

The background of the entire page is a high-magnification electron micrograph showing numerous spherical virus particles. Each particle has a distinct outer shell and a darker, textured core. The particles are scattered across the field of view, with some appearing in sharp focus and others slightly blurred.

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LOS BROTOS DE GASTROENTERITIS AGUDA DE ETIOLOGÍA VÍRICA EN CATALUÑA

**Facultad de Medicina
Departamento de Salud Pública**



UNIVERSITAT DE BARCELONA





UNIVERSITAT DE BARCELONA



Facultad de Medicina
Departamento de Salud Pública
Programa de doctorado de Medicina

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LOS BROTOS DE GASTROENTERITIS AGUDA DE ETIOLOGÍA VÍRICA EN CATALUÑA

Memoria presentada por Núria Torner Gràcia para optar al título de doctor, bajo la dirección de la Dra Àngela Domínguez profesora de Medicina Preventiva y Salud Pública del Departamento de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona

La directora

Àngela Domínguez García

La autora

Núria Torner Gràcia

Barcelona, 2008

Índice

ÍNDICE	ii-iv
AGRADECIMIENTOS	vi-viii
RESUMEN	x-xii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción principales virus causantes de gastroenteritis aguda	3
1.1.1 Rotavirus	3
1.1.2 Adenovirus entéricos	10
1.1.3 Astrovirus	13
1.1.4 Calicivirus	17
1.2. El género Norovirus	24
1.2.1 Reservorio y fuente de infección	24
1.2.2 Supervivencia	25
1.2.3 Patogenia y virulencia	26
1.2.4 Variantes genéticas	30
1.3. Epidemiología de los brotes de gastroenteritis aguda por norovirus	32
1.3.1 Situación a nivel mundial	32
1.3.2 Situación a nivel Europeo	34
1.3.3 Situación en España	37
1.3.4 Situación en Cataluña	40
1.4 Tipos de brotes de gastroenteritis aguda por norovirus	41
1.4.1 Brotes vehiculados por alimentos	41
1.4.2 Brotes vehiculados por agua	43
1.4.3 Brotes de transmisión de persona a persona	45
2. JUSTIFICACIÓN	51
3. HIPÓTESIS	55
4. OBJETIVOS	59
5. MATERIAL Y MÉTODOS	63
5.1 Población de estudio	63
5.2 Aislamiento e identificación	64
5.2.1 Norovirus, rotavirus, adenovirus y astrovirus	64
5.2.2 Biología molecular de norovirus	65

5.3 Aislamiento e identificación de otros agentes infecciosos	67
5.4 Definiciones	69
5.4.1 Brote de gastroenteritis	69
5.4.2 Brote de gastroenteritis por norovirus	69
5.5 Estudio epidemiológico descriptivo	71
5.5.1 Incidencia de los brotes de gastroenteritis aguda por norovirus	72
5.5.2 Incidencia de los brotes de gastroenteritis aguda por otros agentes	73
5.6. Recogida de información	75
5.6.1 Cuestionario de brote	75
5.6.2 Cuestionario de caso	78
5.6.3 Cuestionario de manipulador	82
5.6.4 Base de datos	84
5.6.5 Validación de datos y análisis estadístico	84
6. RESULTADOS	89
6.1. Estudio descriptivo de la incidencia de brotes de gastroenteritis por norovirus	89
6.1.1 Incidencia según región sanitaria	89
6.1.2 Estacionalidad	91
6.1.3 Incidencia según grupos de edad	92
6.1.4 Incidencia según sexo	93
6.1.5 Incidencia según ámbito	93
6.1.6 Incidencia según modo de transmisión	95
6.1.7 Características genotípicas	96
6.2. Estudio descriptivo de casos	98
6.2.1 Características clínicas	98
6.2.2 Tasa de casos secundarios	101
6.3. Estudio comparativo de las características de los brotes de gastroenteritis causados por norovirus y por otros agentes	102
6.3.1 Tasas de incidencia	105
6.3.2 Estacionalidad	108
6.3.3 Brotes vehiculados por alimentos	109
6.3.3.1 Implicación de alimentos	110
6.3.3.2 Implicación de manipuladores	111
6.3.4 Brotes de transmisión interpersonal	113
6.3.5 Brotes de transmisión hídrica	115

7. DISCUSIÓN	119
7.1 Estudio descriptivo de incidencia de norovirus	119
7.2 Implicación de cuidadores y manipuladores	123
7.3 Prevención y control de la infección por norovirus	124
7.4 Estudio de factores de riesgo emergentes	126
7.4.1 Cambios en el estilo de vida	126
7.4.2 Envejecimiento de la población	127
7.5 Implicaciones para la Salud Pública	129
7.6 Educación sanitaria	132
8. CONCLUSIONES	137
9. BIBLIOGRAFÍA	143
10. ANEXOS	167
10.1 Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004-2005. J Clin Virol (2008) In Press	168
10.2 Epidemiology of foodborne Norovirus outbreaks in Catalonia, Spain. BMC Infectious Diseases (2008) 8:47	174
10.3 Acute gastroenteritis outbreaks in Catalonia, Spain: Norovirus versus Salmonella. Scand J Gastroenterol 2008;43:567-573	181

Agradecimientos

Esta memoria forma parte del proyecto científico “Estudio epidemiológico de los brotes de gastroenteritis aguda de etiología en Cataluña” llevado a cabo desde octubre del año 2004 a octubre del año 2005 y cuya realización ha sido posible gracias a una beca del Fondo de Investigaciones Sanitarias del Instituto Carlos III de Madrid (Proyecto PI 030877) y del Centro de Investigación Biomédica en Red en Epidemiología y Salud Pública CIBERESP.

El trabajo ha sido realizado en el Departamento de Salud de la Generalitat de Cataluña.

En primer lugar quiero agradecer a mi directora de tesis la Dra. Ángela Domínguez García el tesón y empeño con que me ha respaldado y dado ánimos para cumplir un objetivo que siempre había estado en mi mente pero que por situaciones de la vida había ido relegándose a un segundo plano. Y sobre todo agradecerle todo lo aprendido, que no es poco.

Mi incursión en el mundo de la Epidemiología y la Salud Pública fue fruto de las circunstancias y gracias al ofrecimiento de una persona entrañable que por desgracia ya no está con nosotros, el Dr. José Alcaide Mejías. Con él me inicié en este camino que me ha brindado la oportunidad de proseguir con distintos trabajos relacionados con la vigilancia de enfermedades transmisibles y que me puso en contacto con la Dra Domínguez. Siempre recordaré una conversación telefónica en la cual la Dra Domínguez se despidió de mí diciendo ... “seguro que nos veremos más adelante”... supongo que era una premonición o quizás una intención clara, la verdad es que a los pocos meses empecé a colaborar con ella en el entonces Servicio de Vigilancia Epidemiológica de la Dirección General de Salud Pública del Departamento de Salud que ella dirigía.

Quiero agradecer la colaboración de todos los compañeros epidemiólogos del Departamento de Salud que con su buen hacer y profesionalidad han hecho posible obtener toda la información de base para poder llegar a realizar este trabajo de investigación que espero les sea también útil a ellos. Agradecer la colaboración de los servicios de microbiología del Hospital Universitari Vall d’Hebron de Barcelona, Laboratorio de Virus Entéricos de la Universidad de Barcelona y de la Universidad de Valencia que han hecho posible la obtención de datos imprescindibles para la ejecución de este trabajo.

Como no agradecer los ánimos y consejos recibidos por la Dra. Eva Borràs, que siempre ha estado allí como ejemplo cercano, la gran ayuda estadística aportada por Laura Ruiz y la profesionalidad en el campo de la epidemiología de Ana Martínez.

Es obvio que si he llegado hasta este punto, donde se hace difícil pensar en todas las personas a las cuales les debo un agradecimiento, ha sido gracias a mi marido que ha soportado con paciencia las muchas horas robadas pero estoy segura que con alegría al ver como me ilusionaba el proyecto. También tengo que agradecer la colaboración de mis hijos por su paciencia y sobre todo por la imagen que se han forjado de mi y que me ha impulsado a no defraudarles y como no a mis padres que me han dado la oportunidad de enriquecer mi vida con el conocimiento aprendido y el espíritu científico heredado, la avidez por seguir estudiando y el buen hacer, tanto con la educación como con su propio ejemplo.

A todos y todas con todo cariño muchas gracias.

