaptada de Farming, 2007²³⁸.

La extracción de VP7 y VP4 tiene lugar con la disminución de la concentración del ión Ca^{2+} , ya que se produce fisiológicamente después de la entrada del virus en las células intestinales susceptibles por un proceso endocítico²³⁹. La partícula de doble capa resultante (DLP) se libera en el citosol y es transcripcionalmente activa, iniciando posteriormente la síntesis y extrusión de ARNm transcritos de cada uno de los 11 segmentos del genoma²⁴⁰⁻²⁴¹. La ARN-polimerasa VP1 dependiente de ARN viral y la enzima de capsulación VP3 son también

constituyentes estructurales del virión completo, y están presentes en el «corazón» de la estructura de los rotavirus, que está constituido de 12 decámeros de VP2 delineando el espacio interior donde se encuentran los 11 segmentos de ARN bicatenario que conforma el genoma de los rotavirus.

Las diferencias en las propiedades antigénicas, las secuencias de genes y el patrón del genoma sirven como base para una clasificación exhaustiva de los rotavirus; se distinguen serogrupos (grupos), subgrupos, serotipos y genotipos y electroferotipos^{231,242}. La proteína VP6, es el antígeno específico del grupo y del subgrupo. Hay al menos 8 grupos (designados de A a H), 4 de los cuales (grupos A, B, C y H) pueden afectar a los seres humanos.

El grupo A contiene con diferencia las cepas virales patógenas más importantes para los seres humanos y muchas otras especies animales. Los seres humanos también se pueden infectar por rotavirus del grupo B y C, implicados en grandes brotes de origen hídrico en Asia y causan casos de gastroenteritis esporádica o epidémica en niños y adultos^{243,244}. Sin embargo, la incidencia real de gastroenteritis por rotavirus en todo el mundo está asociada a los rotavirus del grupo A. Los miembros de este grupo son los responsables de más del 90% de todas las infecciones en los seres humanos^{231,242} y representan la principal causa de mortalidad infantil asociada a la diarrea en todo el mundo^{245,246}; se calcula que entre 475.000 y 580.000 niños de todo el mundo mueren por

infecciones por rotavirus cada año²⁴⁷. Los rotavirus del grupo A también están muy extendidos en especies de animales salvajes y domésticas, y se ha sugerido que la transmisión zoonótica desempeña un papel importante en la introducción de nuevas cepas en la población humana^{248,249}. Dentro de los rotavirus del grupo A, se distinguen 4 subgrupos (SGI, SGII, SGIII y SG nonI-nonII) basándose en patrones de reactividad con 2 anticuerpos monoclonales específicos de subgrupos (MAb) dirigidos a VP6²⁵⁰⁻²⁵³.

Las divisiones entre genotipos se determinan por los 2 antígenos de la cápside exterior, VP7 y VP4, y los rotavirus se clasifican de acuerdo con sus antígenos VP7 y VP4 en tipos G y P. El antígeno VP7 determina los serotipos/genotipos G (glicoproteína) y el antígeno VP4 determina los serotipos/genotipos P (sensibles a la proteasa). El uso de los términos serotipo y genotipo depende de si los métodos de detección empleados se basan en antígenos (MAb-ELISA y ensayo de neutralización cruzada) o métodos de detección basados en ácidos nucleicos (secuenciación de nucleótidos, RT-PCR o hibridación de sondas de oligonucleótidos)^{231,242}.

Hasta la fecha, los rotavirus del grupo A de humanos y animales se han clasificado en, por lo menos, 27 G y 37 P de genotipos basados en diferencias en sus secuencias de genes VP7 y VP4, respectivamente^{231,242,254-255}. Actualmente, sólo se conocen 12 G y 15 P asociados a los genotipos que infectan a los seres humanos.^{231,242,256}

Patogénesis, inmunología y epidemiología

El rotavirus es un patógeno entérico típico con una transmisión fecal-oral, induciendo síntomas que se relacionan principalmente con la replicación viral en el tracto intestinal de los hospedadores susceptibles. Los síntomas asociados con la infección por rotavirus, tanto en zonas en vías de desarrollo como en las desarrolladas, suelen estar asociados con una tríada de vómitos, diarrea y fiebre^{257,258}. Se pueden observar también otros síntomas clínicos, como irritabilidad, letargo, eritema faríngeo, rinitis y ganglios linfáticos cervicales palpables²⁵⁹. El período de incubación de las infecciones por rotavirus en niños pequeños es de 24 a 78 horas después de la infección, mientras que en los adultos es entre 1 y 4 días²⁶⁰. Generalmente la infección por rotavirus dura de 3 a 7 días, sin embargo, los casos más severos pueden durar hasta 14 días^{242,258}.

El grupo de mayor riesgo de gastroenteritis por rotavirus que requiere atención médica es el de bebés de 6 a 24 meses²⁶¹, aunque la enfermedad no es necesariamente más grave a esta edad que en niños más mayores. Las infecciones producen una gama de respuestas en los niños que varía desde una infección subclínica o una diarrea leve y acuosa de duración limitada a diarrea severa con vómito y fiebre que puede resultar en deshidratación con shock, desequilibrio electrolítico y muerte^{242,250,262}. La infección en lactantes y niños pequeños puede provocar deshidratación severa (10-20 evacuaciones diarias),

desequilibrio electrolítico y acidosis metabólica²⁴². Asimismo, la infección puede durar más tiempo entre niños inmunocomprometidos debido a ciertos trastornos de inmunodeficiencia congénita^{242,258,263}.

A nivel mundial, el número anual estimado de casos de diarrea por rotavirus es de aproximadamente 110 millones, de los cuales 2 millones requieren hospitalización. Aunque con una reducción en la mortalidad, la carga de rotavirus también es alta en los países industrializados, así por ejemplo se contabilizaban hasta 410.000 visitas médicas, 70.000 hospitalizaciones y 272.000 visitas a urgencias por rotavirus en los EE.UU. antes de la implantación de la vacunación masiva introducida en 2006, lo que suponía un gasto asociado para la sociedad de al menos 1 mil millones de dólares anuales^{264,265}.

La inmunidad, desarrollada después de la infección por rotavirus, no proporciona una protección completa contra futuras infecciones. Existen diferencias considerables entre los rotavirus pertenecientes a grupos distintos, no sólo en VP6 sino también en todas las demás secuencias de proteínas y segmentos genómicos. Por estas razones, no existe una respuesta inmune reactiva cruzada entre los grupos de rotavirus. Recientemente, la vacuna para uso humano contra rotavirus fue aprobada para la distribución comercial global⁸⁹ lo que ha supuesto una reducción en la incidencia de procesos asociados con rotavirus en los países donde se ha incluido dentro del programa vacunal a niños. Sin embargo, asociado a esa falta de respuesta inmune reactiva cruzada

entre los grupos de rotavirus, la introducción de la vacunación contra rotavirus sólo protege frente a los genotipos incluidos en la misma –los más prevalentes a nivel mundial–, y puede conducir a la aparición de nuevos genotipos de rotavirus o a la reaparición de cepas más viejas, en particular a partir de reservorios animales, y estas cepas podrían desplazar a las que predominan actualmente^{248,266-268}.

Los rotavirus persisten de forma similar en aguas dulces contaminadas y no contaminadas²⁶⁹ e incluso cuando se someten a exposición a la luz, que puede afectar seriamente la estabilidad y viabilidad de otros virus entéricos de ARN, como por ejemplo los astrovirus²⁷⁰⁻²⁷¹. Por tanto, la transmisión ambiental es frecuente, principalmente a través de crustáceos que crecen en aguas contaminadas o por agua potable contaminada²⁷²⁻²⁷⁵. La inactivación de la infectividad viral de los rotavirus en diferentes tipos de aguas ha sido consistentemente correlacionada con temperaturas más altas²⁷⁶. Asimismo, los rotavirus han sido detectados recientemente en fresas sospechándose del agua de riego como el origen de la contaminación²⁷⁷. También, los rotavirus se han relacionado con algunos brotes asociados a alimentos y agua^{271,278,279}.

5.4 Adenovirus: algunos serotipos causan gastroenteritis en niños

Los adenovirus son miembros de la familia Adenoviridae, la cual contiene cinco géneros: *Mastadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Atadenovirus*, *Siadenovirus* e *Ichtadenovirus*. Los virus de esta familia infectan a un amplio espectro de vertebrados^{86,280}. Los adenovirus fueron aislados por primera vez del tejido adenoide humano por Rowe et al.²⁸¹ mientras buscaba la causa del resfriado común y más tarde fue nombrado por el tejido de origen²⁸². Desde entonces también se han identificado cepas bovinas, ovinas, murinas, caninas, equinas, porcinas y caprinas específicas²⁸³. Se sabe que los adenovirus humanos son el segundo patógeno viral más importante de la gastroenteritis infantil, después de los rotavirus²⁸⁴. Asimismo, varias características les hacen inherentemente útiles como vectores oncolíticos, vacunales o de terapia génica²⁸³.

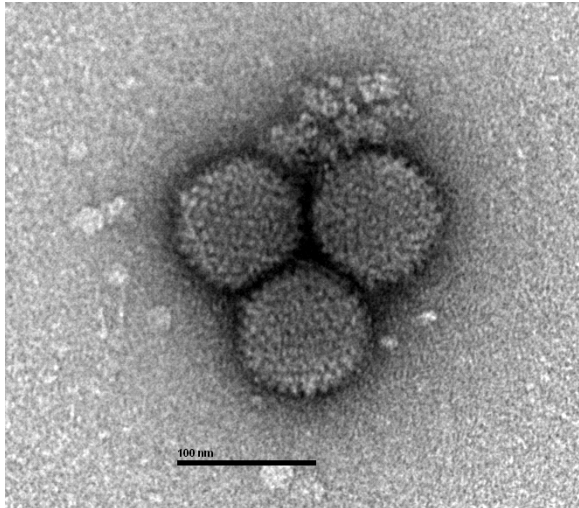


Figura 22. Imagen de microscopio electrónico de Adenovirus Humano tipo 2, capturado en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Universidad de León por Katarina Kovac.

Morfología y clasificación

Los adenovirus son virus icosaédricos no envueltos con un diámetro de ~ 90 nm (Figura 22). El genoma viral es un ADN bicatenario de sentido positivo de ~ 38 kb²⁸³. Los extremos de cada molécula de ADN están compuestos de repeticiones terminales invertidas (ITRs), que son importantes durante la replicación del genoma²⁸⁴. El mapa del genoma contiene 100 unidades (Figura 23). Generalmente se divide en regiones que codifican los genes tempranos (E), E1A, E1B, E2A, E2B, E3 y E4, los genes tempranos retardados, IX y IVa2, y los genes tardíos (L), L1-L5. Otras unidades de transcripción menores están presentes en el genoma viral²⁸⁵. Dos genes codifican ARNs I y II (ARNs VAI y VAII asociados a virus) y actúan en la inhibición de la síntesis de proteínas hospedadoras en células infectadas. Los genes tempranos, expresados poco después de que el virus entra en las células, codifican las proteínas que participan principalmente en la regulación de la replicación y transcripción del ADN viral, mientras que los genes tardíos, usualmente activos después de la replicación del ADN viral, codifican las proteínas estructurales de la partícula vírica²⁸⁶.

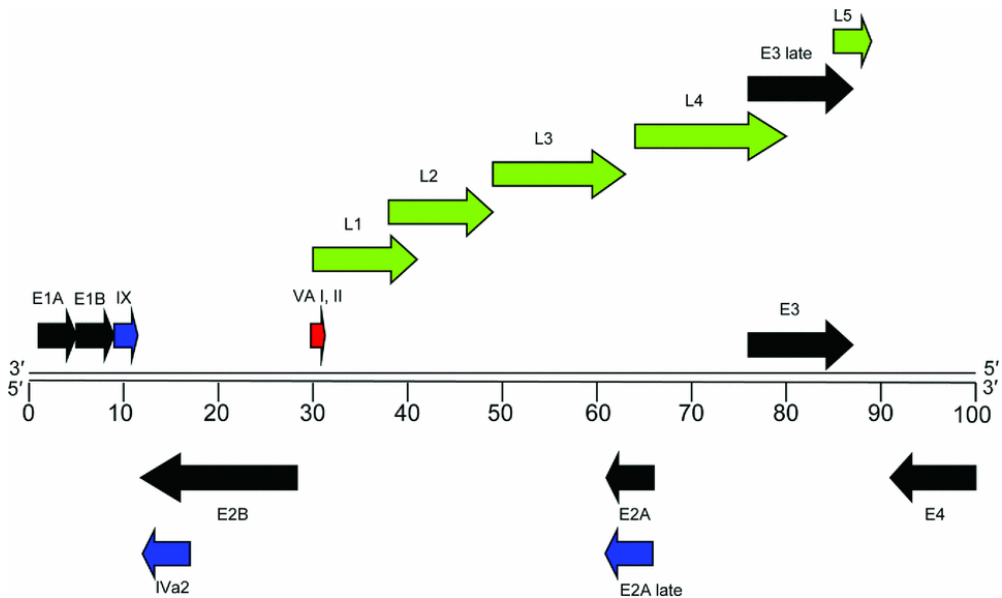


Figura 23. Organización del genoma de los adenovirus. La cadena de lectura hacia la derecha codifica las E1A, E1B, IX, las principales proteínas tardías, VA ARN y unidades E3. La hebra de lectura hacia la izquierda contiene los genes E4, E2A, E2B y IVa2. Las flechas negras indican las regiones que codifican proteínas tempranas, mientras que las flechas azules destacan las flechas intermedias y verdes que indican las unidades de transcripción tardía. Los VA-RNA I y II se muestran mediante la flecha roja. Adaptado de Hall et al., 2010²⁸⁶

La partícula vírica de los adenovirus está compuesta por 13 proteínas estructurales y contiene 252 capsómeros (Figura 24). Doscientos cuarenta capsómeros forman el componente estructural principal, la proteína hexónica trimérica (polipéptido II), que forma las facetas de la cápside. Doce capsómeros son pentonas²⁸⁴, cada uno de los cuales consiste en un pentámero de base de pentona (polipéptido III), con un papel importante en la estabilización de la cápside. Los pentonas se encuentran en cada uno de los 12 vértices²⁸⁶. A partir de la base de pentona se proyecta una proteína de fibra trimérica (polipéptido IV). Los polipéptidos IIIa, VI, VIII y IX son los componentes secundarios de

la cubierta externa de la cápside^{284,287}. Estos polipéptidos actúan como «proteínas de cemento» puente entre las grandes proteínas²⁸⁸. El corazón de la partícula vírica contiene otros seis componentes estructurales. Cinco de ellos, V, VII, X (también denominado Mu), IVa2 y la proteína terminal (TP), están estrechamente asociados con el ADN del virus ²⁸⁴. El sexto, una proteasa codificada por virus, escinde los precursores a varias proteínas de la cápside (IIIa, VI, VII, VIII, X y TP) y es necesario para el ensamblaje de partículas virales infecciosas^{284,286}.

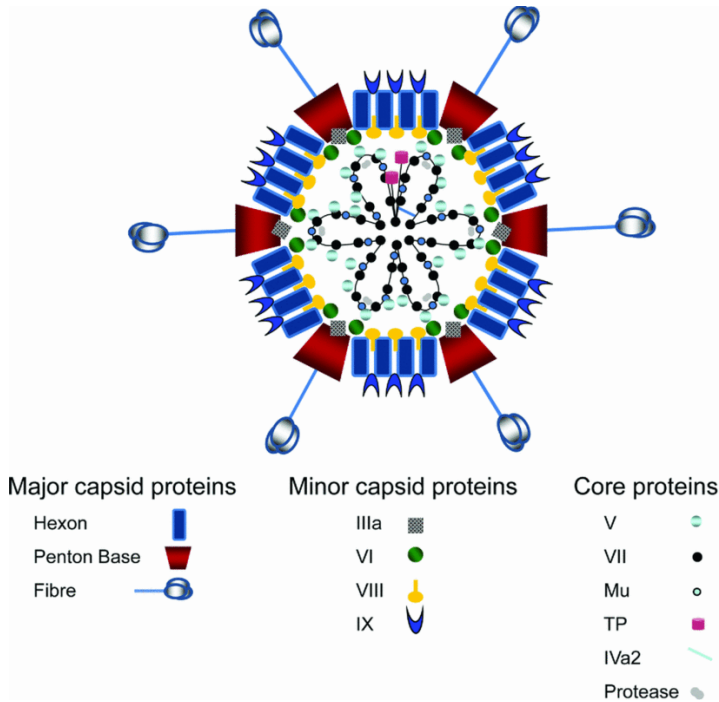


Figura 24. Proteínas estructurales asociadas con la cápside de los adenovirus. Una representación esquemática de las 13 proteínas estructurales asociadas con la cápside. Las localizaciones de las proteínas individuales se derivan de estudios de microscopía electrónica y cristalografía. Los hexones, la base y la fibra del penton constituyen las principales proteínas de la cápside. Las proteínas menores de la cápside incluyen a IIIa, VI, VIII y IX. El genoma ADN bicatenario se encuentra en asociación con las proteínas V, VII, Mu, TP, IVa2 y la proteasa viral. Adaptado de Hall et al. ²⁸⁶.

Los al menos 55 serotipos de adenovirus humanos se clasifican actualmente en siete especies (A-G) basadas en la serotipificación y el análisis filogenético (Tabla 4). Los serotipos 40 y 41, incluidos en el Grupo F, son las principales causas de gastroenteritis en niños pequeños y se propagan fácilmente por vía fecal-oral.

Tabla 4. Clasificación de los serotipos adenovirales humanos y los cuadros patológicos principales asociados a cada especie. Adaptado de Hall et al., 2010 y Khare et al., 2011.^{283,286}

Especie	Serotipo	Enfermedad asociada
A	12, 18, 31	Gastroenteritis
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34-35, 50, 55	Enfermedad respiratoria o urinaria
C	1, 2, 5, 6	Enfermedad respiratoria
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32-33, 36-39, 42-49, 51, 53-54	Queratoconjuntivitis
E	4	Enfermedad respiratoria / conjuntivitis
F	40, 41	Gastroenteritis
G	52	Gastroenteritis

Patogénesis, inmunología y epidemiología

Los adenovirus suelen asociarse con una enfermedad leve, pero pueden ocurrir complicaciones más graves en los lactantes o en pacientes inmunocomprometidos^{282,283}. Los principales síntomas de la infección son problemas respiratorios, queratoconjuntivitis, gastroenteritis o enfermedad del tracto urinario (Tabla 4). La diarrea, causada específicamente por los serotipos 40 y 41, se asocia con fiebre y

puede durar hasta 2 semanas. Aunque la fase sintomática puede ser corta y sólo los serotipos gastroentéricos están asociados con la propagación fecal-oral y causar gastroenteritis, casi todos los serotipos adenovirales pueden replicarse en el tracto gastrointestinal, causar diarrea y excretarse en las heces durante un período de tiempo prolongado²⁸⁹⁻²⁹¹. La infección por adenovirus humanos puede persistir en una fase latente en tejidos tales como amígdalas, linfocitos, ganglios, intestinos y tracto urinario durante toda la vida y puede reactivarse bajo ciertas condiciones como el cambio en el estado inmunológico²⁹²⁻²⁹³. La infección confiere una inmunidad específica para toda la vida²⁸⁰.

Los adenovirus pueden transmitirse de persona a persona por contacto directo o a través de la vía fecal-oral, respiratoria o ambiental⁸⁹. Los brotes por adenovirus ocurren normalmente en entornos cerrados, como hospitales, campamentos militares, guarderías, residencias geriátricas y escuelas²⁹⁴⁻²⁹⁷. Las infecciones por adenovirus entéricos son comunes durante todo el año, mientras que los brotes respiratorios ocurren normalmente desde finales del invierno hasta principios del verano⁸⁹.

Se han encontrado varios tipos de adenovirus humanos en aguas residuales tratadas, aguas costeras, aguas fluviales, piscinas e incluso en agua potable²⁹⁸⁻³⁰⁰. El agua contaminada puede ser, por tanto, una fuente de exposición para cualquier tipo de adenovirus humano, ya sea por ingestión, inhalación de gotitas en aerosol o por contacto directo con

los ojos²⁸². Se han asociado varios brotes transmitidos por el agua en piscinas³⁰¹⁻³⁰² o en agua potable³⁰³⁻³⁰⁴. Los fracasos de la cloración se citan a menudo como un factor principal en este tipo de brotes. Los adenovirus son sensibles a la desinfección química, pero son más resistentes a los efectos de la luz ultravioleta que otros virus entéricos³⁰⁵.

Aunque no se ha documentado hasta el momento ningún brote de adenovirus humano asociado con alimentos, se han detectado este tipo de virus en verduras crudas regadas con agua subterránea³⁰⁶ y crustáceos cultivados en aguas contaminadas con aguas residuales³⁰⁷⁻³⁰⁸. Estas evidencias subrayan que los alimentos que se consumen frescos, parcialmente cocidos o sin cocer pueden ser potencialmente una fuente de infección por adenovirus humanos.