El arte de llegar a una conclusión a partir de un experimento o de una observación consiste en evaluar la probabilidad y estimar si es suficientemente grande como para que sea considerado una prueba.

Antoine Laurent de Lavoisier (1743-1794)

Resumen

La gastroenteritis aguda es un problema de salud importante, constituyendo la primera causa de morbilidad y de mortalidad en la población infantil en los países en vías de desarrollo. En los países desarrollados cerca del 10% de las hospitalizaciones en menores de 5 años se produce por esta causa. Afecta también a los adultos y especialmente a los ancianos, suponiendo el segundo o tercer motivo de consulta en servicios sanitarios de todo tipo. Las gastroenteritis agudas pueden estar causadas por bacterias, parásitos y virus enteropatógenos, entre los que destacan claramente rotavirus, calicivirus, astrovirus y adenovirus. Se estima que estos virus pueden suponer casi el 80% del total de gastroenteritis agudas. La verdadera magnitud de estos procesos es difícil de estimar puesto que los casos aislados más o menos leves suelen pasar desapercibidos por los sistemas de notificación y vigilancia.

En Cataluña, las gastroenteritis en general y en especial las vehiculadas por alimentos constituyen uno de los procesos más frecuentes en la población catalana. Durante el año 2004 se declararon 291.035 casos de enteritis y diarreas, lo que supone una tasa de incidencia del 4.575 por 100.000 habitantes. Durante los últimos años y como consecuencia de la ocurrencia de un brote de grandes dimensiones a nivel comunitario que afectó a casi 1500 personas se han incrementado las medidas de prevención para evitar la contaminación bacteriana de alimentos tanto en el proceso de elaboración como en la manipulación en establecimientos alimentarios.

Desafortunadamente el porcentaje de casos en los que no se llega a determinar el agente causal de la intoxicación alimentaria o del proceso de gastroenteritis aguda es mayor de lo que sería deseable, principalmente por retrasos en la notificación del proceso que impide una actuación e investigación adecuadas, y por la falta de muestras tanto clínicas como del posible vehículo de transmisión implicado.

Objetivos :

Con el propósito de contribuir al mejor conocimiento de la relevancia de los brotes de gastroenteritis por norovirus en Cataluña, los objetivos que se plantean en este estudio son:

- Conocer la frecuencia , los mecanismos de transmisión implicados y los ámbitos en que se producen lo brotes de gastroenteritis aguda causados por virus en Cataluña
- Cuantificar la magnitud del impacto de los brotes de etiología vírica
- Investigar la implicación de los manipuladores de alimentos en los brotes de transmisión alimentaria de etiología vírica
- Determinar las fuentes de infección que han originado los brotes de transmisión persona a persona de etiología vírica

Aplicabilidad y utilidad práctica de los resultados en el área de la salud

Los resultados obtenidos con el presente estudio indican que aunque Salmonella sigue siendo el agente causal más implicado (41%; 74 de 180) en los brotes de gastroenteritis de etiología conocida, el segundo agente causal es norovirus (33,3%; 60 de 180).

Es probable que entre los 45 brotes de etiología desconocida (por falta de datos epidemiológicos, muestras o porque los resultados de la investigación de los diferentes microorganismos enteropatógenos fueron negativos), la frecuencia de brotes de etiología vírica sea superior a la de brotes producidos por otros agentes, con lo que la proporción real de brotes de etiología vírica sería superior al 33,3 %, dato obtenido en el presente estudio.

De los brotes investigados, aunque sólo se pudiera demostrar microbiológicamente en uno, en 10 se consideró que una práctica incorrecta del manipulador de alimentos había sido un factor contribuyente y en dos brotes de transmisión interpersonal se consideró el cuidador como caso índice. Ello sugiere que la educación sanitaria de los manipuladores de alimentos y de los cuidadores de residencias o instituciones es fundamental para la prevención de estos brotes.

1.

INTRODUCCIÓN

Introducción

1. INTRODUCCIÓN

La gastroenteritis aguda es una de las patologías más comunes en el hombre y sigue siendo una importante causa de morbilidad y mortalidad en el mundo [1]. Los niños menores de 5 años se encuentran especialmente predispuestos, y se calcula que dentro de este grupo de edad se producen más de 700 millones de casos de diarrea aguda al año [2;3]. Por lo tanto, se trata de un problema de salud importante a escala mundial. Se estima que cada año mueren entre dos millones de niños en Asia, África y América Latina por esta causa [4], aunque según otros autores la cifra puede elevarse hasta 5 millones [5]. Si bien la etiología de muchos de estos procesos, especialmente los que se dan como casos esporádicos, no se llega a conocer, los datos disponibles indican que la mayoría están producidos por virus [6;7] y que les siguen, por orden de frecuencia, las bacterias y los parásitos.

A mediados del siglo XX se sospechaba de los virus como causa importante de gastroenteritis, ya que en muchos casos la etiología no llegaba a identificarse. Sin embargo no fue hasta 1972 que Kapikian et al. identificaron por primera vez un virus redondo de tamaño pequeño (virus Norwalk o *Small Round Structured Virus*, SRSV) en muestras de heces procedentes de afectados por un brote de gastroenteritis [8]. Un año más tarde, Bishop et al. observaron la presencia de rotavirus en la mucosa duodenal de niños con gastroenteritis [9] y posteriormente, se identificaron también astrovirus y adenovirus entéricos en muestras de heces de niños con diarrea aguda [10;11]. Desde entonces se han identificado un número creciente de virus asociados a gastroenteritis aguda. Incluso, según diversos estudios, virus que se creía solo infectaban animales se han convertido

en infecciones emergentes causantes de gastroenteritis en el hombre, como por ejemplo los coronavirus, picobirnavirus, pestivirus y torovirus [12-14].

Así pues, los principales virus causantes de gastroenteritis en el ser humano son rotavirus, calicivirus, astrovirus y adenovirus. Otros virus, tales como coronavirus, torovirus, picornavirus (virus Aichi) y picobirnavirus son también causa de diarrea, pero con menor trascendencia epidemiológica (Tabla1) [15].

Tabla 1. Virus causantes de gastroenteritis en la especie humana.

Rotavirus (grupos A, B, C)
Calicivirus: Norovirus (<i>Norwalk like viruses, NLV</i>)
Sapovirus (<i>Saporo-like viruses, SLV</i>)
Astrovirus
Adenovirus entéricos (serotipos 40 y 41)
Coronavirus
Torovirus
Picornavirus: Virus Aichi
Picobirnavirus

1.1 Descripción de los principales virus causantes de gastroenteritis

1.1.1 Rotavirus

Entre los virus, el que se detecta con mayor frecuencia como causa de gastroenteritis infantil a escala mundial es el rotavirus [16]. Este agente sería el responsable del 6 % de todas las defunciones que se producen en menores de 5 años y la causa más común de deshidratación en niños. Se estima que ocasiona cada año 139 millones de casos de gastroenteritis, dos millones de hospitalizaciones y cerca de medio millón de defunciones [17;18] (Figura 1.1.1). Durante los últimos 35 años, rotavirus ha sido considerado como la causa más común de gastroenteritis infecciosa en niños y lactantes, pero en cambio su papel en las gastroenteritis del adulto ha sido infraestimado. Si bien es cierto que la infección en adultos es generalmente asintomática, se han descrito brotes nosocomiales en instituciones geriátricas. Sin embargo, en el individuo inmunodeprimido adquiere mayor importancia ya que la infección puede ser más grave y de mayor duración. Es importante que en el diagnóstico diferencial de las diarreas del adulto el clínico tenga en consideración la gastroenteritis por rotavirus [19].

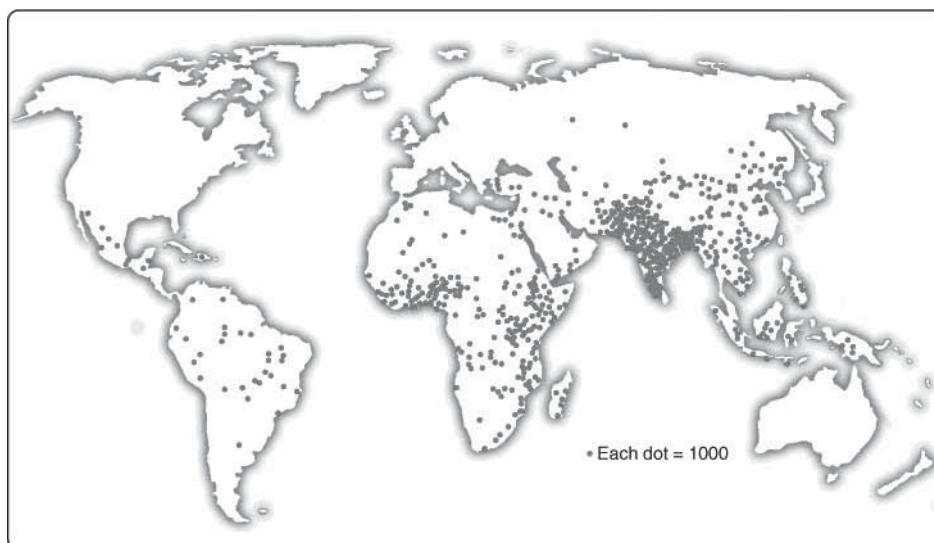


Figura 1.1.1. Distribución global de la mortalidad por gastroenteritis causada por rotavirus [18]

La primera descripción de rotavirus fue hecha en 1973 como unas partículas en forma de rueda [9], de ahí su nombre que proviene del latín *rota* y que hoy se clasifica dentro de la familia *Reoviridae*. Las partículas virales de rotavirus son estructuras icosaédricas sin envoltura de unos 70 nm de diámetro (Figura 1.1.2) [20].

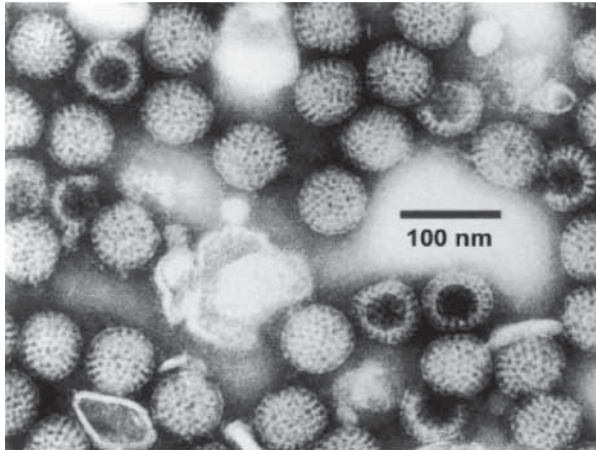


Figura 1.1.2. Microfotografía electrónica de viriones de rotavirus procedentes de un filtrado de muestras de heces de un niño con gastroenteritis. La cápside externa aparece como un reborde fino que rodea a las protuberancias formadas por las estructuras de VP6. Las partículas vacías con centro oscuro están exentas de ARN genómico [20].

Las cápsides interna y externa forman una doble capa de envoltura al núcleo que contiene el genoma vírico. El ARN de doble hebra contiene 11 segmentos que codifican seis proteínas de cápside (VP1, 2, 3, 4, 6 y 7) y seis proteínas no estructurales (NSP1-6). La NSP4 es de especial interés, ya que posee actividad enterotoxigénica y es capaz de inducir diarrea en ratones [21]. La cápside exterior está formada principalmente por dos proteínas, VP4 y VP7. La VP4 es la responsable de la adhesión a las células y confiere la apariencia de espora a la “rueda” del rotavirus [22] (Figura 1.1.3), mientras que la VP7 confiere al virus una imagen de superficie lisa.

Los rotavirus se clasifican en siete serogrupos (A-G) y dos subgrupos (I y II) [23], según las propiedades antigénicas de la proteína de cápside interna VP6. De estos serogrupos se consideran patógenos para el hombre los A, B y C. Dentro del serogrupo A, según las características antigénicas de la cápside

externa se distinguen 35 serotipos, 15 antígenos VP7 denominados G1-G15 y 20 antígenos VP4 denominados P1-P20 [2;19]. Los serotipos predominantes son G1-G4 [24]. Sin embargo, se han notificado infecciones por serotipos G distintos [25-29] y la emergencia del serotipo G9 en diversos países como Brasil [30], Malawi [27], Estados Unidos [31], Francia [32], India [33], Argentina [34], Reino Unido [35], Australia [36] y más recientemente en Libia, Kenia y Cuba [37].

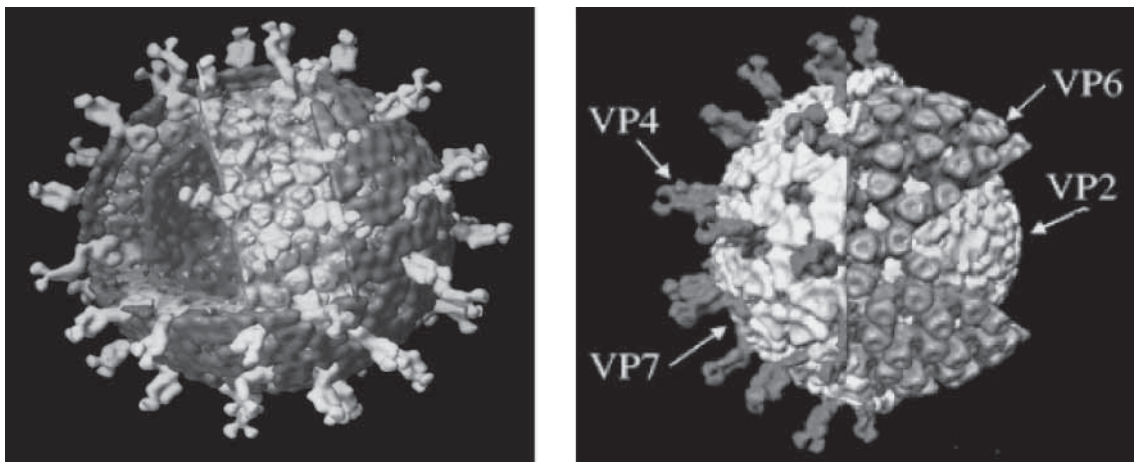


Figura 1.1.3. Reconstrucción a resolución de 26 Å de una partícula en tres capas de rotavirus *Rhesus*, según imágenes por criomicroscopía electrónica. VP2, que forma la parte más interna de cápside icosaédrica, marcada en rojo. VP6, que forma la zona intermedia de la cápside icosaédrica, marcada en violeta. VP7, que forma la parte más externa de la cubierta icosaédrica en azul. VP4, que forma las espículas que sobresalen de virión están en amarillo. Los viriones utilizados para crear esta reconstrucción estaban activados con tripsina, de forma que la VP4 se halla anclada a la VP5 y VP8 [22]

En España, en un estudio realizado en la Comunidad de Madrid durante 1998-2002 se detectó como genotipo predominante el G1 (53%), seguido de G4 (24%), G2 (14%), G9 (6%) y G2 (2%) (Tabla 1.1) [38]. Esta distribución de genotipos indica un cambio significativo, ya que entre 1998-2000 la cepa prevalente fue G4 (57%). Otros estudios realizados en Guipúzcoa y Valencia indican cambios similares en la prevalencia de los genotipos [38-40].

Tabla 1.1. Distribución de la frecuencia de los genotipos G de rotavirus detectados en Madrid. 1998-2002

Genotipo	1998-1999 n (%)	1999-2000 n (%)	2000-2001 n (%)	2001-2002 n (%)	Total n (%)
G1	25 (18)	23 (27)	141 (71)	117 (79)	306 (53)
G2	2 (1)	8 (9)	47 (24)	25 (17)	82 (14)
G3	1 (1)	10 (12)	0 (0)	0 (0)	11 (2)
G4	97 (69)	34 (40)	5 (3)	2 (1)	138 (24)
G9	15 (11)	11 (13)	6 (3)	3 (2)	35 (6)
G1+G2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	2 (0,3)
G1+G4	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (0,3)
Total	141	86	200	149	576

Los rotavirus infectan los enterocitos situados en los extremos de las vellosidades del intestino delgado y provocan una atrofia del epitelio veloso y una repoblación compensatoria del epitelio por células secretoras inmaduras, con una hiperplasia secundaria de las criptas. Se cree que la lesión celular es secundaria a la isquemia de las vellosidades. No se conoce del todo el mecanismo por el cual produce diarrea, aunque parece que es por la disminución de la absorción por parte del epitelio veloso en relación a la capacidad secretora de las células crípticas. También se produce una pérdida de permeabilidad intestinal a macromoléculas como la lactosa, secundaria a una disminución de disacaridasa en el intestino. Las terminaciones nerviosas del intestino se ven estimuladas por el virus lo que induce a la secreción de agua y electrolitos [41].