5.5. Virus de la hepatitis E: agente zoonótico emergente

El virus de la hepatitis E es un virus esférico sin envoltura lipoproteica de ~ 33 nm con un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo de ~ 7.2 kb, y pertenece a la familia Hepeviridae, género *Hepevirus*. Contiene cuatro genotipos principales (1-4)³⁰⁹. Mientras que los genotipos 1 y 2 circulan primariamente en seres humanos causando la mayoría de las infecciones incluyendo todas las epidemias en Asia, África y México, los genotipos 3 y 4 causan sólo casos de infección aislada en países industrializados; p.ej. EE.UU., Japón, China, y países europeos.

El virus de la hepatitis E ha sido detectado en alimentos, agua y animales, particularmente en cerdos³¹⁰. En las regiones con suministro inadecuado de agua y malas condiciones sanitarias, el virus de la hepatitis E es una de las principales causas de hepatitis aguda en humanos³¹¹. Un aspecto muy importante, y que se tratará posteriormente con más detalle, es que las infecciones en los países industrializados por este virus no relacionadas con viajes a zonas endémicas pueden ser de origen zoonótico, ya que se han aislado en distintos países industrializados cepas de los genotipos 3 y 4 en cerdo y productos derivados con secuencias estrechamente relacionadas con cepas humanas³¹²⁻³¹⁵. Así, se ha demostrado la transmisión zoonótica transmitida a través de los alimentos por la detección de cepas del genotipo 3 idénticas en la carne de ciervo o jabalí consumida y los

pacientes afectados³¹⁶⁻³¹⁷ y cepas del genotipo 4 en productos de cerdo y los pacientes afectados³¹⁸. También se ha detectado el genotipo 3 porcino en fresas, con sospecha de que el agua de riego era su origen ³¹⁹.

Sobre este virus se profundizará más en un capítulo específico.

5.6 Otros virus entéricos

Astrovirus humanos

Los astrovirus humanos pertenecen al género *Mamastrovirus* y son miembros de la familia *Astroviridae*. Son virus esféricos no envueltos de ~ 30 nm con un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo de ~ 6,9 kb. Hay seis especies que afectan a bovinos, felinos, visones, ovinos, porcinos y humanos. El astrovirus humano es una causa común de gastroenteritis en niños y también en personas ancianas e inmunocomprometidas^{320,321}. Se han descrito ocho genotipos que se clasifican en los genogrupos A (1- 5 y 8) y B (6 y 7)³²². La transmisión de astrovirus es vía fecal-oral, vía contacto persona a persona, o a través de alimentos o agua⁸⁹.

Se ha descrito la presencia de genomas de astrovirus humanos en marisco³²³ y se han encontrado ocasionalmente asociados con brotes de gastroenteritis que implican posible transmisión asociada a alimentos o agua^{150,324,325}. Asimismo, se discute actualmente la posible transmisión zoonótica de astrovirus bovinos³²⁶.

Enterovirus

Los enterovirus son virus esféricos no envueltos de ~ 29 nm con un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo de ~ 7,8 kb. El género *Enterovirus* forma parte de la familia *Picornaviridae* e incluye cuatro especies (A, B, C y D). Los enterovirus humanos tipo A incluyen

algunas cepas de coxsackievirus A; los enterovirus humanos tipo B incluyen los coxsackievirus A y B1-6 y la mayor parte de los echovirus, y los enterovirus humanos tipo C comprenden los poliovirus 1-3 y algunas cepas de coxsackievirus A. Los enterovirus humanos identificados más recientemente se encuentran entre esas cuatro especies y se les ha dado números individuales partiendo de EV 68³²⁷.

Los enterovirus se transmiten por vía fecal-oral, vía diseminación de persona a persona o vía alimentos y agua contaminados o por contacto directo con secreciones respiratorias⁸⁹. Se multiplican principalmente en el tracto gastrointestinal, pero también en otros tejidos como el sistema nervioso y el músculo y causan un amplio rango de enfermedades como meningitis aséptica, poliomiелitis clásica, enfermedad cardíaca, conjuntivitis y erupciones cutáneas. Un cuadro clínico común es la fiebre autolimitante, malestar general, dolores musculares y dolor de cabeza. La diarrea y vómitos sólo están presentes como parte de una enfermedad sistémica más generalizada. Las manifestaciones clínicas son más comunes en los meses de verano en climas templados afectando por igual a todos los grupos de edad. Asimismo, la inmunidad a un serotipo no protege contra la infección con otros serotipos³²⁸. Los serotipos de echovirus y coxsackievirus que circulan y dominan dentro de las comunidades cambian con el tiempo y hay desviación molecular dentro de serotipos³²⁹. Los enterovirus han sido aislados de varios tipos de ambientes acuáticos, tales como aguas subterráneas, aguas residuales tratadas, aguas marinas y fluviales y

agua potable³³⁰⁻³³² así como de mariscos cultivados en áreas contaminadas³³³⁻³³⁴. También se han asociado con algunos brotes transmitidos por alimentos y agua^{328,335}. Sin embargo, la transmisión de la infección humana por enterovirus a través de la vía acuática ha sido difícil de confirmar debido al gran número de infecciones asintomáticas y de la transmisión frecuente por contacto personal cercano³³⁶.

6. TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS ENTÉRICOS: DEL AMBIENTE AL ALIMENTO

6.1 Transmisión zoonótica

Una de las principales vías de transmisión de los virus entéricos a los seres humanos es la vía zoonótica, bien asociada con el consumo de productos contaminados de origen animal, o bien durante la manipulación de alimentos por manipuladores infectados. Asimismo, otra causa frecuente de alimentos contaminados por virus entéricos es el contacto de los mismos con aguas contaminadas con heces (Figura 25). El consumo inadecuado de agua potable, el consumo de cultivos contaminados después de ser irrigados o fertilizados con aguas residuales, y la ingestión de mariscos cultivados en aguas contaminadas son, por lo tanto, causas comunes de infección viral transmitida por los alimentos a los humanos²⁰⁰.

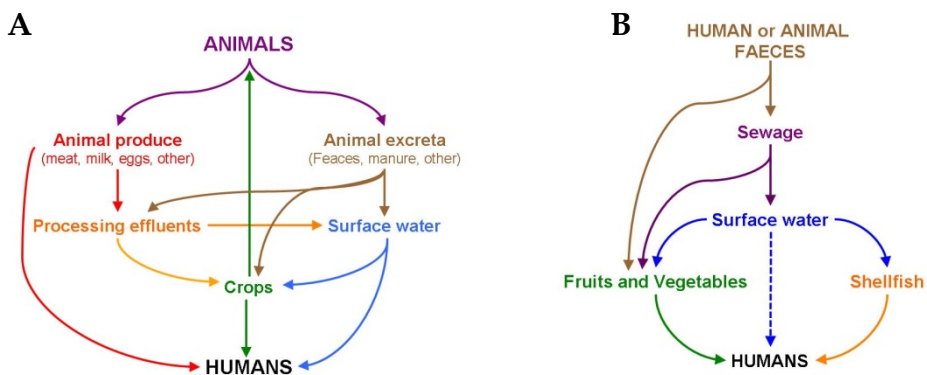


Figura 25. Rutas de contaminación ambiental de los virus entéricos al ser humano. **A.** Rutas de contaminación zoonótica de virus entéricos de origen animal. **B.** Contaminación ambiental de los

alimentos por virus entéricos; contaminación desde la fuente original a los seres humanos utilizando alimentos y agua como vía de transmisión. Figura adaptada de Rodríguez-Lázaro et al., 2012³³⁶.

Varios factores afectan la contaminación de diferentes tipos de alimentos como mariscos, frutas y hortalizas. Las variables climáticas como la estación, los ciclos de las mareas, las lluvias e inundaciones han estado implicadas en la contaminación viral del medio ambiente^{272,337-339}. Del mismo modo, las buenas prácticas en el sector primario, tanto en la ganadería como en la agricultura, así como en el procesado posterior de esas materias primas son absolutamente necesarias para minimizar el riesgo de contaminación viral de los alimentos disponibles para su consumo. Las prácticas de riego inapropiadas, el tratamiento y la reutilización de aguas residuales, los desbordamientos de aguas residuales y las emisiones de aguas residuales de fuentes contaminadas son causas directas de contaminación viral ambiental y fuentes de brotes de origen alimentario^{272,338-339,340} (Figura 25). Asimismo, los mariscos producidos en áreas cercanas a explotaciones de ganadería o agricultura intensiva, o plantas de tratamiento de residuos, presentan un alto riesgo de transporte de virus entéricos^{272,341}.

Existe una creciente preocupación acerca de los efectos sobre la salud humana y animal de los virus patógenos en el estiércol animal. En los últimos años, los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos asociados con el consumo de productos animales han recibido mucha atención, lo que ha llevado a la preocupación de los consumidores por la seguridad en la cadena de suministro de alimentos. El riesgo para la

salud asociado con las operaciones con animales depende de diversos factores. El más importante está relacionado con la especie animal que se está criando y la concentración de microorganismos patógenos en el estiércol animal. Además, algunos virus sobreviven durante largos períodos a pesar de las prácticas de producción y tratamientos higienizantes empleados, manteniendo su capacidad infecciosa en el medio ambiente hasta que se ingiere por un hospedador humano o animal. Sin embargo, ha sido difícil determinar el papel del ganado en la mayoría de los brotes de origen vírico transmitidos por el agua, ya que tanto los seres humanos como las diversas especies silvestres pueden excretar los mismos virus y, por lo tanto, servir como fuentes de infección o contaminación. Los virus entéricos se excretan vía fecal y, por consiguiente, se diseminan a través de suelos y aguas contaminadas; por tanto, cualquier otra especie animal que pastoree en los mismos pastizales y/o beba de las mismas fuentes de agua que el ganado infectado es probable que esté expuesta a ser infectada. Por consiguiente, pueden estar contaminados por las mismas variantes de virus o estrechamente relacionadas y, por tanto, representar un alto riesgo de diseminar aún más estos virus^{341,342}.

La mayoría de los virus entéricos con capacidad patogénica que emergen en las poblaciones humanas son de origen animal³⁴³. Existe un amplio espectro de modos de transmisión para los virus zoonóticos a través de los animales domésticos o reservorios silvestres. Estos pueden ser directos o indirectos³⁴⁴ e incluir la transmisión por alimentos, agua,

aire y suelo contaminados (Figura 25). La carne se puede contaminar por excretas durante el sacrificio de los animales o durante su posterior procesado, pero también puede haber sido contaminada antes debido a la infección del animal vivo. El riesgo de infección de origen alimentario depende de la ruta de la infección por el virus, el nivel de contaminación y el grado de inactivación durante el procesado de los alimentos. Las explotaciones ganaderas producen grandes cantidades de residuos que pueden causar serios problemas ambientales. De hecho, los derrames accidentales o deliberados, el uso excesivo de residuos animales como fertilizante y las liberaciones de residuos animales incorrectamente o incompletamente tratados constituyen riesgos ambientales importantes de contaminación vírica^{342,345}. Se estima que la contaminación de las tierras de cultivo con rotavirus de origen animal en los residuos animales empleados como fertilizantes puede ser considerable, y una contaminación similar es plausible o incluso probable para otros virus vertidos en gran número en excrementos de origen animal²⁴⁸. Como es de esperar, la detección de virus animales en aguas contaminadas (aguas subterráneas, lagos, ríos, estuarios, escorrentías y tanques de riego de las granjas, etc.) es mucho más frecuente en áreas de producción intensiva³⁴². Sin embargo, los modos y los niveles de contaminación ambiental con virus difieren en los diferentes tipos de virus y especies animales.

6.2 Exposición ocupacional

El entorno y los procedimientos de trabajo pueden ser fuentes de diseminación viral. Sin embargo, es muy complejo sustentar de una manera taxativa las evidencias y relacionarlas con una posible exposición, lo que contribuye de una manera clara a que sea muy complejo evaluar el riesgo de infección asociado a la exposición ocupacional. Las instalaciones médicas son los entornos ocupacionales más estudiados. En estas instalaciones, los virus transmitidos por la sangre, como el virus de la inmunodeficiencia humana, VIH, el virus de la hepatitis B y el virus de la hepatitis C, pueden transmitirse principalmente por accidentes con agujas infectadas u objetos afilados³⁴⁶. Los virus transmitidos por el aire, como el virus de la influenza, los virus respiratorios sincitiales, los adenovirus, los rinovirus, los coronavirus, el virus del sarampión, el virus de la rubéola, los virus de la parotiditis y el parvovirus B19 también se propagan fácilmente³⁴⁷. Los agentes virales transmitidos por vía fecal-oral, tales como los rotavirus, los adenovirus 40 y 41 y los norovirus se asocian con frecuencia a infecciones nosocomiales e infecciones asociadas a centros médicos propagadas por contaminación del aire, las manos y las superficies³⁴⁸.

Los trabajadores que participan en el tratamiento de aguas residuales y su reutilización para fines agrícolas e industriales pueden estar expuestos a virus entéricos. Las encuestas seroepidemiológicas

muestran que los trabajadores de las plantas de tratamiento de aguas residuales están en mayor riesgo que la población general, en términos de infecciones entéricas y hepáticas³⁴⁹⁻³⁵⁵. Los trabajos veterinarios y zootécnicos también pueden exponer a los trabajadores a los virus zoonóticos mediante el contacto con el estiércol y la inhalación de aerosoles generados por actividades como el lavado y la limpieza²⁴⁸. Los estudios serológicos indican que los trabajadores del sector de la cría intensiva de animales pueden estar expuestos a virus zoonóticos, especialmente el virus de la influenza porcina H1³⁵⁶. Por lo tanto, no es desdeñable que los trabajadores en estos campos de actividad pueden tener un papel en el salto de especies de animales a poblaciones humanas³⁵⁷.

6.3 Matrices ambientales que contienen virus patógenos humanos

Los virus con capacidad patogénica para los humanos pueden ser excretados y secretados por los seres humanos al ambiente a través de heces, orina, saliva, sudor y lágrimas³⁵⁸. Las matrices principales que pueden contaminarse con virus humanos y que representan fuentes potenciales de infección son agua, aguas residuales, lodos, estiércol, aire, superficies, cultivos tales como frutas y hortalizas, mariscos y diferentes tipos de productos alimentarios de origen animal. El rango de complejidad en la estructura y carga electrostática de estas matrices y de los virus es tal que sus interacciones son extremadamente diversas, con diferencias correspondientes en cuanto a la inactivación y eliminación de los virus. En general, la supervivencia de los virus está influenciada por parámetros tales como la humedad, la temperatura, la asociación con sólidos y la exposición a la luz ultravioleta.

Agua y alcantarillado

Las aguas superficiales pueden contaminarse fácilmente con virus. En la UE se adoptaron en 1991 directrices para la eliminación de aguas residuales (Directiva 91/271 / CEE) relativas al tratamiento de las aguas residuales urbanas con el fin de proteger el medio acuático de los efectos adversos de los vertidos de aguas residuales urbanas y de determinados vertidos industriales. Este es una normativa importante ya que no sólo regula las condiciones de descarga según el equivalente de habitantes, sino que también estipula los requisitos para las

correspondientes instalaciones de recogida y tratamiento. Sin embargo, los valores de reducción requeridos para las descargas de las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas se evalúan según parámetros químicos y bioquímicos, incluyendo la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la demanda química de oxígeno (DQO), el total de sólidos en suspensión (TSS) y la cantidad de fósforo y nitrógeno totales. Por lo tanto, no se tienen en cuenta microorganismos patógenos altamente estables, como es el caso de los virus entéricos, que son virus sin envoltura, y por tanto altamente resistentes en el medio ambiente. En los lodos (sólidos que quedan después del tratamiento de aguas residuales), los virus pueden estar presentes y constituir un peligro potencial.

El agua potable se obtiene de las aguas superficiales en muchos países y se trata por sedimentación, filtración y o desinfección que, si se hace de una manera eficiente, puede producir un producto final libre de virus, aunque esto puede depender de la calidad inicial del agua³⁵⁹⁻³⁶¹. La Directiva Europea relativa a la calidad del agua destinada al consumo humano es la Directiva 98/83/CE. Esta normativa establece que la monitorización debe proporcionar información sobre la calidad organoléptica y microbiológica del agua suministrada, así como información sobre la eficacia del tratamiento del agua potable (en particular, la desinfección). Asimismo, esta directiva incluye límites microbiológicos, pero sin embargo estos están únicamente basados en

patrones bacterianos, y por tanto los virus entéricos no se consideran en ninguna de las directivas actuales.

Estiércol

El estiércol puede definirse como la orina y el material fecal producido por los animales alojados en entornos artificiales, como las granjas y los parques zoológicos. También puede contener lechos de paja y se almacena a menudo durante largos períodos de tiempo y se utiliza como fertilizante en las tierras agrícolas. En general, los virus entéricos, incluidos los calicivirus, los virus de la hepatitis A y E se consideran estables en las heces¹⁰. Después de la dispersión de los virus en el medio ambiente, las tasas de inactivación difieren sustancialmente entre los tipos de virus, siendo la inactivación más rápida en el estiércol líquido (mezcla de orina y agua con menos material de lecho) que en el estiércol sólido. Los virus entéricos pueden sobrevivir durante mucho tiempo (incluso años) a temperaturas inferiores a 5°C y especialmente en ausencia de luz ultravioleta. Existe una clara evidencia de que la inactivación de los virus entéricos en el medio ambiente es menos efectiva si se absorben o se incrustan en materia sólida suspendida que no se seca. De este modo, los virus entéricos como es el caso de los norovirus o los virus de la hepatitis A y E pueden resistir la inactivación completa en el ambiente durante un tiempo muy largo³⁶².

Aire y superficies

La importancia de la propagación de virus entéricos en el aire no está bien definida, a diferencia de la propagación por agua o alimentos. Esto se debe en gran medida a las dificultades para identificar esta vía de transmisión para casos individuales o brotes. La transmisión aérea de los virus depende de la probabilidad de que el material contenga virus para formar aerosoles y de la supervivencia de los virus en el aire. Los virus entéricos pueden ser aerosolizados por, por ejemplo, vómitos violentos (como los vómitos en proyectil asociados con norovirus)¹²⁹, el vaciado de la cisterna del inodoro³⁶³, la irrigación por pulverización³⁶⁴ y diferentes procesos realizados en las plantas de tratamiento de aguas residuales³⁶⁵. Algunos virus entéricos pueden causar infección por contacto ocular o por inhalación, captación de virus por moco y posterior deglución. Sin embargo, el mecanismo más común de diseminación es la deposición de partículas de aerosol en superficies, particularmente alimentos, vegetación y ropa. Superficies como los picaportes de las puertas, los pasamanos de las escaleras, las manijas de descarga en los inodoros, los juguetes, teléfonos, vasos y tejidos han sido implicadas en la transmisión de virus entéricos³⁶³. El material fecal o el vómito pueden contaminar estas superficies y los virus entéricos presentes pueden ser ingeridos después del contacto directo o de la transferencia a través de las manos³⁶⁶. Las características del material y del virus contribuyen a determinar la tasa de supervivencia³⁶⁷⁻³⁶⁸. La detección de partículas víricas en una gran variedad de superficies,

como mesas, manillas de puertas, paredes, aseos, asientos, termómetros, juguetes, telas de algodón, alfombras, fundas de cama, guantes, vasos, papel, etc. ³⁶⁶ ha contribuido a explicar las rutas de transmisión de los norovirus ³⁶⁹⁻³⁷⁰, los rotavirus³⁷¹ y los rinovirus³⁷² en casos localizados y brotes.

Los virus se pueden transmitir vía aérea de tres maneras principalmente: a través de gotitas que son relativamente grandes (> 20µm de diámetro), asentándose o sedimentando el líquido a distancias cortas (metros) de su fuente; mediante partículas de tamaño intermedio (rango de aproximadamente 5 a 20 µm de diámetro) que pueden permanecer en el aire, sobre todo si el agua se evapora, o a través de aerosoles que son relativamente pequeños (5µm o menos), que pueden estar compuestos de materiales principalmente líquidos o sólidos y permanecer en el aire durante largos períodos de tiempo y viajar largas distancias.

La supervivencia de los virus en el aire o en las superficies puede verse afectada por numerosos factores de origen físico, químico o biológico (Figura 26). Los factores físicos más importantes que afectan la supervivencia del virus tanto en el aire como en las superficies son la humedad relativa, la temperatura, la luz solar, el tamaño de la partícula vehiculadora. Sin embargo, el grado del efecto de cada uno de estos factores depende del tipo de virus.