La mayoría de infecciones por rotavirus se dan entre los 6 meses y los 2 años de edad y durante la temporada invernal. En general, a cualquier edad hay un periodo prodrómico de 2 a 3 días con fiebre y vómitos, seguido de diarrea no sanguinolenta (10-20 deposiciones diarias) que dura entre 1 y 4 días, provocando deshidratación. Los pacientes inmunodeprimidos (infección por VIH, transplantados) pueden presentar síntomas más graves y de mayor duración. Se ha observado un incremento de infección extraintestinal afectando al SNC, bazo, hígado y riñón [42].

El diagnóstico de las infecciones por rotavirus se hace habitualmente por los métodos que detectan la presencia de antígeno vírico en muestras de heces, con frecuencia la proteína VP6. El aislamiento en cultivo es difícil y los métodos inmunológicos detectan solamente rotavirus del grupo A. Las técnicas que pueden utilizarse son el enzimoimmunoensayo (EIA) convencional o de membrana, la aglutinación con látex y la inmunocromatografía, aunque el método diagnóstico de elección es mediante la reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción inversa (RT-PCR) en heces, que es más sensible que la microscopía y que los métodos serológicos, en especial la RT-PCR a tiempo real cuya ejecución es menos laboriosa, más rápida e incluso más sensible [15;16].

Los métodos moleculares detectan la presencia de ARN vírico, bien poniendo de manifiesto segmentos de ARN bicatenario mediante la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), o bien amplificando por PCR el ADNc sintetizado en la transcripción inversa. Estos métodos requieren la extracción previa del ácido nucleico vírico y la eliminación de inhibidores que pueden interferir en la reacción de RT-PCR. Por otro lado, tienen la ventaja de que permiten caracterizar los diferentes aislados, bien por el patrón electroforético del ARN vírico

(electroforetipo) o bien determinando el genotipo G y P por PCR semianidada, disponiendo de los cebadores adecuados. La detección de rotavirus de grupos B y C se puede realizar también utilizando cebadores específicos. Estas técnicas han abierto la posibilidad de estudiar la evolución y la variabilidad de los rotavirus en diferentes regiones geográficas y a lo largo del tiempo [15]. Nuevos métodos de genotipado incluyendo *microarrays* y RT-PCR a tiempo real han demostrado ser de gran utilidad [43-46].

El tratamiento de estas infecciones se basa en el restablecimiento de las funciones fisiológicas y de soporte (rehidratación y nutrición). Las inmunoglobulinas se han empleado en casos crónicos y en los inmunodeprimidos y neonatos. Los fármacos antiperistálticos o antiseoretos no están indicados, ya que pueden ocasionar efectos secundarios graves [47]. Según Pant et al. la asociación de inmunoglobulinas y probióticos como *Lactobacillus rhamnosus* (cepa GG) aporta una mayor rapidez en la mejoría de los síntomas y además es costo-efectiva [48].

En la última década se han desarrollado numerosas vacunas con el objetivo de controlar las gastroenteritis producidas por rotavirus. Existen vacunas de rotavirus atenuadas obtenidas a partir de cepas bovinas (RI4237, WC3), cepas de simios (RRV), vacunas recombinantes o “reasortantes” simio-humano y bovino-humano, y vacunas obtenidas de cepas humanas (M3, RV3). Además, se han obtenido vacunas de rotavirus no atenuadas a partir de viriones completos, cápsides vacías y péptidos sintéticos. La vacuna recombinante simio-humano tetravalente (G1-G4) RotaShield® (Wyeth-Lederle) que fue comercializada en 1999 tuvo que ser retirada del mercado por riesgo de intususpección o

invaginación intestinal. En el momento actual existen dos vacunas, Rotarix® y RotaTeq® autorizadas para su comercialización en Europa y Méjico la primera y en Europa y Estados Unidos la segunda. Las dos han demostrado eficacia sobre los serotipos G1 aunque parten de dos principios básicos totalmente distintos. Mientras que Rotarix® se fundamenta en el hecho de que la infección con una cepa salvaje de rotavirus humana protege a los niños de subsecuentes episodios de diarrea grave por dicho virus o por rotavirus de un tipo G distinto, RotaTeq® emplea 5 cepas recombinantes bovino-humanas y su principio básico es elevar la inmunidad específica frente a los serotipos G1, G2, G3 y G4 [49;50].

1.1.2 Adenovirus entéricos (serotipos 40 y 41)

Los adenovirus humanos pertenecen a la familia *Adenoviridae* y al género *Mastadenovirus* [51]. Son virus ADN sin envoltura, de unos 70 nm de diámetro y de simetría icosaédrica (Figura 1.1.4). La proteína de cápside está compuesta por 252 capsómeros -240 hexones y 12 pentones- y una estructuras denominadas fibras que van hacia el exterior. Los hexones contienen las proteínas II, VI, VIII y IX que proporcionan estabilidad y estructura a la partícula vírica. Los pentones III y IIIa tienen función de penetración celular. Las fibras, que son hemaglutininas, son las responsables de la unión del virus a los receptores [51]. Existen al menos 8 proteínas que forman el núcleo (core); éstas mantienen la integridad del genoma y participan en la actividad enzimática. El genoma consiste en una molécula lineal de ADN de doble hebra que representa el 15% de la masa vírica [52].

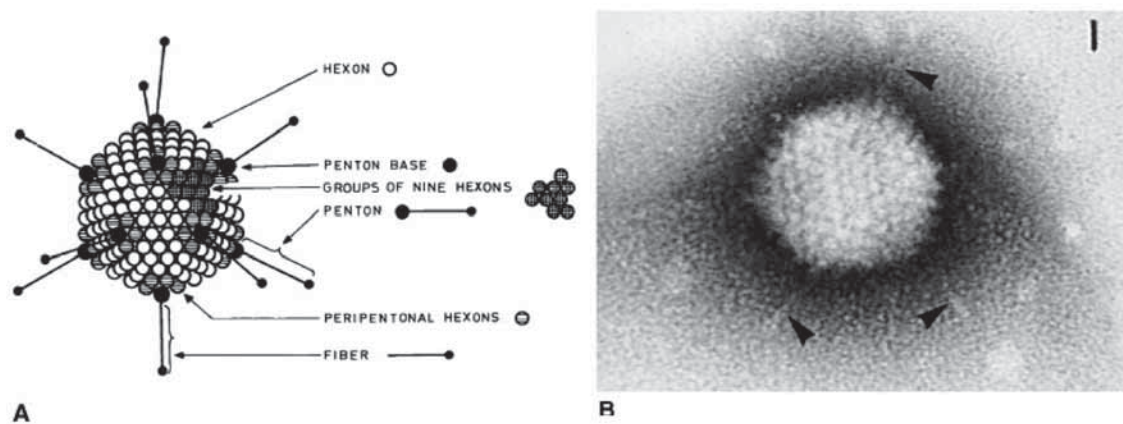


Figura 1.1.4. A) Adenovirion y sus componentes. B) Microfotografía electrónica de adenovirus tipo 5 teñido negativamente. (Las flechas indican fibras ; la barra representa 10 nm) [53]

Los serotipos asociados con mayor frecuencia a gastroenteritis son el 40 y el 41 que pertenecen al grupo F; constituyen alrededor del 60% de los adenovirus

encontrados en las heces y causan entre un 7% y un 9% de casos de diarrea en niños en Estados Unidos y Europa. Aunque bastante infrecuente, los serotipos 31,12 y 18 del grupo A y los serotipos 1,2, 5 y 6 del grupo C también se han visto implicados en procesos de gastroenteritis aguda (Tabla 1.1.2) [51;54].