De este modo, la humedad relativa tiene un efecto variable en función del tipo de virus; así aquellos con un mayor contenido de lípidos tienden a ser más persistentes a una menor humedad relativa, mientras que los virus con menor o ningún contenido de lípidos son más estables a humedades relativas mayores. Asimismo, la supervivencia de los virus varía generalmente inversamente con la temperatura; sin embargo, el grado en que la supervivencia de los virus en aerosoles y superficies se ve afectada por la temperatura depende del tipo de virus y de la humedad relativa. El principal componente antiviral de la luz solar es la radiación ultravioleta, principalmente la radiación UVA (320-400 nm). La susceptibilidad a la exposición a los rayos UV también parece variar con el tipo de virus. Finalmente, el tamaño de la partícula del aerosol puede afectar a la supervivencia de los virus aerotransportados, con una inactivación más rápida en partículas más pequeñas que las grandes.

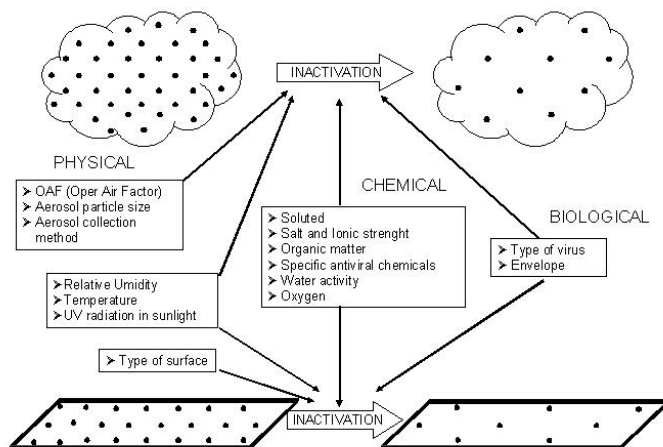


Figura 26. Principales factores asociados a la supervivencia de virus entéricos en el aire y superficies. Comunicación personal de la profesora Analaura Carduci, Universidad de Pisa.

Los alimentos

Los alimentos y los ambientes alimentarios son una fuente importante de transmisión viral a los seres humanos^{14,72}. Los brotes virales de origen alimentario se notifican en todo el mundo cada año y están asociados con una amplia variedad de alimentos^{219,373-375}. Como se ha indicado con anterioridad, los virus implicados más frecuentemente en infecciones transmitidas por alimentos son los norovirus y el virus de

la hepatitis A, pero otros virus, en particular los rotavirus humanos -en particular los rotavirus del grupo A- humano, el virus de la hepatitis E, los enterovirus humanos y los astrovirus también se transmiten por los alimentos. Para los norovirus y el virus de la hepatitis A, la transmisión de persona a persona es la vía de transmisión más común. La propagación secundaria de estos virus después de la introducción, por ejemplo, de la contaminación transmitida por los alimentos, es común y con frecuencia da lugar a brotes mayores y prolongados³⁷⁶. Las estimaciones del rol atribuido a los alimentos en enfermedades virales están en el rango de alrededor del 5% para el virus de la hepatitis A al 12-47% para los norovirus. Sin embargo, todas las estimaciones actualmente disponibles de enfermedades transmitidas por alimentos hacen suposiciones y usan extrapolaciones de diferentes fuentes de datos⁴⁸. No obstante, todas concluyen esencialmente que los virus son una causa importante de las enfermedades transmitidas por los alimentos^{48,376}. La incidencia de brotes de enfermedades víricas transmitidas por los alimentos ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, posiblemente debido a la rápida globalización del mercado alimentario, al aumento de los viajes personales y al transporte de alimentos y a los profundos cambios en los hábitos alimenticios³⁷⁷.

Los productos alimenticios pueden estar contaminados en varios puntos a lo largo de la cadena de suministro de alimentos. Esto puede deberse a una mala práctica en la producción primaria y/o al mal uso de los recursos naturales y ambientales³⁷⁸; por ejemplo, el riego de

hortalizas con agua contaminada –incluyendo la contaminación a través de las raíces debido al riego por goteo³⁷⁹-, el contacto con heces humanas o materiales contaminados con restos fecales y las malas prácticas de higiene de los manipuladores de alimentos durante la cosecha de los productos frescos. Además, la contaminación puede producirse por prácticas inadecuadas durante el posterior procesado o en el punto de venta o en el consumo en el hogar³⁸⁰. Asimismo, puede haber contaminación cruzada de instrumentos o superficies de trabajo, los cuales han sido contaminados previamente por manipuladores de alimentos infectados o alimentos contaminados³⁸⁰⁻³⁸². Además, los mariscos, los productos frescos o los alimentos listos para el consumo pueden estar contaminados con excretas humanas, ya sea directa o indirectamente, y los brotes víricos de origen alimentario también pueden provenir de los virus zoonóticos intrínsecamente presentes en los alimentos consumidos. Esto se ha demostrado para el virus de la hepatitis E en carne cruda y en hígado de jabalí y ciervo³⁸³⁻³⁸⁵. Además, el potencial de transmisión a través de los alimentos es una preocupación para cada nueva infección emergente, incluso para los virus que son principalmente respiratorios, por ejemplo, el virus de la gripe aviar altamente patógena. De hecho, el virus de la influenza aviar infecciosa se ha aislado a partir de carne congelada exportada, lo que plantea la posible transmisión de dichos virus a través de la cadena alimentaria³⁷⁶.

Los alimentos comúnmente implicados en los brotes de origen alimentario son los que se procesan mínimamente, como los mariscos o los productos frescos, aunque también pueden estar involucrados otros tipos de alimentos como los alimentos listos para el consumo que han sido contaminados por un manipulador de alimentos infectado. Tradicionalmente, los moluscos bivalvos, como las ostras, los mejillones, las almejas y los berberechos, han sido considerados como la fuente principal de origen alimentario de los virus entéricos. Los mariscos filtradores que se alimentan por filtración pueden concentrar los virus del agua contaminada; de esta manera, la filtración puede provocar una concentración en los mariscos 100-1000 veces mayores que en el agua circundante³⁸⁶. Además, a parte de esa concentración pasiva debido al filtrado de grandes volúmenes de agua, se ha observado la unión específica de los norovirus al epitelio de los crustáceos, pudiendo impedir la liberación de los virus durante la depuración de los mariscos³⁸⁷⁻³⁸⁸.

Las frutas y hortalizas frescas tienen un alto contenido de agua - absorbido de las aguas subterráneas durante su crecimiento- y generalmente se consumen crudas y sin pelar, procedimientos que podrían eliminar la contaminación externa. Los virus pueden sobrevivir en su superficie una vez cosechados ³⁸⁶, y pueden permanecer infecciosos durante varios días o semanas e incluso durante el almacenamiento comercial y doméstico por períodos de hasta cinco semanas ³⁸⁹. Sin embargo, cualquier alimento que ha sido manipulado

por manipuladores de alimentos y no es, o lo es insuficientemente, sometido a un subsiguiente proceso de conservación y/o cocción es susceptible de ser una fuente de transmisión de virus entéricos.

La supervivencia de los virus en los alimentos puede verse afectada por diversos factores. Kott y Fishelson³⁹⁰ observaron que los poliovirus persistían más tiempo en las plantas de tomate y lechuga en solución salina tamponada con fosfato que en el efluente del estanque de oxidación, posiblemente debido a la actividad microbiana en tales efluentes. Además, la irradiación natural en combinación con sustancias antivirales naturales generalmente presentes en las frutas puede reducir en gran medida la infectividad viral³⁹¹. Sin embargo, sustancias naturales o añadidas en los alimentos, como la grasa, la sal y la sacarosa, pueden proteger a los virus entéricos contra la inactivación mediante calentamiento o por alta presión hidrostática³⁹². Por el contrario, componentes como los ácidos y diversos componentes de los jugos de frutas pueden aumentar la tasa de inactivación viral³⁹².

7. EL VIRUS DE LA HEPATITIS E: LA TRANSMISIÓN ZONÓTICA COMO UN PROBLEMA EMERGENTE

El virus de la hepatitis E es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo, no envuelto, clasificado en cuatro genotipos con un solo serotipo. La infección por el virus de la hepatitis E puede causar daño al hígado, y los síntomas pueden ser particularmente graves en mujeres embarazadas. Este virus también se encuentra en una variedad de especies animales, incluidos los cerdos, y ahora se reconoce como un agente zoonótico. Se han notificado varios casos de transmisión de hepatitis E transmitidos por los alimentos, a menudo asociado con consumo de carne, especialmente cruda o poco cocida. Sin embargo, un adecuado proceso de cocción puede inactivar a este virus.



Intervirology 20: 23-31 (1983)

© 1983 S. Karger AG, Basel
0300-5526/83/0201-0023\$2.75/0

Evidence for a Virus in Non-A, Non-B Hepatitis Transmitted via the Fecal-Oral Route

*M. S. Balayan^a, A. G. Andjaparidze^a, S. S. Savinskaya^a, E. S. Ketiladze^b, D. M. Braginsky^b,
A. P. Savinov^a, V. F. Poleschuk^a*

Figura 27. Dr. Mikhail Balayan descubridor del virus de la hepatitis E.

La historia de su descubrimiento es muy rocambolesca. El virus de la hepatitis E fue descubierto por el médico soviético Mikhail Balayan en 1983³⁹² (Figura 27). Éste estaba investigando un brote de hepatitis no A no B entre los soldados soviéticos durante la guerra de Afganistán. A pesar de que quería traer muestras a su laboratorio de Moscú, carecía de sistemas de refrigeración para su transporte a la Unión Soviética. Así que

preparó un batido de yogur con las heces de 9 pacientes infectados, se las bebió, regresó a Moscú, y esperó. A los 35 días desarrolló una hepatitis aguda, y comenzó a recolectar y analizar sus propias muestras de heces. En ellas se encontró un nuevo virus que producía daño hepático en animales de laboratorio y podía ser visto por microscopía electrónica.

El virus de la hepatitis y su enfermedad asociada son temas que han despertado el interés tanto de investigadores como de instituciones de salud pública en las últimas dos décadas; así el número de publicaciones científicas se ha triplicado desde el 2000 (Figura 28).

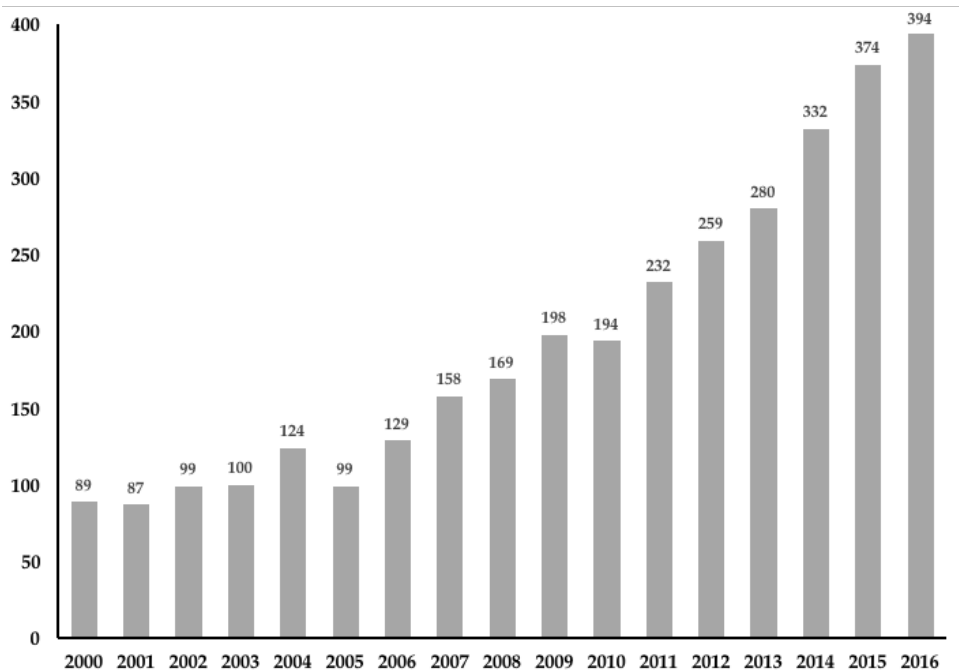


Figura 28. Incremento del número de publicaciones asociadas a la hepatitis E desde 2000. Fuente Pubmed.

La hepatitis E es la principal causa de hepatitis aguda transmitida por el agua en los países en desarrollo. La enfermedad es endémica en partes del mundo con saneamiento e higiene deficientes, donde ocurre en grandes brotes. El primer brote de hepatitis E se registró en Nueva Delhi, India, en 1955 y 1956, aunque no fue reconocido como tal hasta la década de 1990, cuando los avances en el diagnóstico molecular y el inmunodiagnóstico hizo posible identificar el agente viral. En los países desarrollados, inicialmente se pensaba que la enfermedad estaba relacionada sólo con los viajes en áreas endémicas. Sin embargo, en los últimos años se han descrito varios casos de hepatitis E adquirida localmente en Europa, EE.UU. y Japón y se han descubierto reservorios animales. Las vías de transmisión de la hepatitis E en los países desarrollados aún no están claras, pero se han notificado varios casos de transmisión transmitida por alimentos.

Morfología y clasificación

Se trata de un virus de ARN de cadena sencilla no envuelto (Figura 28). Las partículas del virión son de aproximadamente 27 a 34 nm de diámetro, con una cubierta de proteína icosaédrica o cápside, que encierra un genoma de ARN de 7,5 kb lineal³⁹³. Su genoma tiene tres marcos de lectura abiertos (ORFs): el ORF1 que codifica la poliproteína no estructural (nsp), el ORF2 que codifica la proteína de la cápside viral y el ORF3 que codifica una pequeña fosfoproteína reguladora³⁹⁴ (Figura 29).

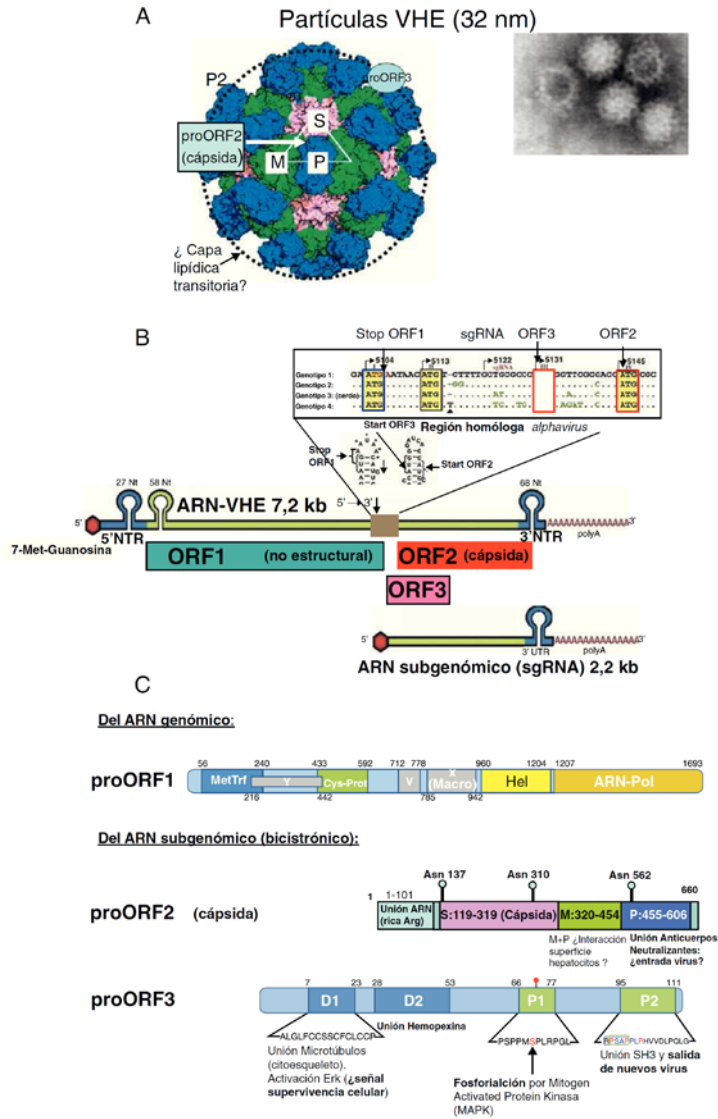


Figura 29. A) La imagen de microscopía electrónica de partículas virales y estructura cristalina de partículas pseudovirales muestra el empaquetamiento de las proteínas proORF2 de la cápsida y la localización de los dominios P, M y S (fig. 27C) y la posible localización de proORF3. El círculo en línea discontinua indica la capa lipídica transitoria durante la salida de las partículas virales. B) Estructura del genoma: residuo 7-metil-guanosina (7-Me-Guanosina) en su extremo 5' (cap), cola poli-A en extremo 3, regiones no traducidas 5'NTR y 3'NTR, los 3 marcos de lectura abierta: ORF1, ORF2 y ORF3 y la región central homóloga a alphavirus que contiene el codón de parada (stop) de ORF1, y los de inicio (ATG) de ORF3 y ORF2 y la posición de inicio del ARN subgenómico de 2,2kb que actúa como transcrito para ORF2 y ORF3. C) Esquemas de las proteínas codificadas por el genoma. Tomado de Rodríguez-Frías et al., 2012³⁹⁵.

El virus de la hepatitis E está clasificado en un género separado desde 2003, *Hepevirus*, dentro de la familia Hepeviridae³⁹⁶. Esta familia contiene virus que infectan a mamíferos, incluidos los seres humanos, así como a aves y peces. El virus de la hepatitis E aviar³⁹⁷ y el virus de la hepatitis E de la trucha³⁹⁸ comparten alrededor del 50% de la secuencia de nucleótidos de las cepas del virus de la de la hepatitis E de mamíferos y no han sido asociados con casos humanos. Mientras que el sistema de clasificación más común identifica 4 genotipos principales de mamíferos (1 a 4) y varios subgenotipos dentro de cada genotipo³⁹⁹, los datos recientes basados en secuencias completas de genoma de cepas humanas y animales y secuencias parciales de aminoácidos ORF1/ORF2 indican la existencia de 3 grupos en mamíferos⁴⁰⁰. El primer grupo corresponde a virus que infectan a humanos, cerdos, jabalíes, ciervos y conejos. Este grupo contiene los cuatro principales genotipos y nuevos genotipos de jabalí⁴⁰¹ y conejo⁴⁰². El segundo grupo corresponde a virus que infectan a ratas y hurones⁴⁰³⁻⁴⁰⁴, y el tercer grupo corresponde a virus que infectan a murciélagos⁴⁰⁵. Por lo tanto, una nueva nomenclatura probablemente será utilizada en el futuro (Tabla 5). Recientemente se han propuesto cuatro géneros tentativos: *Orthohepevirus*, incluyendo cepas de mamíferos excepto las de murciélago; *Chiropteran-hepevirus*, incluyendo cepas de murciélagos; *Avihepevirus*, incluyendo cepas aviares; y *Piscihepevirus*, incluyendo el virus de la trucha⁴⁰⁶.

Tabla 5. Genotipos del virus de la hepatitis E, hospedadores naturales e infección zoonótica a humanos. Adaptado de Nan & Zhang⁴⁷⁶.

Género	Especie	Genotipo	Hospedador natural	Infección a humanos
<i>Orthohepevirus</i>	<i>Orthohepevirus A</i>	1	Humano	Sí
		2	Humano	Sí
		3	Humano, cerdo, jabalí, conejo, mangosta,	Sí
		4	Humano, cerdo, jabalí, yak	Sí
		5	Jabalí	Desconocida
		6	Jabalí	Desconocida
		7	Camello	Sí
	<i>Orthohepevirus B</i>		Pollo	No
	<i>Orthohepevirus C</i>	C1	Rata	No
		C2	Hurón	No
	<i>Orthohepevirus D</i>		Murciélago	No
<i>Piscihepevirus</i>			Trucha	No

Todas las cepas identificadas del virus de la hepatitis E que infectan a humanos se han clasificado en cuatro genotipos (1 a 4), pero sólo hay un serotipo⁴⁰⁸ (Figuras 30 y 31). Dentro de los genotipos 1-4 asociados a infecciones humanas se han sugerido subdivisiones en subtipos, basado tanto en secuencias del genoma completo o secuencias parciales derivadas de diferentes marcos de lectura abierta del genoma del virus. Los linajes dentro de los genotipos 1 y 2 son menos divergentes y parecen estar más conservados en comparación con las cepas de los genotipos 3 y 4. Los genotipos 1 y 2 sólo parecen afectar a

los seres humanos. Los virus del genotipo 1 están aislados predominantemente de brotes y casos esporádicos en Asia y África, mientras que las cepas del genotipo 2 se han observado en brotes en México y África (Figura 30). Los genotipos 3 y 4 son zoonóticos y se observan en diferentes especies animales y casos humanos esporádicos, en todo el mundo para el genotipo 3 y principalmente en Asia para el genotipo 4 (Figura 30). Sin embargo, las infecciones autóctonas observadas en los EE.UU. y Europa hasta la fecha son causadas casi exclusivamente por cepas del genotipo 3, con una probabilidad de transmisión principalmente zoonótica, aunque debido a su largo período de incubación ha sido muy difícil identificar los posibles alimentos implicados.