Tabla 1.1.2. Esquema de clasificación de adenovirus humano

Grupo	Grupo hemaglutinación	Serotipo	Síndrome asociado
A	IV (Aglutinación débil o nula)	12,18,31	Meningoencefalitis
B	I (Aglutinación total de hematíes de mono)	3,7	Faringitis, traqueobronquitis, neumonía, fiebre faringoconjuntival, meningoencefalitis
		11,14,16,21,34,35,50, B1	Cistitis hemorrágica en niños, neumonía, gastroenteritis e infección de orina en inmunodeprimidos
C	III (Aglutinación parcial de hematíes de ratón)	1,2,5,6	
D	II (Aglutinación total de hematíes de ratón)	8,9,37	Queratoconjuntivitis
		10,13,15,17,42,19,20, 22-30,32,33,36,38,39, 42,43-47,48,49,51	Infección oportunista en pacientes VIH
E	III (Aglutinación parcial de hematíes de ratón)	4	Infección respiratoria en niños y poblaciones cerradas
F		40,41	Enteritis y neumonía en niños

Del mismo modo que en la gastroenteritis producida por rotavirus, las lesiones producidas en el enterocito por los serotipos 40 y 41 conducen a una atrofia de las microvellosidades y a una hiperplasia compensatoria de las criptas con la consecuente malabsorción y pérdida de líquidos [55]. Después de la infección, en la mayoría de casos, se detectan anticuerpos específicos y anticuerpos no neutralizantes que son útiles para evaluar la respuesta inmunitaria. Los anticuerpos específicos neutralizantes pueden dar protección tanto para la enfermedad en curso como frente a reinfecciones por el mismo serotipo. Los pacientes pueden eliminar el virus durante meses a través de las heces a pesar de desarrollar una respuesta humoral efectiva [54].

Estos adenovirus son difíciles de cultivar en las líneas celulares habituales, aunque sí se propagan en las líneas Graham 293, Chang, CaCo-2 [56] y PLC/PRF/5 [57]. Se caracterizan por su marcado tropismo intestinal. El diagnóstico de las infecciones por adenovirus entéricos se establece habitualmente por método de EIA, aglutinación de látex o inmunocromatografía. Otros métodos de caracterización de adenovirus entéricos son el análisis de polimorfismo de fragmentos de restricción (RFLPs), la PCR y la hibridación en *dot-blot* [58].

La mayoría de las infecciones son leves y no requieren tratamiento alguno, o solamente tratamiento sintomático. Debido a que no hay tratamiento específico para el virus, las enfermedades graves por adenovirus pueden resolverse únicamente tratando los síntomas y las complicaciones de la infección [54].

1.1.3 Astrovirus

La familia *Astroviridae* se estableció con un solo género, *Astrovirus*, que incluye astrovirus humanos y animales [59;60]. En la actualidad la familia se divide en dos géneros según su origen y estructura genómica: *Mamastrovirus* que afectan a mamíferos incluyendo al hombre y *Avastrovirus* aislados de especies aviares según la *International Committee for the Taxonomy of Viruses (ICTV)*.

Bajo microscopía electrónica muestran una morfología estrellada característica (Figura 1.1.5); son icosaédricos, sin envoltura y su genoma está compuesto por ARN de una sola hebra con polaridad positiva. Dicha disposición les diferencia de otras familias de virus con características similares.

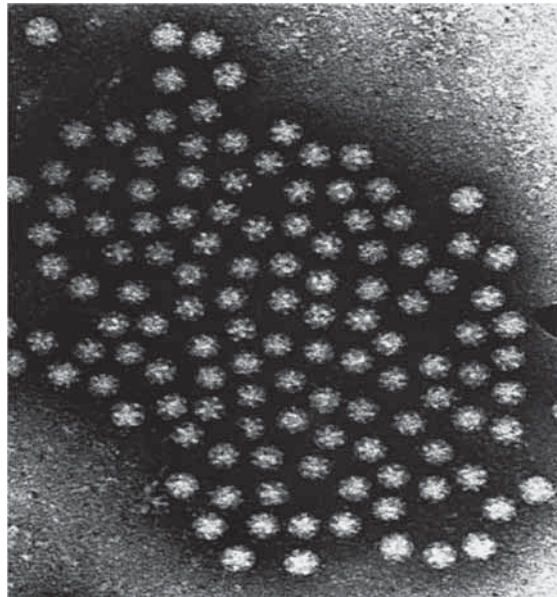


Figura 1.1. 5. Astrovirus en el contenido intestinal de cordero. Las partículas tienen 30 nm de diámetro [59]

Su morfología fue descrita ya en 1975 por Madeley y Cosgrove cuando observaron su presencia en las heces de niños recién nacidos que formaban parte de un brote de gastroenteritis [10]. Posteriormente también se observaron partículas víricas con las mismas características asociadas a procesos de diarrea en animales como corderos, terneras, ciervos, cerdos, gatos, ratones, perros, gallinas y pavos. A partir de 1981, cuando Lee y Kurtz lograron aislar astrovirus humano en cultivo celular, se pudieron identificar cinco serotipos y posteriormente ocho serotipos que afectan al hombre (HAstV-1 a HAstV-8), de los cuales el serotipo HAstV-1 es el más común. Todos ellos comparten epítomos de proteína de cápside utilizadas en las pruebas diagnósticas [59]. Debido a que los sueros frente a serotipos específicos se encuentran poco accesibles y que se dispone de métodos moleculares más sensibles, los astrovirus humanos se han clasificado en función de la similitud en la secuencia de regiones específicas del genoma. Distintas regiones de lectura (*ORF-Open reading frame*) 1a, 1b y 2 obtenidas como amplicones mediante RT-PCR se utilizan para agrupar a los astrovirus humanos en genotipos. Las cepas de HAstV pueden agruparse de manera distinta según la región específica del genoma que se analice [61]. Cabe destacar que los ocho genotipos definidos según la secuencia de aminoácidos de la región carboxiterminal de la poliproteína estructural presentan una gran correlación con los tipos definidos serológicamente (serotipos) [2].

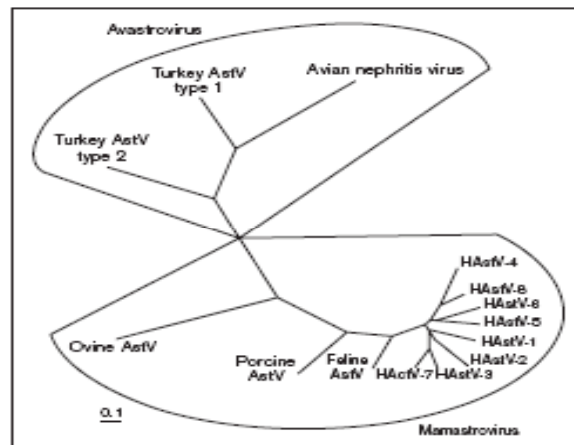


Figura 1.1. 6. Filograma de ORF (*open reading frame*) de 2 astrovirus. Se incluyen serotipos 1-8 de astrovirus humano (HAstV) y otros astrovirus de mamíferos y aves [62]

La patogenia de la enfermedad inducida por astrovirus no está muy clara, aunque se cree que la replicación viral ocurre en el tejido intestinal. En estudios hechos en animales se observa una atrofia de las microvellosidades intestinales, así como la presencia de infiltrados en la lámina propia que provocan una diarrea osmótica [63].

La infección sintomática se da principalmente en niños pequeños y en ancianos, lo que sugiere que los anticuerpos adquiridos en la infancia protegen durante la edad adulta y que se produce una pérdida progresiva de anticuerpos, aunque los determinantes de la inmunidad aún no se conocen con precisión [59].

Los astrovirus causan entre un 4 y un 14% [64-67] de las gastroenteritis infantiles en forma de casos esporádicos y brotes de diarrea en comunidades, hospitales y guarderías. Se han descrito grandes brotes alimentarios en Japón y en varios estudios en niños de distintos países se ha constatado que los astrovirus son la segunda causa de gastroenteritis después de los rotavirus.

El reconocimiento como causa de gastroenteritis a nivel mundial se debe a la reciente disponibilidad de métodos sensibles [68].

El diagnóstico puede establecerse, además de por ME, por cultivo en líneas celulares LLC-MK2 o Ca Co-2 y por EIA comercial, y preferentemente por RT-PCR. Es también factible realizar el tipado por análisis con enzimas de restricción de los productos de PCR (RFLPs) y por secuenciación. La información obtenida por los distintos métodos de tipado aporta un mejor conocimiento tanto de la diversidad antigénica como de los mecanismos moleculares de patogenia [69].