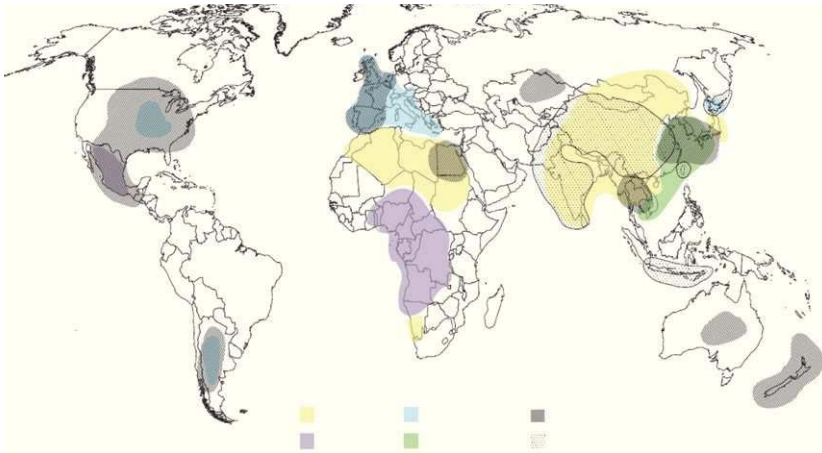


Figura 30. Distribución mundial de los genotipos VHE en humanos y cerdos. Tomado de Rodríguez-Frías et al.³⁹⁵.

Estudios recientes de variabilidad genética indican que no puede definirse ningún criterio coherente para la asignación de subgenotipos

dentro de cada genotipo ^{400,409}. Sin embargo, varios estudios basados en secuencias de genoma de longitud completa y el sistema de clasificación dividiendo los cuatro principales genotipos en 24 subgenotipos (5 para el genogrupo 1, 2 para el genogrupo 2, 10 para el genogrupo 3, y 7 para el genogrupo 4) han proporcionado datos moleculares epidemiológicos muy interesantes ^{399,410}. En los países en desarrollo, los subgenotipos 1a, 1b y 1c son prevalentes en Asia, mientras que los subgenotipos 1d y 1e se encuentran en África ³⁹⁹. Los subgenotipos 3a y 3b, que circulan en los EE.UU. y Japón, se distinguen claramente de los subgenotipos 3f, 3c y 3e, que circulan en Europa ⁴¹¹⁻⁴¹³. Los análisis filogenéticos y de coalescencia basados en numerosas secuencias completas de cepas del genotipo 3 de pacientes con hepatitis aguda, cerdos domésticos y jabalíes proporcionan evidencia de que las cepas del subtipo 3e se introdujeron de Europa en Japón a través de la importación de cerdos en los años sesenta, existiendo en dicho país la dirección del flujo genético de dicho subgenotipo 3e de cerdos a jabalíes ⁴¹⁴.

La propagación del virus de la hepatitis E mediante cultivo celular HEV es muy difícil. Se han utilizado células PLC/PRF/5, derivadas de carcinoma hepatocelular humano, y células A549, derivadas de cáncer de pulmón humano, como líneas de propagación celular y se ha podido cultivar *in vitro* cepas salvajes principalmente de genotipo 3 y 4, pero de una manera poco fiable y robusta ya que pocos laboratorios lo han conseguido con éxito ⁴¹⁵⁻⁴¹⁶.

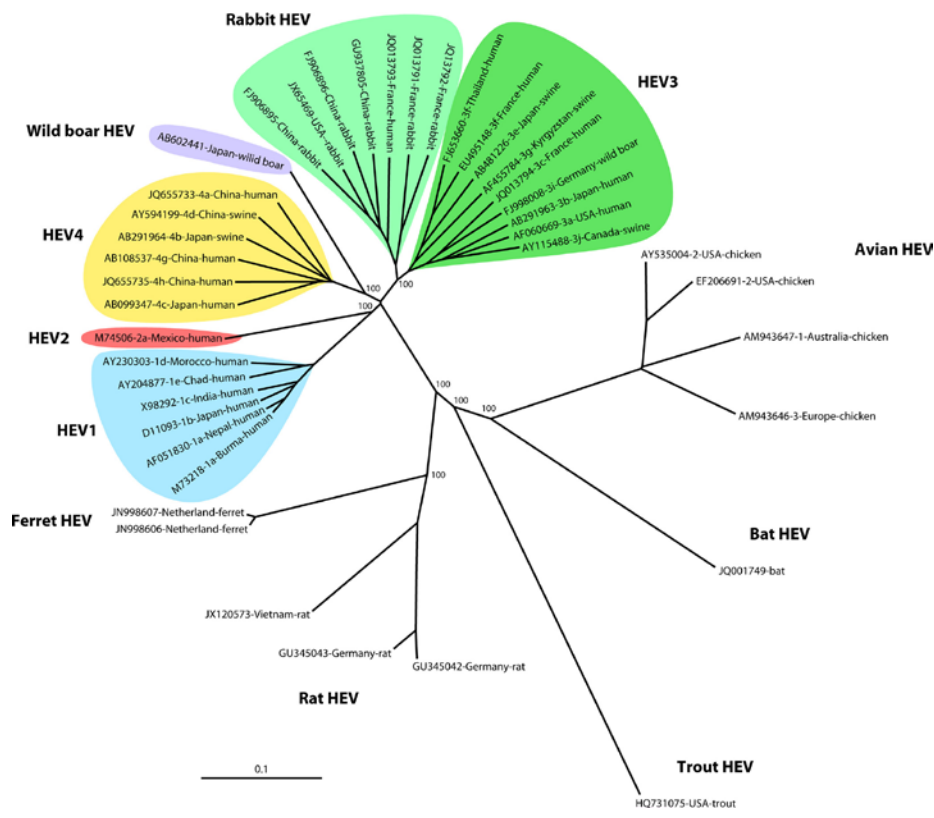


Figura 31. Árbol filogenético basado en secuencias completas de cepas de HEV. La barra de escala indica el número de sustituciones de nucleótidos por sitio. Tomado de Kamar et al.⁴¹⁷

Patogénesis

La dosis infecciosa del virus de la hepatitis E es desconocida. Después de la entrada por vía oral, el virus pasa a través del tracto intestinal, donde probablemente se reproduce. El virus luego pasa al hígado, y después de la replicación se libera en la bilis y la sangre por mecanismos que todavía no se conocen completamente. Se supone que los hepatocitos son las células diana primarias en las que el virus se replica en el citoplasma. Sobre la base de la falta de un sistema de

cultivo celular eficiente, el mecanismo por el cual el virus de la hepatitis E entra en las células y la forma en que el virión se libera de las células aún no se entiende completamente⁴¹⁸. La replicación del virus de la hepatitis E en el hígado da lugar a daño en ese órgano, pero la patogénesis y los mecanismos de la lesión hepática durante la infección todavía no se conoce claramente; sin embargo, no se descarta que los mecanismos inmunes puedan estar involucrados.

En los seres humanos las infecciones por el virus de la hepatitis E a menudo cursan de forma asintomática, pero después de un período de incubación que oscila entre 15 y 60 días, la enfermedad puede manifestarse como una hepatitis viral icterica aguda. Las partículas víricas se pueden encontrar en la bilis y heces de la persona infectada durante la fase de incubación tardía y hasta 2 semanas después de la aparición de la enfermedad clínica. Los síntomas clínicos de las enfermedades en la mayoría de los casos son muy similares a los descritos durante la hepatitis A, e incluyen anorexia, náuseas, ictericia, fiebre y dolor abdominal⁴¹⁹ (Tabla 6).

El virus de la hepatitis E es excretado por vía fecal; se pueden excretar hasta 10^8 copias del genoma vírico por miligramo de heces durante varios días antes de la aparición de los síntomas⁴²⁰. Se ha detectado también ARN del virus de la hepatitis E en la orina de cerdo y se ha sugerido que esto puede desempeñar un papel relevante en su transmisión en este reservorio animal. Sin embargo, no se ha descrito la

transmisión del virus de la hepatitis E en aerosoles, pero no debería descartarse ya que se puede excretar a través de la orina.

Tabla 6. Características clínicas de la infección por el virus de la hepatitis E en países desarrollados y en vías de desarrollo. Adaptado de Kamar et al.⁴¹⁷.

	Descripción o valor	
	Hepatitis E en países en vías de desarrollo	Hepatitis E en países desarrollados
Edad de infección (años)	15-30	>50
Género (ratio M:F)	2:1	>3:1
Curso clínico	Hepatitis autolimitada	Hepatitis autolimitada
Complicaciones neurológicas	Sí	Sí
Mortalidad en mujeres gestantes	Sí; 20-25% en 3 ^{er} trimestre	
Pronóstico en pacientes con enfermedad hepática crónica	Pobre	Pobre
Infección crónica	No	Sí; sólo genotipo 3
Prevalencia	3,4 millones/año; 70.000 muertes y 3.000 nacimientos de bebés muertos	Desconocido

Epidemiología

Durante la infección aguda de los genotipos 1 y 2 del virus de la hepatitis E, la tasa de mortalidad en la población general es del 0,2-1%. La tasa de mortalidad en los países desarrollados es más alta, oscilando entre el 8% y el 11%. Los individuos más susceptibles en los países en desarrollo son los adultos jóvenes y las mujeres embarazadas y la tasa de mortalidad durante el embarazo puede oscilar entre el 15 y el 25%⁴²¹ (Tabla 7). En los países desarrollados la infección parece ser más frecuente en hombres de mediana edad y ancianos, y normalmente es letal sólo en pacientes con enfermedad hepática crónica subyacente.

Tabla 7. Epidemiología de la infección por el virus de la hepatitis E en países desarrollados y en vías de desarrollo. Adaptado de Kamar et al.⁴¹⁷.

	Descripción o valor	
	Hepatitis E en países en vías de desarrollo	Hepatitis E en países desarrollados
Genotipos	1 y 2	3 y 4
Fuente de infección	Humano	Zoonótico, cerdos principalmente
Ruta de infección	Fecal-oral vía agua contaminada	Fecal-oral vía carne de cerdo contaminada, exposición directa o agua contaminada
Infección por transfusión	Sí	Sí
Seroprevalencia	Baja en niños <15 años, se incrementa rápidamente entre 15 y 30 años	Incremento continuo en los disantos grupos de edad
Incidencia	Variable; 64 cada 1000 pacientes-año en Bangladesh	Variable; 3/100 pacientes-año en el sur de Francia, 7/1000 pacientes-año en EE.UU.
Brotos	Sí; implican miles de casos	No; grupos de casos pequeños ocasionales vía alimentos
Ratio de ataque	~1 en 2	67-98% son asintomáticos
Transmisión persona a persona	Muy limitado	No
Estacionalidad	Sí, durante época de inundaciones o monzones	No
Enfermedad en turistas de áreas endémicas	Bien definida	Está empezado a emerger

La vía más común de transmisión de la hepatitis E es el consumo de agua potable contaminada, siendo poco frecuente la transmisión de persona a persona. La incidencia de hepatitis E es más alta en Asia central y sudoriental, África del Norte y Occidental y México, áreas donde la contaminación fecal del agua es común y la seroprevalencia en las poblaciones de regiones endémicas oscila entre el 3 y el 26% (Figura 32). Se han registrado brotes con varios miles de casos en países como

India, Birmania y China. En América del Norte y Europa, los casos de hepatitis E son infrecuentes, aunque la seroprevalencia en la población oscila entre el 1% y el 5%; La mayoría de los casos de infección por genotipo 1 y 2 del virus de la hepatitis E están relacionados con el viaje a áreas endémicas, pero se han descrito casos de hepatitis E autóctona.

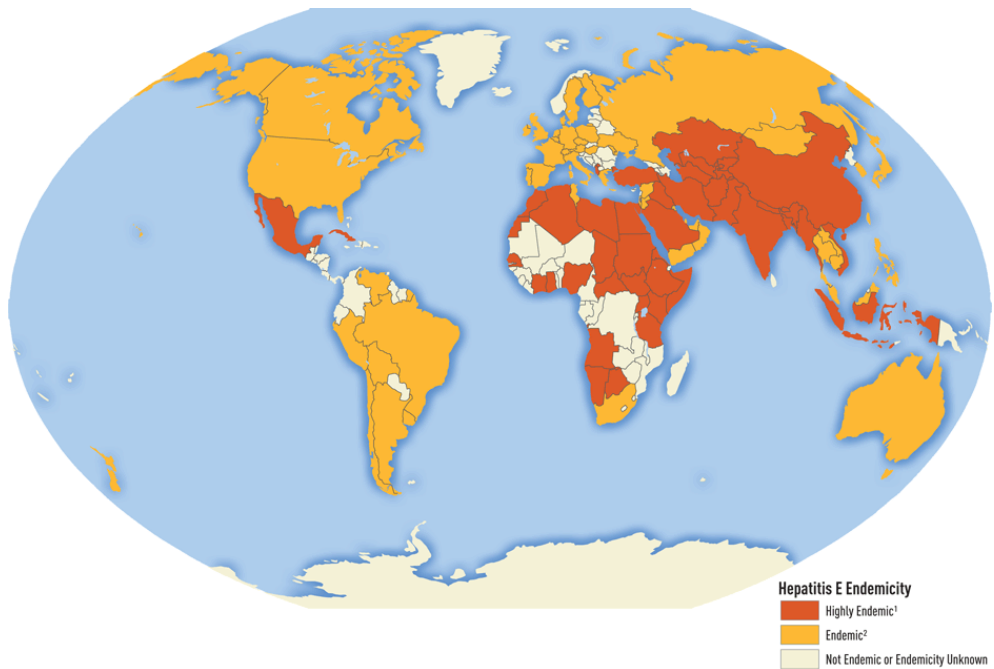


Figura 32. Distribución de la infección por hepatitis E. wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/infectious-diseases-related-to-travel/hepatitis-e

En los países en vías de desarrollo, donde los genotipos 1 y 2 se transmiten a través de agua contaminada, la excreción fecal del virus de la hepatitis E por humanos con infección clínica o subclínica mantiene un grupo circulante de individuos infecciosos que contaminan el suministro de agua, manteniendo la enfermedad con carácter endémico⁴¹⁹⁻⁴²². Los genotipos 1 y 2 principalmente infectan a los seres

humanos, y su detección en las aguas residuales indica un papel importante como reservorio ambiental⁴²³ (Figura 33).

En los países desarrollados, donde la mayoría de los casos de infección por el virus de la hepatitis E son autóctonos (adquiridos localmente), la importancia de los reservorios animales es evidente (Figura 33). Las cepas del virus de la hepatitis E que infectan a mamíferos como cerdos domésticos, jabalíes, ciervos y conejos son agentes causales de la infección zoonótica en humanos^{316,424-426}. El principal reservorio animal son los cerdos domésticos, con una prevalencia muy alta en muchos países y una infección asintomática en el huésped animal⁴²⁷. El genotipo 3 tiene una distribución mundial⁴²⁸. Por el contrario, el genotipo 4 se encuentra principalmente en China y Japón³⁹⁹, pero recientemente también se ha detectado en Europa, tanto en cerdos⁴²⁹ como en humanos⁴³⁰⁻⁴³². Los genotipos 3 y 4 también se detectan en jabalíes y ciervos, pero la prevalencia es baja en comparación con la de los cerdos domésticos⁴²⁷.

Se desconoce la gama completa de especies de mamíferos que pueden actuar como reservorios. Se han identificado anticuerpos anti-HEV en varios animales incluyendo pollos, cerdos, jabalíes, ciervos, gatos, perros, mangostas, caballos, ganado vacuno, ovejas y roedores. Sin embargo, las variantes que infectan ratas⁴³³, hurones⁴³⁴, mangostas⁴³⁵ y murciélagos⁴³⁶ no se han encontrado en seres humanos. La transmisión zoonótica del virus de la hepatitis E puede deberse

principalmente al consumo de carne de cerdo o de caza (jabalí, ciervo o conejo) sin cocer o poco cocida^{424,437-440}; el virus permanece viable después de calentar a 56°C durante 1 h⁴⁴¹, y se requieren temperaturas de cocción de 71 ° C durante 20 min para inactivarlo completamente⁴⁴². Se han descrito altos niveles de infección por el virus de la hepatitis E en cerdos de varios países de todo el mundo, aunque la infección parece ser asintomática⁴⁴³. Se han detectado cepas de HEV con secuencias de ARN muy similares en cerdos y en seres humanos, lo que genera preocupación por la posible extensión de la transmisión zoonótica del virus a través del consumo de productos de carne de cerdo contaminados⁴⁴⁴.

El contacto directo con animales infectados es otra posible vía de transmisión del virus de la hepatitis E⁴⁴⁴⁻⁴⁴⁶. Estudios de seroprevalencia demuestran que los veterinarios y los manipuladores de cerdos son más propensos que la población general a ser anti-HEV IgG positivos⁴⁴⁷.

La vía de infección transmitida por el agua también puede ser importante para los genotipos 3 y 4. El genotipo 3 se ha detectado en aguas residuales no tratadas, estiércol de cerdos, instalaciones de almacenamiento de purines de cerdos y agua de río⁴⁴⁸⁻⁴⁵¹. También se ha detectado en mejillones y ostras⁴⁵²⁻⁴⁵⁴. Sin embargo, la importancia relativa de la transmisión ambiental de los genotipos 3 y 4 sigue siendo desconocida.

Finalmente, se ha descrito la infección por el virus de la hepatitis E transmitida por transfusión en varios países⁴⁵⁵⁻⁴⁶¹. Por ejemplo, en el Reino Unido 1 de cada 2.848 donantes de sangre son positivos al genotipo 3, y el 43% de los receptores de componentes de sangre infectada se infectaron, desarrollando un 25% de los mismos un proceso prolongado⁴⁶¹. El virus de la hepatitis E también se ha detectado en derivados de sangre⁴⁶²⁻⁴⁶⁵.

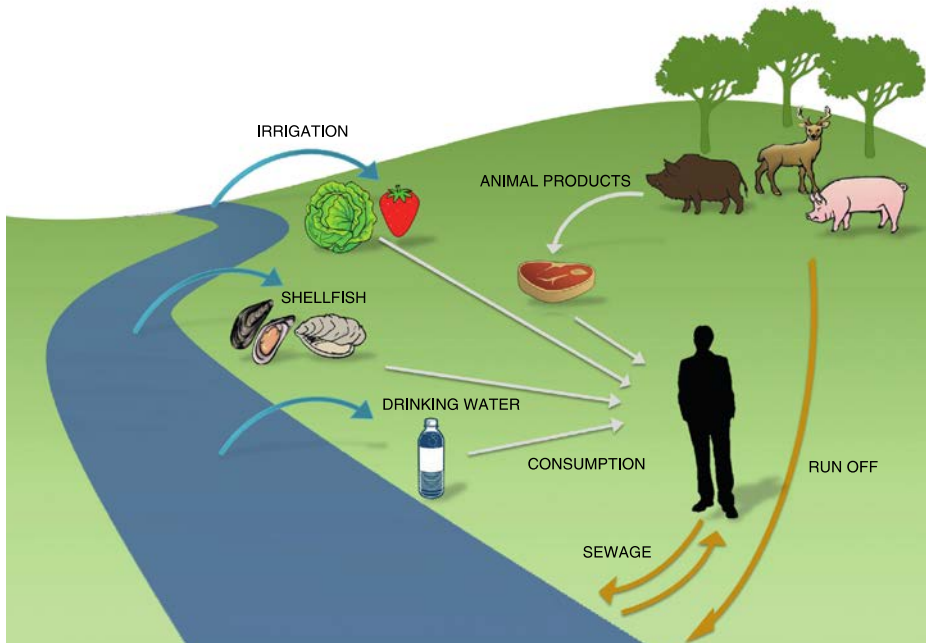


Figura 33. Rutas potenciales de transmisión alimentaria y ambiental del virus de la hepatitis E. Tomada de Van der Poel⁴⁶⁶.

Transmisión zoonótica del virus de la hepatitis E

La transmisión alimentaria de virus de la hepatitis E se demostró por primera vez en grupos de pacientes japoneses después de consumir

carne cruda o poco cocida de cerdos, jabalíes o ciervos Sica³¹⁶. Las secuencias genómicas del virus de la hepatitis E identificadas de los pacientes infectados fueron idénticas a las recuperadas de la carne sobrante congelada^{316,440}. A través de la detección de secuencias del virus de la hepatitis E y/o el estudio epidemiológico, se han relacionado más casos de hepatitis E con el consumo de productos alimentarios contaminados con el virus (Figura 33). Esto incluye la infección a través de productos cárnicos producidos localmente ⁴³⁷, pero también de carne de caza y carne de cerdo procesada^{412,467}. El consumo de productos de carne de cerdo crudos o poco cocidos ha sido identificado como un mayor factor de riesgo de infección por el virus de la hepatitis E^{437,468} con la posibilidad de que varios miles de personas se infecten cada año⁴⁶¹. Se han encontrado secuencias de ARN del virus de la hepatitis E en diversos tejidos y órganos de cerdos⁴⁶⁹ ciervos y jabalí⁴⁷⁰⁻⁴⁷¹. Los hígados comerciales de cerdo adquiridos en los supermercados locales pueden estar contaminados con el virus⁴⁷²⁻⁴⁷⁴ y algunos de esos hígados comerciales porcinos contaminados pueden contener virus infecciosos⁴⁷⁴. Los moluscos bivalvos son transmisores conocidos de virus entéricos y especialmente las ostras se consumen crudas en todo el mundo; el virus de la hepatitis E ha sido detectado en mejillones, mariscos y otros bivalvos ^{456,475-478}. Más recientemente se han detectado secuencias del virus de la hepatitis E en bayas y verduras, sospechándose del agua de riego como el origen de la contaminación ^{277,478-479}.