Las gastroenteritis por astrovirus suelen ser leves y autolimitadas y no requieren una terapia específica. La administración de inmunoglobulinas puede ser de utilidad como tratamiento adyuvante en pacientes inmunodeprimidos que no responden a la rehidratación oral, aunque ulteriores estudios son necesarios para determinar su eficacia y establecer su indicación. La evidencia de la patogenia de astrovirus, junto con el hecho de que afecta principalmente al mismo grupo de edad que rotavirus, invita a pensar en el diseño de una vacuna que proteja a niños de corta edad frente a ambos virus [59].

1.1.4 Calicivirus

En 1972 Kapikian et al. [8] describieron por primera vez el prototipo de calicivirus durante un brote de gastroenteritis en un centro escolar de Norwalk, Ohio en 1968. Se estudiaron las heces de voluntarios a los que se les había administrado un filtrado de heces, libres de bacterias, procedente de las muestras recogidas a pacientes afectados en el brote. Las heces de los voluntarios se observaron mediante inmunomicroscopía electrónica, que permite investigar por observación directa la presencia de inmunocomplejos. La utilización de esta técnica fue importante, ya que las moléculas de anticuerpos específicos presentes en el suero de fase convalescente de un individuo infectado se agregan y recubren las partículas víricas, dándoles la apariencia de partículas individuales o dobletes y facilitando así su detección. Posteriormente se describieron otros virus de características similares que se denominaron virus de Hawai, Montgomery County, Tawnton y Snow Mountain, de acuerdo con las regiones geográficas donde se habían producido los casos [70-73]. Sin embargo, la imposibilidad de aislar el virus en cultivo no permitió avanzar en su clasificación hasta que se desarrollaron técnicas moleculares sensibles [74;75].

La familia *Caliciviridae* se compone de virus icosaédricos, no recubiertos, de genoma constituido por una sola hebra de ARN (*ssRNA*) en sentido positivo. Los cuatro géneros que forman esta familia de virus son *Norovirus*, *Sapovirus*, *Vesivirus* y *Lagovirus* (Tabla 1.1.4). Los principales agentes patógenos humanos de esta familia son norovirus y sapovirus que causan gastroenteritis aguda. Como patógenos animales se incluyen vesivirus como los calicivirus felinos (*FCV*), que causa infección respiratoria en gatos y los lagovirus, que causan

enfermedad hemorrágica letal en conejos (*RHDV*). Los norovirus son la principal causa de gastroenteritis aguda no bacteriana epidémica, generalmente en brotes familiares o comunitarios. El impacto de los sapovirus no ha sido del todo establecido, aunque no tienen un papel tan destacado como los norovirus en las gastroenteritis epidémicas. Cabe destacar que tanto los norovirus como los sapovirus se asocian a gastroenteritis en niños, aunque el principal agente causal de gastroenteritis grave en niños es, sin duda, rotavirus. No obstante, aumentan las descripciones de *Sapovirus* como agente causal de gastroenteritis infantil.

Tabla 1.1.4. Estructura taxonómica de Calicivirus

Género	Especie	Cepa representativa
<i>Norovirus</i> (NoV)	Norwalk virus (NoV)	Hu/NoV/GI.1/Norwalk/1968/US
<i>Sapovirus</i> (SaV)	Sapporo virus (SV)	Hu/SaV/GI.1/Sapporo/1982/JP
<i>Lagovirus</i> (LaV)	Virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV)	Ra/LaV/RHDV/GH/1988/DE
	Virus del síndrome de la liebre parda europea (EBHSV)	Ha/LaV/EBHSV/GD/1989/FR
<i>Vesivirus</i> (VeV)	Virus del exantema vesicular porcino (VESV)	Sw/VeV/VESV/A48/1948/US
	Calicivirus felino (FCV)	Fe/VeV/FCV/F9/1958/US

Los criptogramas están organizados de la siguiente forma: Especie huésped de la cuál se ha obtenido el virus/género/especie (o genogrupo)/nombre de la cepa/año detectada /país de origen.

Especies huésped: (siglas corresponden a las abreviaturas en inglés)

Fe=felino;Ha=liebre;Hu=humano,Sw=porcino;Ra=conejo.

Países : (siglas corresponden a las abreviaturas en inglés)

DE=Alemania;FR=Francia;JP=Japon;US=Estados Unidos

A pesar de los grandes esfuerzos realizados durante tres décadas, de momento puede afirmarse que no existe ningún medio de cultivo celular para el aislamiento de norovirus ni sapovirus sí bien recientemente se ha descrito un sistema en tres dimensiones para propagar *Norovirus* [75]. Sólo un miembro del género *Norovirus*, norovirus murino, crece en cultivo celular [76;77]. Los vesivirus crecen en cultivo celular (fibroblastos de riñón) pero los lagovirus no crecen en líneas celulares, aunque se ha podido conseguir infectar in vitro hepatocitos de conejo [78].

ESTRUCTURA DEL VIRION

Los viriones de calicivirus exhiben una simetría icosaédrica. La cápside contiene 90 dímeros de la proteína de cápside que forma una cubierta de la cuál salen 90 capsómeros a modo de protuberancias de forma arqueada. Estos capsómeros se encuentran dispuestos de tal manera que forman 32 cavidades que son las que dan la apariencia de cálices en la superficie de la partícula viral. La autoordenación de la proteína de cápside VP1 en pseudo-partículas virales (VLP) es un proceso eficiente que no requiere ni ARN ni la proteína menor de cápside (VP2). Esta característica es de gran utilidad, ya que las VLP recombinantes (VLPr) expresadas en el sistema baculovirus se ha utilizado como un sustituto de los viriones nativos. La estructura atómica del VLPr de *Norovirus* se ha determinado mediante cristalografía con rayos X, definiendo dos dominios principales en VP1- la cubierta S y la protuberancia P (Figura 1.1.7) [79]. El dominio S forma la parte interna de la cápside que envuelve al genoma ARN y mantiene los contactos icosaédricos de la estructura en T=3, y el dominio P forma las protuberancias de estructura arqueada que surgen de la cubierta y que contienen los dímeros de contacto.

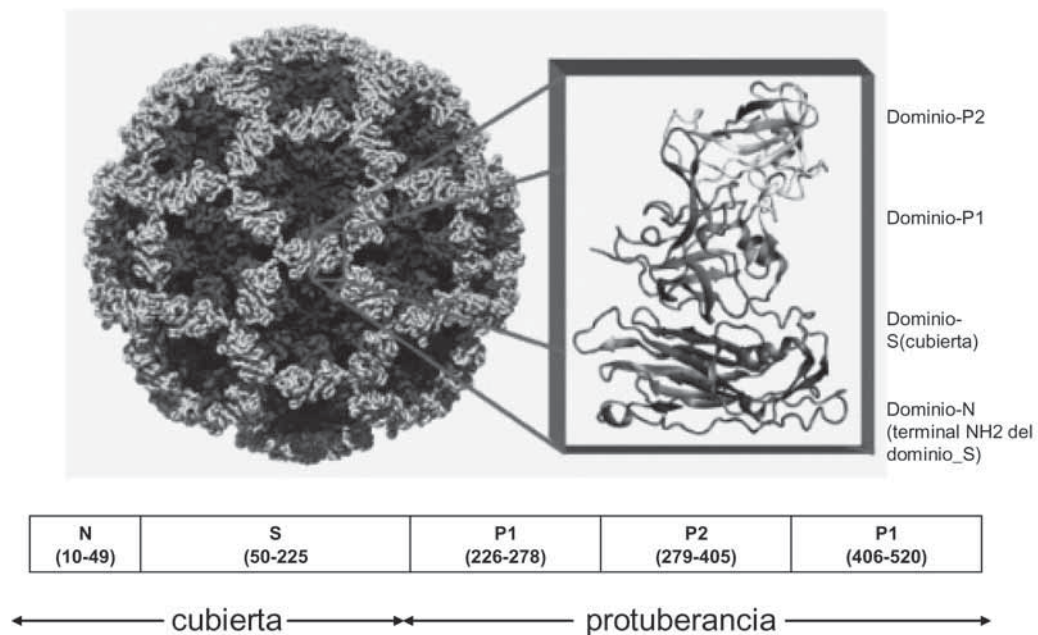


Figura 1.1.7. Estructura a rayos X de la cápside de *Norovirus*; en detalle se muestra la estructura de las subunidades. Los colores representan las distintas regiones de la proteína de cápside [79]

Los residuos de aminoácidos correspondientes a estos dominios se encuentran esquematizados en la parte inferior de la Figura 1.1.7.

Al comparar las secuencias, se observa que el dominio S entero (aminoácidos 1-225) está relativamente conservado. El dominio P unido al S corresponde a la fracción C-terminal de la VP1 y es de naturaleza más variable.

El dominio P se encuentra dividido en el subdominio P1 formado por la secuencia de aminoácidos 226-278, 406-520 y el subdominio P2 formado por la secuencia 279-405. Este último corresponde a la región VP1 con mayor variabilidad secuencial y confiere especificidad antigénica y de unión a receptores [80;81].

ESTRUCTURA DEL GENOMA

Los calicivirus tienen un genoma lineal constituido por ARN monocatenario (*ssRNA*) con sentido positivo de entre 7,3 a 8,5 kilobases (kb) de longitud organizado en 2 o más ventanas de lectura *ORF* según el género. Todos los genomas empiezan con un par pGpU 5' terminal, esta secuencia se repite en el interior del genoma. Las proteínas no estructurales están codificadas cerca del extremo 5' del genoma en *ORF1*, y las proteínas estructurales VP1 y VP2 lo están en el extremo 3' en la región correspondiente al ARN subgenómico. Los norovirus y vesivirus codifican VP1 en una *ORF* separada (*ORF2*), mientras que los sapovirus y lagovirus lo hacen en un *locus* contiguo al de las poliproteínas grandes no estructurales en *ORF1* (Figura 1.1.7).

PROTEINAS VIRALES

Proteínas estructurales

En los viriones maduros de calicivirus se encuentran tres proteínas: VP1, VP2 y VPg. La principal proteína estructural es VP1, de aproximadamente 60.000 daltons (d) y se encuentra presente en 180 copias (90 dímeros) por virión. La predominancia de VP1 en la formación de la estructura de la cápside vírica es consistente con su papel como determinante de fenotipo antigénico y en las interacciones del virus con las células huésped [82].

La VP2, de entre 12.000 y 29.000 d está considerada como una proteína estructural menor porque solo está presente en 2 copias en el virión y su función no se conoce bien, aunque se cree que la presencia de VP2 aumenta la eficiencia de la expresión de VP1 y mejora la estabilidad y maduración de la partícula [83].

La VPg se halla unida por enlace covalente al ARN genómico y subgenómico de las células infectadas, su presencia es minoritaria con una o dos copias en el virión, y aunque se encuentra en el virión es probable que su función sea principalmente como la de una proteína no-estructural durante la replicación.

Proteínas no estructurales

Se han identificado 7 proteínas no estructurales NS1-NS7, algunas de función desconocida y otras, como la NS3, con función nucleótido-trifosfatasa (NTPasa) que provocan la hidrólisis de NTP; NS5 con función VPg presente en viriones y complejos de replicación de membrana unida por enlace covalente a ARN; NS6 con función proteínasa e intermediaria entre el anclaje y la liberación de proteínas expresadas en *ORF1*, así como en el anclaje de la proteína precursora de cápside (PreVP1) con estructura plegada similar a la quimiotripsina (Figura 1.1.8) [79]. La NS7 con función polimerasa dependiente de ARN, interacciona con VPg, PreVP1 y VP2 y también se encuentra presente en complejos de replicación de membrana con extremo carboxiterminal en un punto con actividad de anclaje.



Figura 1.1.8. Representación de la estructura proteasa de *Norovirus* por rayos-X [79]

Estrategia de replicación

Primero el virión debe tener interacción con la célula huésped mediante receptores específicos. Se supone que la partícula penetra y seguidamente el ARN del genoma es liberado al citoplasma. Estas primeras interacciones no se conocen en detalle, pero se sabe que el reconocimiento del receptor es esencial. La traducción inicial del genoma introducido está mediado por interacciones entre la proteína VPg ligada al genoma con los mecanismos de traducción de la célula. Una vez transcrito el *ORF1* para producir la poliproteína no-estructural, la NS6 la escindirá en varios puntos de restricción y se convertirá en distintos precursores y productos. Se inicia la síntesis de una hebra ARN complementaria (negativa) a partir de la estructura del ARN genómico empezando por el extremo 3' de la hebra de ARN con sentido positivo con implicación de proteínas celulares [84]. Este ARN de sentido negativo servirá a su vez como molde para transcribir más ARN genómico y subgenómico de sentido positivo que a su vez servirá para codificar la síntesis de las proteínas estructurales VP1 y VP2.

1.2 El género Norovirus

1.2.1 Reservorio y fuente de infección

El género *Norovirus* presenta una elevada variabilidad genética que se explica por mutaciones puntuales y por recombinación entre diferentes fragmentos homólogos de ARN que, por coinfección, hayan entrado en una misma célula. Clásicamente, el género se ha dividido en dos genogrupos, I y II. Las especies prototipo del genogrupo I incluyen las variantes de Norwalk, Desert Shield, Queens Arms, Winchester y Southampton y las del genogrupo II, los virus de Hawaii, Lordsdale, Toronto, Méjico, Melksham, Hillingdon, Grimsby y Snow Mountain. Cada uno de estos prototipos ha representado filogenéticamente un genotipo.

Los estudios más recientes de epidemiología molecular han demostrado que la gran diversidad genética de norovirus se puede estudiar mejor en relación con la proteína principal de la cápside VP1 que, presumiblemente, se relacionaría con la especificidad antigénica y que permitiría reconocer cinco agrupaciones filogenéticas o genogrupos GI a GV, que se subdividen en una treintena de genotipos. Tres de los genogrupos de esta clasificación (GI, GII y GIV) afectan a las personas, mientras que el genogrupo GIII se ha descrito en ganado bovino y el GV, en ratones [85]. Cada genogrupo se subdivide en *clusters* genéticos o genotipos, definidos por tener al menos un 80% de identidad de los aminoácidos sobre la secuencia total de cápside [86]. Sin embargo, no se ha llegado a un consenso en cuanto a la clasificación dentro de genogrupos. Un estudio reciente ha propuesto un esquema de 29 *clusters* genéticos, 8 en GG1, 17 en GG2, 2 en GG3 y uno en GG4 y GG5 basándose en el análisis filogenético de las secuencias de aminoácidos para la proteína

de cápside de 164 cepas de NoV [87]. Análisis efectuados en Europa con más de mil norovirus asociados a brotes han mostrado una marcada variación genética y es el genogrupo II, y en particular el genotipo GII.4, el predominante [88]. Se acepta que pueden producirse variaciones antigénicas en las cepas circulantes, pero no se conocen los factores que determinan la emergencia de una cepa [89;90].

El hombre es el único reservorio de norovirus confirmado, aunque no se puede descartar el reservorio animal [91;92]. La infección por norovirus esta sumamente extendida por el mundo. En países desarrollados se empiezan a detectar anticuerpos séricos a la edad de 3-4 años y anticuerpos tipo IgA secretores en leche materna [93] y su prevalencia va aumentando hasta el 50% en la quinta década de la vida.

1.2.2 Supervivencia

Propiedades fisicoquímicas de norovirus

Son virus estables dentro de un amplio rango de temperaturas, sobreviven la congelación, la refrigeración y el calentamiento hasta 60°C. De aquí que se puedan encontrar en hielos elaborados con agua contaminada o bien que se haya contaminado su superficie [94;95]. Estos virus pueden encontrarse en una gran variedad de superficies que si no se limpian y desinfectan adecuadamente pueden constituirse en reservorio que alarga la duración de los brotes, especialmente cuando se trata de entornos cerrados como hospitales, residencias geriátricas o cruceros.

La infectividad de norovirus se mantiene hasta 3 horas de exposición a pH 2,7 y temperatura ambiente, tratamiento con éter al 20% a 4°C o incubando a 60°C durante 30 minutos. Resiste el tratamiento con hipoclorito sódico entre 3,75-6,25 g/L (cloro libre residual 0,5 a 1,0 mg/L), una concentración que sería suficiente para inactivar otros virus entéricos y habitual en un agua potable de consumo. Sin embargo se inactiva con 10 mg/L de cloro libre, que sería la concentración utilizada para descontaminar un agua considerada no potable. De hecho, es más resistente a la cloración que los poliovirus o los rotavirus, por ejemplo [82;96]. Los norovirus mantienen su potencial infeccioso aún expuestos a un entorno ácido con pH inferior a 3. Un estudio reciente ha puesto de manifiesto que el ARN de norovirus permanece intacto después de 30 minutos a pH 2 y temperatura corporal, lo que explica que sobreviva al paso por el medio ácido del estómago [97;98].