Recientemente, ha ocurrido un episodio de transmisión zoonótica confirmada en Andalucía que presenta datos muy relevantes⁴⁶⁷. Un paciente infectado por el VIH fue diagnosticado con una infección aguda por hepatitis E en el Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba en octubre de 2015. El paciente fue negativo a los test inmunológicos, pero presentó ARN del virus. Asimismo, informó que su familia tradicionalmente cazaba jabalíes para su consumo y que toda la familia consumió carne de jabalí guisada, asada o preparada a la parrilla durante el mes anterior. Los ocho miembros de la familia fueron positivos a la presencia del ARN del virus, pero sin presentar sintomatología clínica. Por otro lado, se investigó la vía de transmisión por consumo de carne de jabalí; se analizaron dos trozos de carne de jabalí facilitados por la familia del paciente, observándose la presencia del ARN del virus, del genotipo 3, y revelando una homología del 100% entre los aislados de los miembros de la familia y de la carne analizada. Finalmente, se evaluó también la prevalencia de infección por el virus de la hepatitis E entre jabalíes de la misma zona de caza; se analizaron muestras de suero de nueve jabalíes cazados en la misma área de caza entre los días 21 al 22 de noviembre de 2015, amplificándose el ARN del virus en todas las muestras, y la cepa viral aislada fue idéntica a la identificada en los miembros de la familia y la carne analizada. Este episodio es muy interesante pues pone de manifiesto que el jabalí es un importante reservorio del virus y puede ser una ruta de transmisión muy importante, siendo además muy prevalente en la cabaña de jabalís

en Andalucía (De Deus et al., 2008). Además, es un dato muy relevante desde un punto de vista de salud pública, ya que el sur de España es el exportador más importante a nivel mundial de carne de jabalí. Asimismo, este estudio subraya la relevancia del medio ambiente como reservorio del virus en animales salvajes (jabalí en este caso). Finalmente, este estudio pone de manifiesto la importancia de los tratamientos culinarios adecuados en el hogar para garantizar la total eliminación del virus en los productos cárnicos.

Por tanto, este episodio es un claro ejemplo de una integración de salud ambiental, salud animal y sanidad humana, los tres pilares de la estrategia «UNA SALUD», en la que el virus de la hepatitis E puede ser utilizado como ejemplo paradigmático para su estudio.

Por otro lado, la presencia de este virus en alimentos de origen animal, principalmente cerdo, con el carácter añadido del origen zoonótico, ha despertado el interés no sólo en el ámbito científico y sanitario, sino también de los medios de comunicación. Así, el pasado verano los medios de comunicación británicos se hicieron eco de varios estudios científicos e informes gubernamentales sobre la incidencia del virus de la hepatitis E en productos derivados del cerdo y el aumento del número de casos de hepatitis E en el Reino Unido en los últimos años, lo que provocó una fuerte alarma social en el Reino Unido asociado al posible papel en la transmisión del virus de la hepatitis E del

consumo de productos cárnicos, principalmente asociado a su consumo preparados a la parrilla (Figura 34).



GRILLER KILLER Undercooked BBQ bangers blamed for number of Hepatitis E infections increasing by factor of five

Latest figures show there were five times more cases in Britain this year than in 2009

By SHAUN WOOLER

24th July 2016, 1:01 am | Updated: 24th July 2016, 1:31 am



1 COMMENTS

UNDERCOOKED barbecue sausages are being blamed for a sharp rise in Hepatitis E cases.

Latest figures show there were 1,054 incidents of the liver illness in 2014 – five times more than the 178 cases in 2009.

THE TIMES

BODY & SOUL

Dr Mark Porter

July 26 2016, 12:01am,
The Times

Dr Mark Porter: Why your summer barbecue might give you hepatitis E

To eliminate every virus, pop your sausages in the oven before you throw them on the barbie

Figura 34. Recortes de prensa digital de periódicos británicos refiriéndose al posible papel del consumo de carne a la parrilla en la infección por el virus de la hepatitis E

Prevalencia del virus de la hepatitis E en productos de cerdo y otras matrices de alimentos

El virus de la hepatitis E ha sido detectado en productos de carne de cerdo (hígado, salchichas) vendidos al por menor, en varios países incluyendo países europeos como España, Francia, Italia, la República Checa, o el Reino Unido^{444,48}. Se han documentado tasas de detección del ARN del virus de 6,5%⁴⁸¹, 4,0%⁴⁸² y 6,0%⁴⁴ para hígado de cerdo comercialmente disponible, aunque un estudio todavía no publicado por nuestro grupo en el marco del proyecto de investigación RTA2014-00024-C04 «Análisis y control integrado de *Toxoplasma gondii* y virus entéricos en la cadena alimentaria» en un número representativo de mataderos en España eleva ese porcentaje por encima del 20%. En embutidos de hígado de cerdo y embutidos crudos procedentes de Alemania, se han descrito tasas de detección del ARN del virus de la hepatitis E entre el 20% y el 22%⁴⁸³. Especialmente tasas de detección elevadas del 57,1-58,3% han sido descritas para una salchicha de hígado local de Francia llamada «Figatelli»^{437,484}. Como se ha indicado con anterioridad, el ARN del virus también se ha detectado en productos frescos como lechuga ⁴⁷⁸ y frambuesas ⁴⁷, en leche de vaca ⁴⁸⁵ y en mariscos^{456,486}, pero con tasas de detección inferiores.

Las pruebas utilizadas para la detección del ARN de virus de la hepatitis E se basan en la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR), dirigiéndose a secuencias específicas del genoma de HEV, por ejemplo, la región conservada del locus ORF3

⁴⁸⁷. Se han desarrollado protocolos distintos para la homogeneización y extracción de virus de los productos de carne de cerdo antes del análisis por RT-PCR^{483,488}. Sin embargo, actualmente no existe un método estandarizado para la detección del virus de la hepatitis E en los alimentos, aunque actualmente uno está siendo examinado por el Comité Europeo de Normalización (CEN), lo cual como vamos a ver más adelante, ha sido indicado como una de las principales prioridades de investigación en virus entéricos. Esa falta de estandarización provoca que los estudios realizados diverjan en la metodología empleada, y por tanto los resultados obtenidos en dichos estudios no puedan ser completamente comparables. Además, una de las principales barreras tecnológicas es el pobre límite de detección de la tecnología, lo cual probablemente está subestimando la prevalencia real de este virus tanto en la cabaña ganadera como en sus productos derivados y en el medio ambiente.

En España también se han realizado diversos estudios para determinar la presencia del ARN de virus de la hepatitis E en animales, y alimentos y ambientes asociados (Tabla 8), habiéndose encontrado tanto en cerdo doméstico como en jabalí con prevalencias que alcanzan el 50%, así como en animales silvestres como el ciervo rojo. Asimismo, se ha detectado el ARN del virus en una amplia gama de alimentos como mejillones, embutidos como el chorizo, y en multitud de carnes y productos de origen animal diverso. En este sentido, nuestro grupo de investigación realizó un estudio sobre más de 100 muestras de origen

cárnico de todo tipo (porcino, vacuno, ovino, aviar y exótico como antílope, cobayas, etc.) decomisadas en el aeropuerto de Bilbao a pasajeros con una procedencia de terceros países fuera de la UE, obteniéndose una prevalencia superior al 50%, y siendo ésta superior al 65% en el caso de carne y productos cárnicos derivados del cerdo⁵⁰².

Tabla 8. Prevalencia de ARN del virus de la hepatitis E en muestras ambientales, procedentes de fauna doméstica o salvaje y alimentos en España. Modificado de Echevarría et al.⁴⁸⁹

Matriz	Prevalencia (%)	Genotipo	Referencia
Aguas residuales	2,7	1a	490
	32,6	3	491
	100	3	492
	-	1, 3e	493
	30	-	494
Cerdo doméstico	50	3	495
	14-16	3	496
	46,4	3	497
	18,8	3	498
	11,5	-	499
Jabalí	19,6	3	500
Ciervo rojo	13,6	3	501
Carne y productos cárnicos	53,3	-	502
Embutido	6	3	444
Mejillón	3	-	456

Lagunas de información en la transmisión del virus

El descubrimiento en cerdos de cepas del virus de la hepatitis E relacionadas con cepas humanas⁴⁴³ es potencialmente significativo en cuanto a la posibilidad de transferencia entre especies y de infección

zoonótica. Por lo general, los productos de cerdo son cocinados a temperaturas que deben ser suficientes para inactivar el virus, pero existe un claro potencial de transferencia zoonótica del virus de la hepatitis E por la contaminación del medio ambiente a través de estiércol de cerdos infectados. El virus de la hepatitis E puede estar extendido en la población general de cerdos^{443,503-504}, y si es así, es posible que gran parte del estiércol porcino que se almacena en las granjas y posteriormente eliminado en tierras agrícolas como fertilizante pueda contener partículas infecciosas de este virus. Esto podría resultar en la exposición subsiguiente de la población humana. Por lo tanto, es necesario conocer la prevalencia y la supervivencia del virus de la hepatitis E en el medio ambiente y en cultivos y alimentos, y también desarrollar métodos para detectar la transferencia entre especies en una etapa temprana⁴⁴³.

La identificación de productos de carne de cerdo poco cocidos como factor de riesgo para la infección por el virus de la hepatitis E plantea la cuestión de cuáles son los parámetros de cocción necesario para una inactivación adecuada de este virus. En este sentido, se ha realizado un número muy limitado de estudios sobre la inactivación del virus de la hepatitis E. Estos estudios indican que el virus podría permanecer infeccioso a las temperaturas utilizadas en algunos regímenes de cocción, aunque se ha demostrado inactivación por calentamiento a 71°C durante 20 min ⁴⁴² y que el cloro a concentraciones entre 0,4 y 11,2 mg/L podría producir una reducción de 2 logs (99%) del

virus de la hepatitis E por minuto en agua limpia y contaminada con aguas residuales ⁵⁰⁵.

Sin embargo, existen brechas significativas en nuestro conocimiento sobre la supervivencia del virus de la hepatitis E en los alimentos y en el medio ambiente (incluyendo las superficies en contacto con los alimentos), así como sobre el efecto de los procedimientos de eliminación utilizados en los entornos de la cadena de suministro de alimentos ⁵⁰⁶. La inexistencia de una línea de cultivo celular para poder replicar el virus de la hepatitis E en el laboratorio, conlleva la falta de un ensayo de infectividad fiable lo que ha dificultado en gran medida la realización de estudios de inactivación y supervivencia vírica. Por ello, es altamente recomendable, como en el caso de los norovirus humanos, que se desarrolle un sistema de propagación eficiente (basado en el cultivo celular *in vitro*), para facilitar la adquisición de información sobre el riesgo potencial que representa el virus de la hepatitis E en los alimentos y el medio ambiente, así como su respuesta a los procedimientos de desinfección y eliminación.

8. PRIORIDADES DE INVESTIGACIÓN EN VIRUS ENTÉRICOS

En el mes de febrero de 2016, los días 23 a 25, se celebró en Londres una reunión organizada por la Autoridad Europea en Seguridad Alimentaria (EFSA) y la «*Food Standards Agency*» (FSA) del Reino Unido sobre los virus transmitidos por los alimentos; «*FSA-EFSA International Workshop on Foodborne Viruses 2016*». A esta reunión tuve el placer y el honor de asistir. La reunión congregó a más de 100 académicos, médicos, veterinarios, especialistas de la industria alimentaria y legisladores con experiencia en epidemiología, detección y control de los principales virus entéricos transmitidos por los alimentos; los norovirus, el virus de la hepatitis A y el virus de la hepatitis E. La nacionalidad de los mismos fue muy diversa; aunque el evento estaba organizado por dos instituciones europeas, y a la misma asistieron la mayoría de los expertos europeos en la materia, ésta no se circunscribió únicamente al ámbito geográfico europeo y reunió expertos de EE.UU. Unidos, Canadá, Sudáfrica, Japón y Nueva Zelanda, así como una representación del Ministerio de Sanidad de China.

Esta reunión fue especial por diferentes motivos. El primero fue su localización; la reunión se celebró en un marco incomparable, la sede de la *Royal Society* en la Carlton House Terrace a apenas 200 metros de Trafalgar Square en pleno corazón londinense (Figura 35).



Figura 35. Sede de la Royal Society en Londres

El segundo motivo fue que, por primera vez, instituciones nacionales e internacionales reunían a expertos de diferentes países y partes del mundo para discutir la situación actual en referencia a la transmisión de virus a través de los alimentos, así como para discutir las principales prioridades en epidemiología, detección y control de los principales agentes implicados con el fin de adaptarlas a las agendas de investigación de los programas europeos y británicos (Figura 36).

Como he indicado, el objetivo principal de esta reunión fue identificar las áreas prioritarias para la futura financiación de la investigación con el fin de maximizar la eficiencia y beneficiarse de las sinergias proporcionadas por las colaboraciones interdisciplinarias.

La reunión estuvo enfocada a tres virus entéricos en exclusiva: los norovirus humanos, el virus de la hepatitis A, y el virus de la hepatitis E (Figura 37). Se definieron, asimismo, tres áreas prioritarias, sobre las se discutió profundamente tanto en sesiones plenarias como en sesiones específicas: la epidemiología e impacto en la Salud Pública, la detección y el control de virus en la cadena alimentaria. El programa de la reunión se articuló por tanto entorno a esos tres organismos y esas tres áreas de trabajo. Por tanto, el primer día de trabajo se centró en 3 sesiones plenarias en las que expertos internacionales introdujeron el conocimiento actual sobre la epidemiología, detección y control de los norovirus humanos, el virus de la hepatitis A, y el virus de la hepatitis E.



Figura 36. «FSA-EFSA International Workshop on Foodborne Viruses 2016»

En el segundo día de trabajo, los expertos nos dividimos por grupos en cada uno de las áreas definidas, para identificar y realizar prioritizaciones en las necesidades en investigación, en función de una información previa facilitada por la EFSA.



DRAFT A GENDA

FSA - EFSA

WORKSHOP ON FOODBORNE VIRUSES 2016

23rd- 25th February 2016

**The Royal Society
6-9 Carlton House Terrace, London SW1Y 5AG**

DAY 1: Tuesday 23rd February 2016 – Setting the scene

- 12.00 – 13.30 Registration and networking lunch (provided)
- SESSION I: INTRODUCTION**
- 13.30 – 13.35 Chair's opening remarks – Kieron White, WCL
- 13.35 – 13.45 Food Standards Agency's Welcome – Prof Guy Pippy, FSA
- 13.45 – 13.55 European Food Safety Authority's Welcome – Dr Maria Hu gas, EFSA
- SESSION II: EPIDEMIOLOGY AND PUBLIC HEALTH IMPACT**
- 13.55 – 14.15 Norovirus – Prof Marion Koopmans, Erasmus MC
- 14.15 – 14.35 Hepatitis A – Prof Rosa Maria Pinto Sole, University of Barcelona
- 14.35 – 14.55 Hepatitis E – Dr Harry Dalton, University of Exeter
- 14.55 – 15.20 Tea and coffee break
- SESSION III: METHODS FOR VIRUSES IN THE FOOD CHAIN**
- 15.20 – 15.40 Norovirus and Hepatitis A – Dr James Lowther, Cefas
- 15.40 – 16.00 Hepatitis E - Prof Reimar Johne, BfR
- SESSION IV: CONTROL OPTIONS IN THE FOOD CHAIN**
- 16.00 – 16.20 Norovirus and Hepatitis A – Prof Lee-Ann Jaylors, North Carolina State University
- 16.20 – 16.40 Hepatitis E – Prof Wim van der Poel, Wageningen University and Research Centre
- 16.40 – 16.55 Chair's introduction to day 2 and prioritisation criteria – Kieron White, WCL
- 16.55 – 17.00 Chair's wrap up – Kieron White, WCL



DAY 2: Wednesday 24th February 2016 – Working in break-out groups

- SESSION V: IDENTIFYING EVIDENCE AND RESEARCH GAPS**
- 09.00 – 09.15 Chair's introduction to working in groups – Kieron White, WCL
- 09.15 – 11.00 Work in break-out groups
- 11.00 – 11.20 Tea and coffee break
- 11.20 – 12.30 Work in break-out groups
- 12.30 – 13.40 Lunch (provided)
- SESSION VI: PRIORITISATION**
- 13.40 – 15.40 Work in break-out groups
- 15.40 – 16.00 Tea and coffee break
- 16.00 – 17.00 Plenary discussion of each break-out group's conclusions
- 17.00 – 17.15 Break
- 17.15 – 18.30 Ranking exercise and drink reception
- 18.30 – 22.00 Conference Dinner at the Royal Society (provide d)

DAY 3: Thursday 25th February 2016 – Conclusions and next steps

- SESSION VII: AGREEMENT ON KEY PRIORITIES**
- 09.00 – 09.05 Chair's introduction to final day – Kieron White, WCL
- 09.05 – 10.40 Plenary discussion (facilitated) based on conclusions of previous day
- 10.40 – 11.00 Tea and coffee break
- SESSION VIII: NEXT STEPS**
- 11.00 – 11.15 Dr Paolo Caricabo, European Commission, DG-SANTE
- 11.15 – 11.30 Dr Penny Bramwell, FSA
- 11.30 – 11.45 Luis Vivas Alegre, European Commission, DG-RTD
- 11.45 – 12.00 Closing remarks – Kieron White, WCL

Figura 37. Programa del «FSA-EFSA International Workshop on Foodborne Viruses 2016»

De esas reuniones específicas se priorizaron necesidades y áreas de investigación para cada temática y virus.

8.1 Prioridades en investigación en la epidemiología e impacto en Salud Pública de los virus entéricos

En el caso de las necesidades y prioridades en la epidemiología de los norovirus, el grupo de trabajo seleccionó de una manera priorizada las siguientes opciones (Tabla 9):

Tabla 9. Necesidades priorizadas en la epidemiología de Norovirus.

-
- 1^a. ¿Qué es lo que provoca y define la susceptibilidad y vulnerabilidad de los norovirus humanos?
 - 2^a. ¿Cuál es el impacto de los portadores asintomáticos y la diseminación de los norovirus humanos en la comunidad y por los manipuladores de alimentos?
 - 3^a. ¿Cómo se relaciona la presencia de norovirus humanos en los alimentos con el riesgo para la salud pública?
 - 4^a. ¿Cuáles son las tendencias en la atribución de las fuentes de norovirus y en la carga de morbilidad, basándose en lo descrito en el informe de la OMS (FAO/OMS, 2008)?
 - 5^a. ¿Cuáles son las vacunas candidatas contra norovirus que probablemente tengan el mayor impacto y a quién se debería vacunar?
 - 6^a. ¿Existen reservorios no humanos y cómo pueden influenciar la epidemiología molecular de los norovirus humanos?
-

La justificación ofrecida por el grupo para esa priorización se fundamentó en la necesidad de una comprensión sólida de la carga de la enfermedad de base para sustentar las distintas preguntas de investigación; que las preguntas de investigación debieran abordar las áreas de alto impacto en la salud pública para reducir la carga de morbilidad; así como la necesidad de enfoques innovadores y que las

cuestiones de investigación fuesen transversales dentro de este tema (epidemiología) y entre las otras dos temáticas: detección y opciones de control.

Para las necesidades de investigación en la epidemiología del virus de la hepatitis A, el grupo de trabajo seleccionó de una manera priorizada las siguientes opciones (Tabla 10):

Tabla 10. Necesidades priorizadas en la epidemiología del virus de la hepatitis A.

-
- 1^a. ¿Cuál es la contribución de la transmisión alimentaria en la carga de morbilidad en Europa?
 - 2^a. Perfil de riesgo para categorías de alimentos, sistemas de producción y procesado de alimentos
 - 3^a. Caracterización molecular de aislados de virus en alimentos y muestras clínicas, incluyendo la caracterización de variantes antigénicas.
 - 4^a. Evaluación cuantitativa del virus de la hepatitis A en frutas, hortalizas y mariscos.
 - 5^a. Evaluación de la monitorización y vacunación de manipuladores de alimentos.
 - 6^a. Análisis global - volúmenes comerciales considerando endemidad y genotipo en el país de origen.
 - 7^a. Trabajadores estacionales: prácticas de higiene, participación y condiciones de vida.
-

Asimismo, la justificación de las preguntas de investigación prioritarias establecidas por el grupo de trabajo se sustentó en tres aspectos: i) la existencia de una clara sospecha de que la transmisión de los virus a través de los por los alimentos se está convirtiendo en un problema creciente, que debe cuantificarse para demostrar la magnitud del mismo; ii) las categorías de alimentos de alto riesgo, como las bayas

y los mariscos, son bien conocidas, pero la elaboración de perfiles de riesgo requiere una caracterización más detallada que considere la producción y procesado de las diferentes categorías de alimentos y los datos de las evaluaciones cuantitativas en la contaminación viral podrían respaldar el perfeccionamiento de los perfiles de riesgo de los alimentos; y iii) la caracterización molecular del virus de la hepatitis A es necesaria para apoyar las investigaciones de brotes y para proporcionar una visión de la diversidad viral (espacial y temporalmente).

Finalmente, en el apartado de epidemiología e impacto en la Salud Pública el grupo de trabajo seleccionó de una manera priorizada las siguientes las necesidades de investigación para el HEV (Tabla 11):

Tabla 11. Necesidades priorizadas en la epidemiología del virus de la hepatitis E.

-
- 1^a. Filogenias comparadas del HEV en poblaciones humanas y porcinas, productos alimenticios y cadenas de producción, en los distintos Estados miembros de la UE.
 - 2^a. ¿Cuál es la carga del virus de la hepatitis E en las poblaciones humanas en Europa?
 - 3^a. Estudios epidemiológicos para identificar las fuentes de contaminación (incluyendo mariscos y fuentes ambientales), factores de riesgo y el papel de la cadena alimentaria en la transmisión del virus de la hepatitis E.
 - 4^a. Una evaluación estructurada sobre la contaminación de los productos derivados de cerdo en el sector de la distribución de alimentos.
 - 5^a. Monitorización de los productos derivados del cerdo y sus usos, y riesgos potenciales relacionados.
 - 6^a. Posibles riesgos ambientales asociados con los efluentes de las granjas porcinas, el uso de estiércol de cerdo para la agricultura y las plantas de tratamiento de aguas residuales que puedan afectar a las zonas de producción de mariscos y productos frescos.
-

El grupo fundamentó estas priorizaciones en la necesidad de comprender los vínculos entre los cabaña animal, los productos derivados del cerdo y los casos de enfermedades humanas para identificar la fuente del virus de la hepatitis E, así como la necesidad de desarrollar una mejor comprensión de la carga del virus de la hepatitis E en la UE, ya que no existe un panorama completo en este momento.

8.2 Prioridades en investigación en la detección de los virus entéricos en la cadena alimentaria

En el caso de las necesidades y prioridades relacionadas con la detección de los norovirus humanos y el virus de la hepatitis A en la cadena alimentaria, el grupo de trabajo seleccionó de una manera priorizada las siguientes opciones (Tabla 12):

Tabla 12. Necesidades priorizadas en la detección de norovirus y del virus de la hepatitis A.

- 1^a. Métodos para evaluar la infectividad de los virus tanto en las medidas de control como en el análisis de alimentos.
 - 2^a. Desarrollo de métodos alternativos de extracción de virus de distintas matrices alimentarias para aumentar la sensibilidad analítica existente.
 - 3^a. Desarrollo de nuevos métodos de detección sensible para otras matrices y muestras alimentarias y ambientales.
 - 4^a. Armonización de la interpretación sobre los resultados positivos / negativos.
 - 5^a. Estandarización de los métodos de tipificación en diferentes tipos de muestreo.
 - 6^a. Desarrollo de la metodología de secuenciación del genoma completo (WGS).
 - 7^a. Desarrollar un método de laboratorio robusto para el cultivo de norovirus.
-

El razonamiento proporcionado por el grupo para su clasificación se fundamentó en 7 aspectos: i) la existencia de métodos para evaluar la infectividad, pero no específicamente para muestras de alimentos; ii) la mejora de los métodos de extracción es especialmente necesaria para la detección en frutas y hortalizas; iii) la necesidad de mejora de los métodos para la detección y enumeración en superficies tales como alfombras/tapicería, y potencialmente el aire; iv) la necesidad de claridad para asegurar que los resultados de las pruebas sean adecuados y utilizados apropiadamente para el asesoramiento de políticas de salud pública; v) la necesidad de armonizar las regiones del genoma, ya que actualmente son diferentes para las muestras clínicas y de alimentos lo que conlleva que los resultados no puedan compararse o correlacionarse fácilmente; vi) la normalización de la metodología de secuenciación del genoma completo (WGS) es un objetivo a largo plazo, que puede necesitar muchos años, especialmente cuando se consideran muestras clínicas vs muestras de alimentos; vii) un método de cultivo para los norovirus humanos sería muy útil, pero no se consideró muy factible a corto o mediano plazo.

Finalmente, en el apartado de metodologías de detección de virus en la cadena alimentaria, el grupo de trabajo específico para hepatitis E seleccionó de una manera priorizada las siguientes necesidades de investigación (Tabla 13):

Tabla 13. Necesidades priorizadas en la detección del virus de la hepatitis E.

- 1^a. Desarrollo de un ensayo rápido y económico para la caracterización genética de cepas del virus de la hepatitis E mediante la metodología de secuenciación del genoma completo (WGS).
 - 2^a. Desarrollo y validación de métodos directos e indirectos para la evaluación de la infectividad del virus de la hepatitis E.
 - 3^a. Desarrollo de métodos normalizados y métodos ISO para la detección del virus de la hepatitis E en carne y productos cárnicos.
 - 4^a. Desarrollo de métodos normalizados y método ISO para la detección del virus de la hepatitis E en otras matrices.
 - 5^a. Desarrollo de métodos normalizados para la extracción y detección del virus de la hepatitis E en muestras ambientales.
 - 6^a. Estandarizados de métodos serológicos para detectar anticuerpos del virus de la hepatitis E en cerdos y humanos.
-

En la discusión en torno a la revisión y priorización de la lista de preguntas de investigación se definieron 4 puntos clave: i) El grupo discutió qué métodos se han utilizado para encontrar el virus de la hepatitis E en una muestra alimentaria, y para evaluación cuantitativa del riesgo o para evaluar la infectividad; ii) la metodología de secuenciación del genoma completo (WGS) fue considerada como un método rápido económico; sin embargo, se señaló la importancia de la validación y el intercambio de datos, así como la necesidad de proporcionar una plataforma para la introducción de los mismos; iii) El grupo tomó nota de los retos que planteaba la evaluación de la infectividad debido a la dificultad de cultivar el virus, lo que repercutía

en la viabilidad de su aplicación; y iv) los diferentes métodos dependen de los diferentes alimentos a analizar.

8.3 Prioridades en investigación en el control de los virus entéricos en la cadena alimentaria

En el caso de las necesidades y prioridades relacionadas con las medidas y opciones de control de los norovirus humanos y el virus de la hepatitis A en la cadena alimentaria, el grupo de trabajo seleccionó de una manera priorizada las siguientes opciones (Tabla 14):

Tabla 14. Necesidades priorizadas en las opciones de control de los norovirus humanos y el virus de la hepatitis A.

1^a. Implementación de métodos avanzados para identificar las fuentes de contaminación y priorización de los factores de riesgo de la cadena de suministro de alimentos para mariscos y vegetales para facilitar información en estudios de evaluación del riesgo vírico asociado a los alimentos.

2^a. Identificación y validación de las estrategias de intervención para la descontaminación de norovirus humanos y el virus de la hepatitis A en todas las etapas de la cadena alimentaria para los mariscos y los vegetales.

Finalmente, en el apartado de opciones de control de detección de virus en la cadena alimentaria, el grupo de trabajo específico para hepatitis E seleccionó de una manera priorizada las siguientes necesidades de investigación (Tabla 15):

Tabla 15. Necesidades priorizadas en las opciones de control del virus de la hepatitis E.

- 1^a. Identificación y manejo (incluyendo vacunación y tratamiento) de poblaciones humanas en riesgo (para el virus de la hepatitis E).
 - 2^a. Dinámica del virus de la hepatitis E en la población porcina (en particular, cómo se ve afectada por las prácticas de cría).
 - 3^a. Desarrollo de modelos conceptuales de inactivación térmica del virus de la hepatitis E, y validación en alimentos.
 - 4^a. Desarrollo de estrategias de intervención de vacunas del virus de la hepatitis E en granjas porcinas, incluyendo el desarrollo de vacunas.
 - 5^a. Desarrollo de modelos de evaluación de la exposición humana y dosis-respuesta para el virus de la hepatitis E.
 - 6^a. Efecto de los procesos no térmicos (por ejemplo, curado, fermentación, etc.) de productos cárnicos derivados de cerdo sobre la infectividad de HEV.
-

La justificación para esa priorización y en particular, en las tres primeras opciones se fundamentó en i) la focalización en la población «en riesgo» resolvería la gran proporción de casos humanos y ofrecería el mejor enfoque en términos de coste-beneficio, lo que tendría el valor añadido de aprovechar las iniciativas existentes, como la monitorización en donaciones de sangre; ii) la focalización en el reservorio principal del virus de la hepatitis E (cerdos) centraría el origen del problema y reducirá el riesgo subsiguiente en la cadena alimentaria, lo que también podría proporcionar controles que impactaran en otras rutas de transmisión tales como la contaminación ambiental y permitiría la clasificación de los mercados de importación y exportación y serviría de base para asesorar a la industria en materia de bioseguridad y prácticas

de cría; y finalmente iii) esta selección realizada permitirá la prestación de un asesoramiento concreto tanto a los consumidores como a la industria sobre la cocción de productos cárnicos porcinos, como salchichas, y ofrecerá un método de control potencial para proteger a los consumidores; de esta manera se podría proporcionar un asesoramiento dirigido a los grupos de «riesgo», y los datos generados podrían retroalimentar otras evaluaciones de la exposición y, aunque el modelo inicialmente se dirigiría a los productos cárnicos porcinos, podría perfeccionarse para aplicarse a otros productos alimenticios como los mariscos. Un beneficio adicional sería la posibilidad de protección contra otras zoonosis, aún no identificadas.

8.4 Prioridades globales en investigación en los virus entéricos en la cadena alimentaria

Después de la conclusión de las discusiones, cada grupo presentó brevemente sus conclusiones en una sesión plenaria. De esas prioridades definidas por cada grupo, se seleccionaron para cada área temática las tres primeras, y con la colaboración del resto de expertos se seleccionaron por votación (cada experto sólo podía seleccionar 3 prioridades), las 10 más relevantes a nivel general y las 5 para cada tipo de virus. Así para los **norovirus humanos**, las 5 primeras prioridades fueron (Tabla 16):

Tabla 16. Las 5 prioridades en investigación en los norovirus humanos en alimentos después de la votación por todos los expertos participantes en la reunión.

1^a. Grupo 4: Métodos para evaluar la infectividad de los norovirus humanos tanto en las medidas de control como en el análisis de alimentos.

2^a. Grupo 1: ¿Cómo se relaciona la presencia de norovirus humanos en los alimentos con el riesgo para la salud pública?

3^a. Grupo 6: Implementación de métodos avanzados para identificar las fuentes de contaminación de norovirus humanos y priorizar los factores de riesgo de la cadena de suministro de alimentos para mariscos y vegetales para facilitar información e los estudios de evaluaciones del riesgo vírico asociado a los alimentos.

4^a. Grupo 6: Identificación y validación de las estrategias de intervención para la descontaminación de los norovirus humanos en todas las etapas de la cadena alimentaria para los mariscos y los vegetales.

5^a. Grupo 1: ¿Cuáles son las tendencias en la atribución de las fuentes de norovirus y en la carga de morbilidad, basándose en lo que se ha hecho en el informe de la OMS (FAO/OMS, 2008)?

En el caso del **virus de la hepatitis A**, las 5 primeras prioridades fueron (Tabla 17):

Tabla 17. Las 5 prioridades en investigación en el virus de la hepatitis A en alimentos después de la votación por todos los expertos participantes en la reunión.

1^a. Grupo 6: Implementación de métodos avanzados para identificar las fuentes de contaminación del virus de la hepatitis A y priorizar los factores de riesgo de la cadena de suministro de alimentos para mariscos y vegetales para facilitar información e los estudios de evaluaciones del riesgo vírico asociado a los alimentos.

2^a. Grupo 4: Métodos para evaluar la infectividad del virus de la hepatitis A tanto en las medidas de control como en el análisis de alimentos

3^a. Grupo 6: Identificación y validación de las estrategias de intervención para la descontaminación del virus de la hepatitis A en todas las etapas de la cadena alimentaria para los mariscos y los vegetales.

4^a. Grupo 2: ¿Cuál es la contribución de la transmisión alimentaria en la carga de morbilidad en Europa?

5^a. Grupo 2: Perfil de riesgo para categorías de alimentos, sistemas de producción y procesado de alimentos

En el caso del **virus de la hepatitis E**, las 5 primeras prioridades seleccionadas fueron (Tabla 18):

Tabla 18. Las 5 prioridades en investigación en el virus de la hepatitis E en alimentos después de la votación por todos los expertos participantes en la reunión.

- 1^a. Grupo 5: Desarrollo y validación de métodos directos e indirectos para la evaluación de la infectividad del virus de la hepatitis E.
 - 2^a. Grupo 3: ¿Cuál es la carga del virus de la hepatitis E en las poblaciones humanas en Europa?
 - 3^a. Grupo 5: Desarrollo de métodos normalizados y métodos ISO para la detección del virus de la hepatitis E en carne y productos cárnicos.
 - 4^a. Grupo 3: Filogenias comparadas del virus de la hepatitis E en poblaciones humanas y porcinas, productos alimenticios y cadenas de producción, en los distintos Estados miembros de la Unión Europea.
 - 5^a. Grupo 7: Dinámica del virus de la hepatitis E en la población porcina (en particular, cómo se ve afectada por las prácticas de cría).
-

Finalmente, las 10 prioridades en investigación seleccionadas en la votación por expertos fueron las siguientes:

Tabla 19. Las 10 prioridades en investigación en virus entéricos en alimentos.

- 1^a. Grupo 5: Desarrollo y validación de métodos directos e indirectos para la evaluación de la infectividad del virus de la hepatitis E. (28 votos)
 - 2^a. Grupo 1: ¿Cómo se relaciona la presencia de norovirus humanos en los alimentos con el riesgo para la salud pública (27 votos)
 - 3^a. Grupo 4: Métodos para evaluar la infectividad de los norovirus humanos y el virus de la hepatitis A tanto en las medidas de control como en el análisis de alimentos. (26 votos)
 - 4^a. Grupo 5: Desarrollo de métodos normalizados y métodos ISO para la detección del virus de la hepatitis E en carne y productos cárnicos. (24 votos)
 - 5^a. Grupo 3: ¿Cuál es la carga del virus de la hepatitis E en las poblaciones humanas en Europa? (23 votos)
 - 6^a. Grupo 6: Implementación de métodos avanzados para identificar las fuentes de contaminación de norovirus humanos y el virus de la hepatitis A y priorizar los factores de riesgo de la cadena de suministro de alimentos para mariscos y vegetales para facilitar información e los estudios de evaluaciones del riesgo vírico asociado a los alimentos (22 votos)
 - 7^a. Grupo 6: Identificación y validación de las estrategias de intervención para la descontaminación de los norovirus humanos y el virus de la hepatitis A en todas las etapas de la cadena alimentaria para los mariscos y los vegetales. (14 votos)
 - 8^a. Grupo 3: Filogenias comparadas del virus de la hepatitis E en poblaciones humanas y porcinas, productos alimenticios y cadenas de producción, en los distintos Estados miembros de la Unión Europea (13 votos)
 - 9^a. Grupo 7: Desarrollo de modelos conceptuales de inactivación térmica del virus de la hepatitis E, y validación en alimentos. (12 votos)
 - 10^a. Grupo 7: Dinámica del virus de la hepatitis E en la población porcina (en particular, cómo se ve afectada por las prácticas de cría). (11 votos)
-

Es remarcable que, de las 10 prioridades en investigación seleccionadas en el marco de esta reunión internacional de expertos, el 60% se centrasen en el estudio del virus de la hepatitis E, tanto en su epidemiología, como en su detección y control. Esto pone de manifiesto su especial carácter emergente y lo define como un nuevo peligro microbiológico en los alimentos. Por ello, la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA), en su panel de peligros biológicos, ha creado el año pasado, en agosto de 2016, un grupo de trabajo (EFSA-Q-2016-00315 «*Public health risks associated with Hepatitis E Virus as a food-borne pathogen*») sobre los riesgos en salud pública asociados al virus de la hepatitis E como patógeno alimentario.

Las conclusiones de esta reunión subrayan que las prioridades más importantes en el estudio de los virus en la cadena alimentaria son el desarrollo y la validación de métodos para evaluar la infectividad del virus de la hepatitis E, el establecimiento de la relación entre la detección de norovirus en los alimentos y el riesgo para la salud pública, el desarrollo de métodos de evaluación de los norovirus y del virus de la hepatitis A y su infectividad en muestras de alimentos, la normalización de los métodos de detección del virus de la hepatitis E en la carne y los productos cárnicos y la determinación de la carga de la hepatitis E en las poblaciones humanas de Europa.

Todas estas conclusiones quedaron plasmadas en el informe final «*Summary Report of Joint Scientific Workshop on Foodborne Viruses*»⁵⁰⁷.

9. CONCLUSIONES

Como he tratado de presentar en este discurso, los virus entéricos representan un serio problema en Salud Pública tanto por el número de casos que provocan en países en vías de desarrollo y en países industrializados, como por el coste económico asociado a su tratamiento. Asimismo, el potencial zoonótico de algunos de ellos, como es el caso particular del virus de la hepatitis E, les confiere además un carácter emergente.

Ese elevado impacto asistencial y económico asociado a su carácter emergente ha provocado que tanto científicos como instituciones en Salud Pública centren sus esfuerzos en su detección y control. Existe una clara evidencia de que los datos existentes sobre su prevalencia pueden estar subestimados por la falta de métodos robustos para su detección sensible. Por otro lado, es también necesario conocer exactamente cuál es su incidencia en las diferentes etapas de la cadena de producción alimentaria, y en especial en aquella que se dedica a la transformación de productos de origen animal. Finalmente, es preciso además calibrar los procedimientos actuales de desinfección en la industria alimentaria para poder establecer de una manera fehaciente una evaluación cuantitativa del riesgo vírico en los alimentos.

Por otro lado, como ya se ha indicado anteriormente, algunos presentan un potencial zoonótico, el cual está asociado a especies de

abasto con elevado impacto ambiental por su sistema de producción intensiva, lo que confiere al medio ambiente un papel muy relevante en la transmisión de los virus entéricos.

Es necesario, por tanto, articular de una forma coordinada esos tres pilares; el control en la producción primaria (sanidad animal), en la comunidad (sanidad humana) y en el medio ambiente (sanidad ambiental). La forma más efectiva de realizarlo es aplicando una aproximación global basada en una estrategia de «UNA SALUD».



Figura 38. Pilares de la estrategia «UNA SALUD».

Un ejemplo paradigmático en este sentido es el virus de la hepatitis E. Entre las necesidades prioritarias en su investigación se reflejan aspectos asociados a esto tres pilares: la dinámica del virus en la

población porcina y en particular cómo se ve afectada por las prácticas de cría, el desarrollo y validación de metodologías para su inactivación en los alimentos, el desarrollo de métodos armonizados para su detección en carne y productos cárnicos y para la evaluación de su infectividad, la caracterización de su incidencia en humanos, y la relación entre las cepas en poblaciones humanas y porcinas, productos alimenticios y cadenas de producción. Es incuestionable que estas prioridades abarcan aspectos tanto ambientales, de producción primaria y del procesado de alimentos, y de labor asistencial, pero es innegable también, que cada una de ellas, de una manera aislada no puede solucionar el problema en su conjunto. Se requiere, por tanto, su aplicación de una manera conjunta y coordinada para conocer tanto cómo controlar el foco zoonótico de la infección (el ganado porcino), la evaluación cuantitativa del riesgo asociado a los alimentos, y el efecto en la población. Esto subraya al virus de la hepatitis E como un ejemplo evidente de la estrategia «UNA SALUD», en la cual como en otros casos, el papel del veterinario deber ser esencial.

HE DICHO

Muchas gracias

10. REFERENCIAS

1. RAE (2001) *Diccionario de la lengua Española*. 21ª Ed. Espasa Calpe, Madrid: p. 2307.
2. Anónimo (1990) *Diccionario Teminológico de Ciencias Médicas*, 12ª Ed. Salvat, BVarcelona: p. 1188.
3. Collier (2010) En: Topley, W.W.C. (ed) *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections* Wiley: pp. 4629-4636.
4. Dimmock et al. (2016) En: *Introduction to Modern Virology*, 7th Ed. Willey and Sons; Chichester: pp. 3-12
5. Bidawid et al. (2009) *Food Environ Virol* 1: 1-2.
6. Cliver (2010) *Food Environ Virol* 2: 1-23.
7. Breitbart et al. (2003) *J Bacteriol* 185: 6220-6223.
8. Zhang et al. (2006) *PLoS Biol* 4: 108-118.
9. de Roda Husman & Bartram (2008). En Bosch A. (ed) *Human Viruses in Water*. Elsevier, Amsterdam: pp 127-162.
10. Rzeżutka & Cook (2004) *FEMS Microbiol Rev* 28: 441-453.
11. Thompson et al (2003) *Water Environ Res* 75: 163-170.
12. Van den Berg et al. (2005) *Res Microbiol* 156: 532-40.
13. Vantarakis & Papapetropoulou (1999) *Water Air Soil Pollut* 114: 85-93.
14. Koopmans et al. (2002) *FEMS Microbiol Rev* 26: 187-205.
15. La Rosa et al. (2007) *Appl Environ Microbiol* 73: 4152-4161
16. Metcalf et al. (1995) *Annu Rev Microbiol* 49: 461-487.
17. Muscillo et al. (1997) *Water Res* 31: 1980-1984.
18. Yates et al. (1985) *Appl Environ Microbiol* 49: 778-781.
19. Lindesmith et al. (2003) *Nat Med* 9: 548-553.
20. Teunis et al. (2008) *J Med Virol* 80: 1468-76.
21. Havelaar & Melse (2003) RIVM, Bilthoven The Netherlands.
22. Hutson et al. (2002) *J Infect Dis* 185:1335-1337.
23. Shirato (2011) *Jpn J Infect Dis* 64: 95-103.
24. Dubois et al. (1997) *Appl Environ Microbiol* 63: 1794-1800.
25. Lodder & de Roda Husman (2005) *Appl Environ Microbiol* 71: 1453-1461.
26. Muscillo et al. (2001) *Water Res* 35: 548-556.
27. McKinney et al. (2006) *J Environ Health* 68: 26-30.
28. Asano & Cotruvo (2004) *Water Res* 38: 1941-1951.
29. Baggi et al. (2001) *Res Microbiol* 152: 743-751.
30. Gantzer et al. (1998) *Appl Environ Microbiol* 64: 4307-4312.
31. Espinosa et al. (2008) *Water Res* 42: 2618-2628.
32. Le Cann et al. (2004) *Res Microbiol* 155: 11-15.
33. Raphael et al. (1985) *Can J Microbiol* 31: 124-128.
34. Richards (2001) *J Ind Microbiol Biotechnol* 27: 117-125.
35. Van Zyl et al. (2006) *Appl Environ Microbiol* 72: 4554-4560.
36. Scallan et al. (2011) *Emerg Inf Dis* 17: 7-15.
37. Mishiro (2004) *Uirusu* 54: 243-248.
38. Tei et al. (2004) *J Med Virol* 74:67-70.
39. Lopman et al. (2004) *Emerg Infect Dis* 10: 1827-1834.
40. Baert et al. (2009) *Int J Food Microbiol* 131: 83-94.
41. Ward & Irving (1987) *Water Res.* 21: 57-63.
42. Tierney et al., 1982
43. De Roda-Husman & Bouwnegt (2013) En Cook (ed) *Viruses in food and water*. Woodhead: pp. 159-176
44. ICMSF (1996) *Microorganisms in Foods* 5. Blackie Academic & Professional
45. Allos (2001) *Clin Infect Dis.* 32: 1201-1216.
46. Wallace et al. (2000) *J Food Prot* 63: 807-809.
47. Anónimo (2010) *Morb. Mortal Wkly Rep* 59: 973-979.
48. Scallan et al. (2011) *Emerg Infect Dis* 17: 7-15.

49. Scallan (2011) *Emerg Infect Dis* 17: 16-22.
50. D'Agostino & Rodriguez-Lazaro (2009) *En Barbosa-Cánovas et al (eds) Global Issues in Food Science and Technology*. Elsevier.
51. Bryan (1982) CDC, Center for Professional Development and Training. Atlanta.
52. Mead et al. (1999) *Emerg Infect Dis* 5: 607-625.
53. CAST (1994). Task Force Report No. 122, Washington: Council for Agricultural Science & Technology.
54. WHO (2015) WHO, Ginebra.
55. Scharff (2012) *J Food Prot* 75: 123-131.
56. Adak et al. (2005) *Emerg. Infect. Dis.* 11: 365-72.
57. Hall et al. (2005) *Emerg. Infect. Dis.* 11: 1257-64.
58. Buzby et al. (2001) *Product Liability and Microbial Foodborne Illness*. Agricultural Economic Report No. (AER799).
59. Jubb, G. 1915. *Lancet* i:67.
60. Enders et al., (1949) *Science* 109: 85-87.
61. Aycok (1927) *Am J Hyg* 7: 791-803.
62. Dingman (1916) *NY State J. Med.* 16: 589-590.
63. Goldstein et al. (1946) *JAMA* 131: 569-573.
64. Heidelbaugh & Giron (1969) *J Food Sci* 34: 239-241.
65. Knapp et al. (1926) *JAMA* 87: 635-639.
66. Lipari (1951) *NY State J Med* 51: 362-369.
67. Mathews (1949) *Am J Hyg* 49 :1-7.
68. Piszczeket al. 1941) *JAMA* 117: 1962-1965.
69. Hargreaves (1949) *Lancet* i:972.
70. Mosley (1967) *En G. Berg (ed.), Transmission of Viruses by the Water Route*. Interscience, New York: pp. 5-23.
71. Dienstag (1981) *Hum Pathol* 12: 1097-1106.
72. Campbell (1943) *Health Bull (Edinburgh)* 2: 64.
73. Roos B (1956) *Svenska Lakartidningen* 53: 989-1003.
74. Cook & Rzezutka (2006) *En: Motarjemi & Adams (Eds.) Emerging Foodborne Pathogens*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge. pp 282-308.
75. Koopmans & Duizer, E. (2004). *Int. J. Food Microbiol.* 90 23-41.
76. Rodríguez-Lázaro D, et al (2012) *FEMS Microbiol. Rev.* 36: 786-814.
77. Hoffmann et al. (2012) *J Food Prof.* 75: 1292-1302.
78. EFSA (2016) *EFSA J* 14: 4634
79. EFSA (2015) *EFSA J* 13: 4329
80. Pintó & Bosch (2008) *En Koopmans et al. (eds) Foodborne Viruses: Progress and challenges*, ASM Press, Washington
81. FAO/OMS (2008) *Documento CX/FH 08/40/9*
82. EFSA (2011) *EFSA J* 9: 2190
83. EFSA (2012) *EFSA J* 10: 2500
84. EFSA (2014) *EFSA J* 12: 3706
85. FAO/OMS (2012) *Doc CAC/GL 79-2012*
86. www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2011
87. Atmar & Estes (2006) *Gastroenter Clin North America* 35: 275-90.
88. Oliver et al (2006) *Virology* 350: 240-250.
89. Greening GE (2006) *En: Goyal SM (Ed). Viruses in Foods*. Springer: pp. 5-42.
90. Patel et al. (2009) *J Clin Virol* 44: 1-8.
91. Patel et al. (2008) *Emerg Inf Dis* 14: 1224-1231.
92. Hansman et al. (2007) *Emerg Inf Dis* 13: 786-788.
93. Khamrin et al. (2007) *J Med Virol* 79: 1921-1926.
94. Monica et al. (2007) *J Med Virol* 79: 544-551.
95. Shigemoto et al. (2011) *Microbiol Immunol* 55: 369-372.
96. Johansson et al. (2005) *Scand J Infect Dis.* 37: 200-204.

97. Hansman et al. (2007) *Emerg Inf Dis* 13: 620-622.
98. Hansman et al. (2007) *Emerg Inf Dis* 13: 133-135
99. Kapikian et al. (1972) *J Virol* 10: 1075-1081.
100. Adler & Zickel (1969) *J Inf Dis* 11: 668-673.
101. Prasad et al. (1994) *J. Virol.* 68, 8: 5117-5125
102. Prasad et al (1999) *Science.* 286, 5438: 287-290
103. Donaldson et al. (2010) *Nature Rev Microbiol* 8: 231-241
104. Jiang et al. (1992) *J Virol.* 66: 6527-6532.
105. Baric et al. (2002) *J Virol* 76: 3023-3030.
106. Green et al (1993) *J Clin Microbiol*, 31: 2185-2191.
107. White et al. (1996) *J Virol* 70: 6589-6597.
108. Hutson Aet al. (2002) *J Infect Dis* 185:1335-1337.
109. Zheng et al. (2006) *Virol* 346: 312-323.
110. Atmar (2010) *Food Environm Virol* 2: 117-126
111. La Rosa et al. (2008) *Arch Virol* 153: 2077-2083
112. Mattison et al. (2002) *Emerg Inf Dis* 13: 1184-1188
113. Cheetham et al. (2006) *J Virol* 80: 10372-10381
114. Souza et al. (2008) *J Virol* 82: 1777-1786
115. Verhoef et al. (2010) *Emerg Infect Dis* 16:617-624.
116. Capizzi et al (2011) *BMC Inf Dis* 11:131.
117. Teunis et al. (2008) *J Med Virol* 80: 1468-1476
118. Guadagnucci et al. (2011) *Revista Associação Med Brasileira*, 57: 462-467
119. Dolin et al. (1982) *J Infect Dis.* 146:184-189.
120. Green (2007) *En Knipe et al. (eds) Fields Virology Philadelphia: pp 949-979.*,
121. Wyatt et al., 1974
122. Lopman et al. (2002) *Euro Surveill* 7: 61-65.
123. Johnson et al. (1990) *J Inf Dis* 161: 18-21
124. Rockx et al. (2005) *J Inf Dis* 191: 749-754
125. Koopmans et al. (2003) *Emerg Inf Dis* 9: 1136-1142.
126. Rockx et al. (2002) *Clin Inf Dis* 35 3: 246-253
127. Murata et al. (2007) *Ped Inf Dis J* 26: 46-49
128. Kirkwood & Streitberg (2008) *J Clin Virol* 43: 346-348
129. Marks et al. (2000) *Epidemiol Inf* 124 3: 481-487
130. Marks et al (2003) *Epidemiol Inf* 131: 727-736
131. Rutjes et al. (2006) *Appl Environm Microbiol* 72: 5349-5358
132. D'Souza et al. (2006) *Int J Food Microbiol* 108: 84-91
133. Wu et al. (2005) *Inf Cont Hosp Epidemiol* 26: 802-810
134. Duizer et al. (2004) *Appl Environ Microbiol* 70: 4538-4543.
135. Jimenez & Chiang (2006) *Am J Infect Control* 34: 269-273.
136. Whitehead & McCue (2009) *Am J Infect Control* 38: 26-30.
137. Cannon & Vinjé (2008) *Appl Environm Microbiol* 74: 6818-6819.
138. Lamhoujeb et al. (2008) *Appl Environm Microbiol* 74: 3349-3355.
139. Cheesbrough et al (2000) *Epidemiol Infect* 125: 93-98.
140. Clay et al (2006) *Am J Infect Control* 34: 41-43.
141. D'Souza et al. (2006) *Int J Food Microbiol* 108: 84-91
142. Kuusi et al. (2002) *Epidemiol Infect* 129: 133-138.
143. Lamhoujeb et al. (2009) *Food Environ Virol* 1: 51-56.
144. Taku et al. (2002) *J Food Prot* 65: 999-1004
145. Hewitt et al. (2007) *Appl Environ Microbiol* 73: 7853-7857.
146. Maunula et al. (2005) *Emerg Infect Dis* 11: 1716-1721.
147. Nygård et al. (2003) *Emerg Infect Dis* 9: 1548-52.
148. ter Waarbeek et al. (2010) *J Clin Virol* 47: 268-272.
149. Hoebe et al. (2004) *J Infect Dis* 189: 699-705.
150. Maunula et al. (2004) *Epidemiol Infect* 132: 737-743.

151. Sartorius et al. (2007) *Scand J Infect Dis* 39: 323-331.
152. da Silva et al. (2007) *Appl Environ Microbiol* 73: 7891-7897
153. La Rosa et al. (2007) *Appl Environ Microbiol* 73: 4152-4161
154. Nordgren et al. (2009) *Water Res* 43: 1117-1125.
155. Skrabber et al. (2009) *Water Res* 43: 4780-4789.
156. Allwood et al. (2003) *Appl Environ Microbiol* 69: 5707-5710.
157. Bae & Schwab (2008) *Appl Environ Microbiol* 74: 477-484.
158. Kadoi & Kadoi (2001) *New Microbiol* 24: 17-21
159. Muniain-Mujika et al. (2002) *Int J Food Microbiol* 77: 125-33.
160. Webby (2007) *Clin Infect Dis* 44: 1026-31.
161. Hansman et al. (2007) *Emerg Inf Dis* 13: 786-788
162. Panget et al. (2009) *J Inf Dis* 199: 547-551
163. Soraka et al. (2010) *J Clin Microbiol* 48: 2191-2198
164. Green et al. En: Knipe et al. (eds) *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins: pp. 841-873
165. Oka et al. (2012) *Arch Virol* 157: 349-345
166. Farkas et al. (2004) *Arch Virol* 149: 1309-1323
167. Reuter et al. (2010) *J Clin Microbiol* 48: 363-368
168. Wang et al. (2005) *J Clin Microbiol* 43: 5963-5972
169. Martella et al. (2008) *J Clin Microbiol* 46: 1907-1913
170. Reuter et al. (2010) *J Clin Microbiol* 48: 363-368
171. Nakagawa-Okamoto et al (2009) *J Inf Dis* 62: 63-66
172. Hansman et al (2007) *Emerg Inf Dis* 13: 133-135
173. Ueki et al. (2010) *Microbiol Immunol* 54: 483-486
174. Iizuka et al (2010) *J Med Virol* 82: 1247-1254
175. Hansman et al. (2007) *Emerg Inf Dis* 13: 620-622
176. Haramoto et al. (2008) *Lett Appl Microbiol* 46: 408-413
177. Sano et al (2011) *Appl Environ Microbiol* 77: 1111-1114
178. Kitajima et al. (2010) *Appl Environ Microbiol* 76: 2461-2467
179. Kitajima et al. (2011) *Appl Environ Microbiol* 77: 4226-4229
180. Previsani et al (2004) En: Mushahwar (ED) *Viral Hepatitis Molecular Biology, Diagnosis, Epidemiology and Control*. Elsevier: pp. 1-30.
181. Costa-Mattioli (2001) *J Med Virol* 65:233-240
182. Lemon & Binn (1983) *Infect Immun* 42:418-420
183. Robertson (1992) *J Gen Virol* 73:1365-1377
184. Hollinger (2007) En: Knipe et al. (eds) *Fields virology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
185. Sánchez et al (2003) *J Virol* 77: 452-459
186. Nainan et al. (2006) *Clin Microbiol Rev* 19: 63-79
187. Costa-Mattioli et al. (2002) *J Virol* 76:9516-9525
188. Lu et al. (2004) *J Gen Virol* 85:2943-2952
189. Sánchez et al. (2002) *J Clin Microbiol* 40:4148-4155
190. Pérez-Sautu et al. (2011) *J Clin Virol* 52: 98-102.
191. Issa & Mourad (2001) *J Med Liban* 49: 61-65.
192. Scharff (2012) *J Food Prot* 75: 123-131.
193. Daniels et al. (2009) *Morbid Mortal Week Rep. Suro Summ* 58: 1-27
194. Jacobsen & Koopman (2004) *Epidemiol Infect* 132:1005-1022.
195. Noble et al. (1984) *JAMA* 252: 2711-2725
196. Cotter et al. (2003) *J. Inf Dis* 187: 1235-1240
197. Pinto et al. (2010) *Food Environm Virol* 2: 127-135
198. Wheeler et al. (2005) *N Engl J Med* 353(9):890-897
199. Jacobsen & Wiersma (2005) *Vaccine* 28: 6653-6657
200. Bosch A (1998) *Int Microbiol* 1: 191-196.
201. Cook & Rzezutka (2006) En: Motarjemi & Adams (eds) *Emerging foodborne pathogens*. Woodhead, Cambridge: pp. 282-308
202. Divizia et al. (2004) *Water Sci Technol* 50: 57-61

203. Dentinger et al. (2001) *J Infect Dis* 183(8):1273–1276
204. Hutin et al. (1999) *N Engl J Med* 340: 595–602
205. Lees (2010) *Food Environ Virol* 2: 146–155
206. Nygård et al. (2001) *Euro Surveil* 6: 151–153.
207. Pebody et al. (1998) *Epidemiol Infect* 120: 55–59.
208. Tallon et al. (2008) *Appl Environ Microbiol* 74: 6158–6160
209. Enriquez et al. (1995) *Water Res* 29: 2548–2553.
210. Springthorpe et al. (1993) *Water Sci Technol* 27: 413–420.
211. Sobsey et al. (1989) *Water Sci Technol* 10: 97–106.
212. Crance et al. (1998) *Env Tox Water Quality* 13: 89–92.
213. Van Boxstael et al. (2013) *Food Control* 32:190–197
214. CDC (2003) *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 52: 1155–1157
215. Milazzo & Vale S (2005) *New Engl J Med* 353: 2300–2301
216. Wang & Moran (2004) *Ann Emerg Med* 43:660–663
217. Weltman et al. (1996) *Epidemiol Infect* 117:333–341
218. Schmid et al. (2009) *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 28(4):385–391.
219. Robesyn et al. (2009) *J Clin Virol* 44(3):207–210.
220. Petriagnani et al. (2010) *Eurosurveillance* 15(20)
221. Boxman et al. (2012) *Appl Environ Microbiol*. 78: 878–879
222. Bishop et al. (1973) *Lancet* 2: 1281–1283.
223. Black et al. (1993) *Vaccine*, 11, 100–106.
224. Kapikian et al. (1976) *N Engl J Med*, 294, 965–72.
225. Ryder et al. (1986) *J Infect Dis* 153: 1139–44.
226. Butler (2011) *Nature* 477: 519.
227. Glass et al. (2006) *Lancet* 368: 323–32.
228. Tate et al. (2012) *Lancet Infect Dis*, 12: 136–41.
229. Anderson & Weber (2004) *Lancet Inf Dis* 4: 91–99
230. Martella et al. (2010) *Vet Microbiol*, 140: 246–55.
231. Estes et al. (2007) En Knipe et al. (eds) *Fields Virology*. Lippincott, Williams and Wilkins
232. Ruggeri et al. (1991) *J Virol* 65: 2211–2219.
233. Estes et al. (1981) *J Virol*, 39, 879–88.
234. Angel et al. (2000) *Nat Rev Microbiol* 5: 531
235. Settembre et al. (2011) *EMBO J* 30: 408–16.
236. Matthieu et al. (2001) *EMBO J* 20: 1485–97.
237. Tarlow & McCrae (1990) *Nucleic Acids Res*, 18, 4921.
238. Farming (2007) *Expert Rev Anti Infect Ther*. 5: 591–612
239. Baker & Prasad (2010) *Curr Top Microbiol Immunol*, 343: 121–48.
240. Charpilienne et al. (2002) *J Virol*, 76, 7822–31.
241. Lawton et al. (1997) *Nat Struct Biol*, 4, 118–21.
242. Estes & Greenberg (2013) En: Knipe et al. (eds.) *Fields virology*. Kluwer/Lippincott, Williams and Wilkins; pp. 1348–401.
243. Bridger et al. (1986) *J Clin Microbiol* 23: 760–3.
244. Chen et al. (1985) *Lancet* 2: 1123–1124.
245. Parashar et al. (2006) *Emerg Infect Dis* 12: 304–306.
246. Sánchez-Padilla et al. (2009) *Lancet Infect Dis* 9: 567–576.
247. Parashar et al. (2009) *J Infect Dis*. 2009 Nov 1;200 Suppl 1:S9–S15.
248. Cook et al. (2004) *J Infect* 48: 289–302.
249. Bányai et al. (2009) *J Infect* 59: 213–215.
250. Greenberg et al. (1983) *Infect Immun* 39: 91–99.
251. Hoshino et al. (1987) *Virol* 157: 488–496.
252. Svensson et al. (1988) *J Clin Microbiol* 26:1238–1240.
253. Taniguchi et al. (1984) *J Med Virol* 14: 115–125.
254. Esona et al. (2010) *Emerg Infect Dis* 16: 1844–1852.

255. Matthijnssens et al. (2011) *Arch Virol* 156: 1397–413.
256. Banyai et al. (2012) *Vaccine* 30: A122–30.
257. Bernstein (2009) *Pediatr Infect Dis J* 28: S50–3.
258. Cortese & Parashar (2009) *MMWR Recomm Rep* 58: 1–25.
259. Estes et al. (2001) *Novartis Found Symp* 238: 82–96.
260. Bishop RF. (1996) *Arch Virol Suppl* 12: 119–128.
261. Velazquez et al. (1996) *N Engl J Med* 335: 1022–8.
262. Carlson et al. (1978) *Am J Dis Child* 132: 477–479.
263. Yolken & Wilde (1994) *En: Kapikian (ed) Viral infections of the gastrointestinal tract. Marcel-Dekker, New York: pp. 251–78.*
264. Parashar et al. (2006) *MMWR Recomm Rep*, 55: 1–13.
265. Widdowson et al. (2007) *Pediatrics* 119: 684–97.
266. Iturriza-Gomara et al. (2004) *J Clin Virol*, 31: 259–265.
267. Kang et al. (2005) *J Infect Dis* 192: S120–126.
268. Steyer Aet al. (2008) *J Gen Virol* 89: 1690–1698.
269. Hurst & Gerba (1980) *Appl Environ Microbiol* 39: 1–5.
270. Fujioka & Yoneyama (2002) *Water Sci Technol* 46: 291–295.
271. Lytle & Sagripanti (2005) *J Virol* 79: 14244–14252.
272. Le Guyader et al. (2000) *Appl Environ Microbiol* 66: 3241–3248.
273. Rutjes et al. (2009) *J Appl Microbiol* 107: 97–105
274. Koroglu et al. (2011) *New Microbiol* 34: 17–24
275. Steyer et al (2011) *Int J Hyg Environ Health* 214: 392–398
276. John & Rose (2005) *Environ Sci Technol* 39: 7345–7356.
277. Brassard et al. (2012) *Appl Environ Microbiol* 78: 3763–3766
278. Le Guyader et al. (2008) *J Clin Microbiol* 46 12: 4011–4017
279. Craun et al. (2010) *Clin Microbiol Rev* 233: 507–528
280. Jiang (2006) *Environ Sci Technol* 40: 7132–7140
281. Rowe et al. (1953) *Proceed Soc Exp Biol Med* 84: 570–573
282. Mena & Gerba (2009) *Rev Environ Contam Toxicol* 198: 133–167.
283. Khare et al. (2011) *Curr Gene Therapy* 11: 241–258
284. Russell (2009) *J Gen Virol* 90: 1–20
285. Berk (2005) *Oncogene*, 24: 7673–7685
286. Hall et al. (2010) *Biochem J* 431: 321–336
287. Vellinga et al. (2005) *J Gen Virol* 86: 1581–1588.
288. Scherer & Vallee (2011) *Viruses* 3: 1417–1431.
289. Calcedo et al. (2009) *J Virol* 83: 2623–2631.
290. Echavarría et al. (2001) *Lancet* 358: 384–385
291. Roy et al. (2009) *PLoS Pathog* 5: e1000503.
292. Neumann et al. (1987) *Virus Res* 7: 93–97
293. Foy (1997) *En: Evans & Kaslow (eds.) Viral infections of humans: epidemiology and control , 4th Ed. Plenum Publishing Corporation , New York: pp. 119 – 138*
294. Akihara et al. (2005) *Arch Virol* 150: 2061–2075
295. Kajon et al. (2010) *J Clin Microbiol* 48: 1438–1441
296. Akiyoshi et al. (2011) *Japan J Inf Dis* 64: 353–355
297. Ghanaïem et al. (2011) *Pediatr Inf Dis J* 30: 948–952
298. Haramoto et al. (2007) *J Appl Microbiol* 103: 2153–2159
299. Bofill-Mas et al. (2006) *Appl Environ Microbiol* 72: 7894–7896.
300. Maunula et al. (2012) *J Water Health* 10: 87–99
301. Harley et al. (2001) *Commun Dis Intellig* 25: 9–12
302. Artieda et al (2009) *Eurosurveillance*. 14: 19125.
303. Kukkula et al. (1997) *Scand J Inf Dis* 29: 415–418
304. Räsänen et al. (2010) *Epidemiol Inf* 138: 1227–1234
305. Thurston-Enriquez et al. (2003) *Appl Environ Microbiol* 69: 577–582.

306. Cheong et al. (2009) *Appl Environ Microbiol* 75: 7745-7751
307. Choo & Kim (2006) *J Microbiol* 44: 162-170
308. La Rosa et al. (2012) *New Microbiol* 35: 27-34
309. Lu et al. (2006) *Rev Med Microbiol* 16: 5-36.
310. Rutjes et al. (2009) *Emerg Infect Dis* 15: 381-387.
311. Guthmann et al. (2006) *Clin Infect Dis* 42:1685-1691.
312. Rutjes et al. (2006) *J Food Prot* 69: 1949-1956.
313. Rutjes et al. (2007) *J Virol Methods* 143: 112-116.
314. Reuter et al. (2009) *J Clin Virol* 44: 277-281.
315. Di Bartolo et al. (2012) *Emerg Infect Dis*. 18: 1282-1289.
316. Tei et al. (2003) *Lancet* 362: 371-373.
317. Li et al. (2005) *Emerg Inf Dis* 11: 1958-1960.
318. Miyashita et al. (2012) *Hepato Res.* 42: 870-878.
319. Brassard et al. (2012) *Appl Environ Microbiol* 78: 3763-3766
320. Guix et al. (2002) *J Clin Microbiol* 40: 133-139.
321. Mendez & Arias (2007) Rn Knipe et al. (eds) *Fields virology, 5th ed. Lippincot William and Wilkins, Philadelphia: pp.* 981-1000.
322. Gabbay et al. (2007) *J Med Virol* 79: 530-538.
323. Le Guyader et al. (2008) *J Clin Microbiol* 46: 4011-4017
324. Domínguez et al. (2008) *J Clin Virol* 43: 126-131.
325. Smith et al. (2006) *Epidemiol Infect* 134: 1141-1149.
326. Kapoor et al. (2009) *J Gen Virol* 90: 2965-2972.
327. Stanway et al. (2005) EFauquet et al. (eds) *8th Report of the International Committee on Taxonomy Viruses Elsevier, London: pp* 757-778
328. Moore et al (1984) *Public Health Report* 99: 515-522.
329. Savolainen et al. (2001) *Arch Virol* 146: 521-537.
330. Donaldson et al. (2002) *Water Res* 36: 2505-2514.
331. Williamson et al. (2011) *Water Sci Technol* 63: 1744-1751
332. Amdiouni et al. (2012) *Lett Appl Microbiol* 54: 359-66.
333. Gabrieli et al. (2007) *New Microbiol*. 30: 471-5.
334. Mesquita et al. (2011) *Food Microbiol*. 28: 936-41.
335. Amvrosieva et al. (2001) *Cent Eur J Public Health*. 9:154-7.
336. Rodríguez-Lázaro et al. (2012) *FEMS Microbiol Rev* 36: 786-814.
337. Griffin et al. (2003) *Clin Microbiol Rev* 16: 129-143.
338. Guillois-Bécel et al. (2009) *Euro Surveill* 14: 19144.
339. Suffredini et al. (2008) *Lett Appl Microbiol* 47: 467-474.
340. Jiménez-Clavero et al. (2003) *Appl Environ Microbiol* 69: 6311-6315.
341. Ley et al. (2002) *Appl Environ Microbiol* 68: 3455-3461.
342. Jiménez-Clavero et al. (2005) *Appl Environ Microbiol* 71: 3536-3543.
343. Taylor et al. (2001) *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356: 983-989
344. Kruse et al. (2004) *Emerg Infect Dis* 10: 2067-2072.
345. Jongbloed et al. (1998) *J Anim Sci* 76: 2641-2648.
346. Davanzo et al. (2008) *Am J Infect Control* 36:753-756.
347. Aitken & Jeffries (2001) *Clin Microbiol Rev* 14: 528-546.
348. Lopman et al. (2004) *Emerg Infect Dis* 10: 1827-1834.
349. Clark et al. (1985) *Am J Public Health* 75: 83-85.
350. De Serres & Laliberte (1997) *Occup Environ Med* 54: 60-62.
351. Divizia et al. (2008) *New Microbiol* 31: 337-341.
352. Heng et al. (1994) *Epidemiol Infect* 17: 162-166.
353. Weldon et al. (2000). *J. Occup. Environ. Med.* 42, 821-826.
354. Katzenelson et al. (1976) *Science* 194: 944-946.
355. World Health Organisation (2006) *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Volume 2: Wastewater use in agriculture.*
356. Olsen et al. (2002) *Emerg Infect Dis* 8: 814-819.

357. Baker & Gray (2009) *J Am Vet Med Assoc* 234: 1271-1278.
358. de Roda Husman & Bartram (2008) Rn Bosch (ed) *Human Viruses in Water*. Elsevier, Amsterdam: pp 127-162.
359. Lodder et al. (2010) *Appl Environ Microbiol* 76: 5965-5971.
360. Rutjes et al. (2009) *J Appl Microbiol* 107:97-105.
361. Teunis et al. (2009) *Water Res* 43: 395-404.
362. Pesaro et al. (1995) *Appl Environ Microbiol* 62: 92-97.
363. Barker & Jones (2005) *J Appl Microbiol* 99: 339-347
364. Petterson et al. (2001) *Water Environ Res* 73: 667-672.
365. Carducci et al. (1995) *Lett Appl Microbiol* 21: 207-209.
366. Boone & Gerba (2007) *Appl Environ Microbiol* 73: 1687-1696.
367. Abad et al. (1994) *Appl Environ Microbiol* 60: 3704-3710.
368. Vasickova et al. (2010) *Issues Concerning Survival of Viruses on Surfaces*. *Food Environ Virol* 2: 24-34
369. Wu et al. (2005) *Infect Control Hosp Epidemiol* 26: 802-810.
370. Boxman et al. (2009a) *J Food Prot* 72: 111-119.
371. Ansari et al. (1988) *J Clin Microbiol* 26: 1513-1518
372. Ansari et al. (1991) *J Clin Microbiol*. 29: 2115-2119.
373. Kuo et al. (2009) *J Food Prot* 72: 193-196.
374. Verhoef et al. (2008) *Euro Surveill*. 13: 18899.
375. Vivancos et al. (2009) *Int J Infect Dis* 13: 629-635.
376. World Health Organization and Food and Agriculture Organization (2008) *Viruses in Food: Scientific advice to support risk management activities*. Geneva, Switzerland.
377. Rodríguez-Lázaro et al. (2009) En: Barbosa-Cánovas et al. (eds) *Global Issues in Food Science and Technology*. Elsevier.
378. Appleton (2000) *Br Med Bull* 56: 172-183.
379. Urbanucci (2009) *Int J Food Microbiol* 135: 175-178.
380. Boxman et al. (2009) *J Food Prot* 72:1753-5.
381. D'Souza et al. (2006) *Int J Food Microbiol* 108: 84-91.
382. Dreyfuss (2009) *Foodborne Pathog Dis* 6: 1219-1228.
383. Matsuda et al. (2003) *J Inf Dis* 188: 944.
384. Takahashi et al. (2004) *Virol* 330: 501-505.
385. Carter (2005) *J Appl Microbiol* 98: 1354-1380.
386. Le Guyader et al. (2006b) *Emerg Inf Dis* 12: 931-936
387. Maalouf et al. (2011) *Appl Environ Microbiol* 77: 3189-96
388. Bosch et al. (2006) En Goyal (ed) *Viruses in Foods* Springer, New York: pp. 151-187,
389. Kott & Fishelson (1974) *Isr J Technol* 12: 290-297.
390. Konowalchuk & Speirs (1978) *Appl Environ Microbiol* 35: 1219-1220.
391. Kovač et al. (2010) *Trends Food Sci Technol* 21: 558-568.
392. Balayan et al. (1983) *Intervirol* 20: 23- 31
393. Tam et al. (1991) *Virology* 185: 120-131.
394. Chandra et al. (2008) *J Virol* 82: 7100-7110.
395. Rodríguez-Frias F, Jardi R, Buti M. 2012 *Enferm Infec Microbiol Clin*. 30):624-34.
396. Emerson & Purcell (2003) *Rev Med Virol* 13: 145-154.
397. Payne et al. (1999) *Vet. Microbiol*. 68: 119 -125.
398. Batts et al. (2011) *Virus Res*. 158: 116 -123.
399. Lu et al. (2006) *Rev. Med. Virol*. 16: 5-36.
400. Smith et al. (2013) *virus. J. Virol*. 87: 4161-4169.
401. Takahashi et al. (2011) *J. Gen. Virol*. 92: 902-908.
402. Zhao et al. (2009) *J Med Virol* 81: 1371-1379.
403. Johne et al. (2010) *J Gen Virol* 91:750 -758.
404. Raj et al. (2012) *Emerg. Infect. Dis*. 18: 1369 -1370.
405. Drexler et al. (2012) *J. Virol*. 86: 9134 -9147.
406. Meng (2013) *Liver Dis*. 33:41-49.

407. Nan & Zhang (2016) *Front Microbiol.* 7:1419.
408. Panda et al. (2007) *Rev Med Virol* 17:151-180.
409. Oliveira-Filho et al. (2013) *Vet. Microbiol.* 165: 148 –154
410. Purdy Met et al. (2011) *Virus Res.* 161:31–39.
411. Izopetet et al. (2012) *Emerg. Infect. Dis.* 18:1274 –1281.
412. Legrand-Abravanel et al. (2012) *Emerg. Infect. Dis.* 15: 110 –114.
413. Bouquetet et al. (2011) *Emerg. Infect. Dis.* 17: 2018 –2025.
414. Nakano et al. (2013) *Infect. Genet. Evol.* 18:287–298
415. Berto et al. (2013) *J Virol Methods* 187:327-332
416. Okamoto (2013) *J Gastroenterol* 48:147-158
417. Kamar et al. (2014) *Clin Microbiol Rev* 27: 116-138
418. Ippagunta et al. (2011) *J Viral Hepat* 18: 668-72
419. Aggarwal et al. (2000) *Lancet* 356: 1081-1082.
420. Li et al. (2006) *J Viral Hepat* 13:835-839.
421. Kumar et al. (2004) *Int J Gynaecol Obstet* 85:240-244.
422. Nicand et al. (2006) *J. Med. Virol.* 77:519– 521.
423. Ippagunta et al. (2007) *J. Med. Virol.* 79:1827–1831.
424. Meng et al. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94:9860 –9865
425. Izopetet et al. (2012) *Emerg. Infect. Dis.* 18:1274 –1281
426. Sonoda et al. (2004) *J. Clin. Microbiol.* 42:5371– 5374.
427. Pavio et al. (2010) *Zoonotic hepatitis E: animal reser- voirs and emerging risks.* *Vet. Res.* 41:46.
428. Dalton et al. (2008) *Lancet Infect. Dis.* 8:698 –709.
429. Hakze-van der Honing et al (2011) *PLoS One* 6:e22673.
430. Colson et al. (2012) *Emerg. Infect. Dis.* 18:1361–1364.
431. Garbuglia et al. (2011) *Emerg. Infect. Dis.* 19:110 –114.
432. Tesse et al. (2012) *J. Clin. Virol.* 54:197– 200.
433. Johne et al. (2010) *J. Gen. Virol.* 91:750 –758.
434. Raj Vet al. (2012) *Emerg. Infect. Dis.* 18:1369 –1370.
435. Nakamura et al. (2006) *Hepato. Res.* 34:137–140.
436. Drexler et al. (2012) *J. Virol.* 86:9134 –9147.
437. Colson et al. (2010) *J. Infect. Dis.* 202:825–834.
438. Feagins et al. (2007) *J. Gen. Virol.* 88:912–917.
439. Matsuda et al. (2003) *J. Infect. Dis.* 188:944.
440. Yazaki et al. (2003) *J. Gen. Virol.* 84:2351–2357.
441. Emerson et al. (2005) *J. Infect. Dis.* 192:930–933.
442. Barnaud et al. (2012) *Appl. Environ. Microbiol.* 78:5153–5159.
443. van der Poel et al. (2001) *Emerg Infect Dis.* 7: 970-976.
444. Di Bartolo et al. (2012) *Emerg Infect Dis.* 18:1282-1289.
445. Meng et al. (2002) *J. Clin. Microbiol.* 40:117–122.
446. Colson et al. (2007) *J. Clin. Virol.* 40:318 –320.
447. Renou et al. (2007) *Emerg. Infect. Dis.* 13:1094 –1096.
448. Galiana et al. (2008) *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 78:1012–1015.
449. Clemente-Casares P et al. (2003) *Emerg. Infect. Dis.* 9:448–454.
450. Kasorn-dorkbua et al. (2005) *Appl. Environ. Microbiol.* 71:7831– 7837.
451. La Rosa et al. (2010) *Appl. Environ. Microbiol.* 76:5870 –5873.
452. McCreary et al. (2008) *Vet. Rec.* 163:261–265.
453. Rutjes et al. (2009) *Emerg. Infect. Dis.* 15:381–387.
454. Song et al. (2010) *J. Med. Virol.* 82:583–591.
455. Crossan et al. (2012) *Emerg. Infect. Dis.* 18:2085–2087.
456. Diez-Valcarce et al. (2012) *Food Environ Virol* 4:73-80.
457. Colson et al. (2007) *Emerg. Infect. Dis.* 13:648 – 649.
458. Haim-Boukobza et al. (2012) *J. Hepatol.* 57: 1374–1378.
459. Matsubayashi et al. (2004) *Transfusion* 44:934 –940.

460. Matsubayashi et al. (2008) *Transfusion* 48:1368 –1375.
461. Hewitt et al. (2014) *Lancet*. 384: 1766-73.
462. Adlhoch et al (2009) *Vox Sang.* 97:303–308.
463. Baylis et al. (2012) *Vox Sang.* 102:182–183.
464. Ijazet al. (2012) *Vox Sang.* 102:272.
465. Baylis et al. (2012) *Vox Sang.* 103:89–90
466. Van der Poel (2014) *Curr Opin Virol* 4:91-6.
467. Rivero-Juarez et al. (2017) *Zoonoses Public Health.* In press
468. Said et al. (2014) *Epidemiol Infect* 142:1467-75.
469. Purcell & Emerson (2008) *J. Hepatol.* 48:494 –503.
470. Dalton et al. (2007) *J. Gastroenterol. Hepatol.* 22:1236 –1240.
471. Kamar et al. (2012) *Transplantation* 93:617– 623.
472. Sinha et al. (2003) *Clin. Trans- plant.* 17:32–36.
473. Thapa et al. (2009) *Clin. Pediatr. (Phila.)* 48:199– 201.
474. Colson et al. (2008) *J. Clin. Microbiol.* 46:2450 –2452.
475. Ali et al. (2001) *Indian J. Nephrol.* 11:70 –72.
476. Bhagat Set al. (2008) *Pancreas* 36:424 – 427.
477. Deniel et al. (2011) *J. Clin. Virol.* 51:202–204.
478. Kokkinos et al. (2012) *Food Environ Virol* 4: 179-191
479. Maunula et al. (2013) *Int J Food Microbiol.* 167: 177-85.
480. Berto et al. (2012) *Emerg Infect Dis* 18: 1358-1360.
481. Bouwknecht et al. (2007) *J Food Prot* 70: 2889-2895.
482. Wenzel et al. (2011) *J Clin Virol* 52: 50-54.
483. Szabo et al. (2015) *Int J Food Microbiol.* 215: 149-56.
484. Martin-Latil et al. (2014) *Int J Food Microbiol* 176:1-8.
485. Huang et al. (2016) *Hepatology.* 64: 350-359
486. Iaconelli et al. (2015) *Food Environ Virol.* 7: 316-324.
487. Jothikumar et al. (2006) *J Virol Methods* 131: 65-71
488. Martínez-Martínez et al. (2011) *Food Environ Virol.* 3: 92-98
489. Echevarría et al. (2015) *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 33:281-286.
490. Pina et al. (1998) *Appl Environ Microbiol.* 64: 4485–4488.
491. Clemente et al. (2003) *Emerg Infect Dis.* 9: 448–454.
492. Albiñana et al. (2006) *Environ Sci Technol* 40: 7416–7422
493. Clemente et al. *Water Health* 7: 664–673.
494. Rodriguez-Manzano et al. (2010) *J Water Health.* 8: 346–354.
495. Fernández-Barredo et al. (2006) *J Vet Diagn Invest* 18: 462–465.
496. Fernández-Barredo et al. (2007) *Can J Vet Res* 71: 236–40.
497. De Deus et al. (2008) *Vet Microbiol.* 132: 19–28.
498. Jiménez de Oya et al. (2011) *BMC Res Notes* 4: 412–421.
499. Casas et al. (2011) *Vet Microbiol* 148: 27–34.
500. De Deus et al. (2008) *Vet Microbiol* 129: 163–170.
501. Boadella et al. (2010) *Emerg Infect Dis.* 16: 1994–1996.
502. Rodríguez-Lázaro D, et al. (2015) *Int J Food Microbiol* 209: 39-43.
503. Banks et al. (2004) *Emerg Infect Dis* 10:953-955.
504. Meng (2000) *J Hepatol* 33: 842-845.
505. Girones et al., (2014) *J Water Health* 12: 436-42.
506. Cook & van der Poel (2015) *Food Environ Virol* 7: 189-194.
507. EFSA (2016) *Summary Report of Joint Scientific Workshop on Foodborne Viruses.*