1.2.3 Patogenia y virulencia

La vía de transmisión más importante es a través del contacto fecal-oral. También se han implicado los vómitos, ya sea por contacto directo o por su aerosolización. Tan solo unas pocas partículas virales (decenas) son suficientes para que una persona susceptible pueda infectarse [99-101].

La susceptibilidad a la enfermedad es universal y se da en personas de cualquier edad. La mayoría de individuos se han infectado con norovirus alguna vez antes de llegar a la edad adulta. Los estudios que se han llevado a cabo en países desarrollados indican que la presencia de anticuerpos, tanto frente al genogrupo I como al genogrupo II, aumenta gradualmente con la edad, aunque es superior para el genogrupo II [102].

El período de incubación más habitual es de 24 a 48 horas y la transmisibilidad es máxima durante las primeras 24-48 horas de la enfermedad. Los individuos infectados tienen una probabilidad elevada de transmitir la infección a sus contactos domiciliarios o muy cercanos, por lo que en brotes de exposición única son frecuentes los casos secundarios.

La gastroenteritis por norovirus se caracteriza por un inicio súbito de diarrea y/o vómitos que se autolimitan en unos tres días. En la mayoría de ocasiones la sintomatología es moderada, pero hay algunas personas para las cuales la diarrea y/o los vómitos son realmente incapacitantes. Se ha observado que los vómitos predominan en niños [103]. Tanto en personas de edad avanzada como en niños pequeños pueden aparecer alteraciones hidroelectrolíticas, haciendo necesaria la rehidratación por vía oral o parenteral.

En los niños estos virus tienen un papel muy importante como causa de casos esporádicos de gastroenteritis [104]. En un estudio prospectivo llevado a cabo en Finlandia en población infantil, se observó que en un periodo de dos años el 49% de los niños se infectaban [105].

Las alteraciones que produce el norovirus afectan fundamentalmente al tracto intestinal. En el primer estudio que se llevó a cabo con voluntarios, se administraron filtrados de heces de un enfermo a tres personas, de las cuales sólo dos desarrollaron manifestaciones clínicas: una de ellas tuvo diarrea sin vómitos y fiebre de 37,7°C y la otra, numerosos episodios de vómitos sin diarrea y fiebre de 38,3°C. Además, ambas tuvieron náuseas, dolor abdominal, cefalea, malestar general, mialgias y anorexia en menor o mayor grado [106]. Estudios posteriores, también hechos con voluntarios, confirmaban estos datos [107;108].

Las biopsias hechas en voluntarios que habían ingerido el virus presentaban en la fase aguda de la enfermedad un alisamiento de las vellosidades, hipertrofia de las criptas intestinales e inflamación de la mucosa [73;109], así como también malabsorción transitoria de las grasas y de la lactosa [110].

Las personas previamente sanas no desarrollan secuelas crónicas una vez resueltos los síntomas agudos. Sin embargo, en pacientes inmunodeprimidos, la diarrea y la eliminación de virus se pueden cronificar [111;112] y las personas con enfermedades de base tienen un riesgo más elevado de desarrollar formas más graves de la enfermedad [113].

También hay que tener en cuenta que los norovirus pueden ocasionar otras manifestaciones clínicas. En un brote que afectó a las tropas británicas en Afganistán, algunos soldados afectados presentaron manifestaciones extraintestinales como rigidez de nuca, fotofobia, confusión y coagulación intravascular diseminada [114].

En algunos voluntarios se han observado infecciones subclínicas con respuesta de anticuerpos específicos y con eliminación fecal del virus durante tres semanas [115]. Hay personas que son resistentes a la infección cuando se exponen por primera vez al virus, pero al volverse a exponer uno o dos años más tarde, desarrollan manifestaciones clínicas. Otros, en cambio, no las desarrollan nunca, hecho que sugiere la existencia de una resistencia al virus determinada genéticamente. Hay estudios que han mostrado una asociación entre el fenotipo sanguíneo ABO y el riesgo de desarrollar infección sintomática: los voluntarios con el grupo O desarrollan infección con mayor frecuencia al estar expuestos, mientras que los que tienen el grupo B se infectan menos y desarrollan la enfermedad con menor frecuencia. Recientemente, se ha

podido demostrar la asociación entre genotipo sanguíneo y susceptibilidad a la infección por norovirus del genogrupo I, pero no a la del genogrupo II [116].

Un hecho a destacar es que en estudios experimentales la eliminación del virus en las heces raramente dura más de 72 horas [70;72]. Sin embargo, cuando se utilizan técnicas lo suficientemente sensibles, puede detectarse el virus hasta tres semanas después de la fase clínica de la enfermedad [116]. Esta eliminación prolongada del virus tienen significación epidemiológica, ya que implica que personas aparentemente asintomáticas actúan como fuente de infección [111;117]. Además, también hay estudios que ponen de manifiesto que hay infecciones realmente asintomáticas [118] y que la excreción del virus puede iniciarse antes de empezar la diarrea [119].

El tema de la estacionalidad de las infecciones por norovirus es controvertido. Inicialmente se había descrito una frecuencia mayor durante los meses de invierno [105;120] y algunos estudios refieren dicha estacionalidad solo en los brotes de transmisión interpersonal [121;122]. Algunos autores [123;124] no refieren estacionalidad alguna. Probablemente, sólo cuando se lleve a cabo una vigilancia adecuada de las infecciones por norovirus en distintos países y comunidades y se estandaricen los procedimientos diagnósticos a escala internacional se podrá tener una opinión más sólida.

1.2.4 Variantes genéticas:

Características antigénicas del género *Norovirus*

Los antígenos clave se encuentran en la proteína principal de la cápside, VP1. Las características antigénicas y bioquímicas de las rVLPs son similares a las de los virus nativos, por lo que éstas se han empleado para investigación y desarrollo de métodos diagnósticos, estudios estructurales, análisis de interacciones, capacidad de unión a receptores, relaciones antigénicas y candidatos potenciales para el desarrollo de vacunas.

No existe un sistema unificado para el serotipado de norovirus basado en neutralización, dada la imposibilidad de aislar el virus en cultivo. Sin embargo, la comparación de las secuencias de cápside indica la existencia de diversos *clusters* o genotipos [82].

El diagnóstico de las infecciones gastrointestinales por norovirus se realiza actualmente mediante la detección del ácido nucleico por técnica de reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción inversa (RT-PCR), utilizando distintos pares de oligonucleótidos [125]. La mayoría de los cebadores descritos en la literatura amplifican secuencias de la región de la ARN polimerasa viral, la más conservada del genoma. Los cebadores más ampliamente utilizados son los descritos por Ando et al., Green et al. y Vinjé et al. [86;126;127] A pesar de los numerosos esfuerzos realizados para desarrollar cebadores universales o degenerados que pudiesen detectar todas las cepas de calicivirus humanos circulantes, este objetivo no se ha logrado. Sin embargo, la mayoría de las cepas de norovirus son detectadas con los cebadores descritos. La RT-PCR permite diagnosticar no sólo los casos clínicos de infecciones por norovirus, sino también

detectar su presencia en muestras ambientales, agua y alimentos. La información proporcionada por estos estudios ha permitido reconocer a los norovirus como la principal causa de gastroenteritis epidémica.

La diversidad genética de los calicivirus humanos está siendo estudiada mediante genotipado de las cepas aisladas. Además de la secuenciación de los amplificadores de PCR, otros métodos aplicados con éxito al tipado molecular de calicivirus son la hibridación en *blot* de línea inversa (*reverse line blot hybridization*) y el análisis de movilidad de híbridos (*heteroduplex mobility assay*), que permiten analizar simultáneamente un elevado número de cepas, por lo que están especialmente indicados en laboratorios de referencia.

Se han diseñado en varios laboratorios métodos de enzimoimmunoensayo (EIA) para detectar el antígeno vírico [128]. Existen EIA comerciales que son menos sensibles que la RT-PCR y que detectan los dos genogrupos de *Norovirus* mediante dos anticuerpos monoclonales específicos para cada uno de ellos como el IDEIA NLV® (Dako Cytamation, UK).

1.3 Epidemiología de los brotes de gastroenteritis aguda por Norovirus

El estudio de los brotes de gastroenteritis, entendiendo por *brote* la existencia de dos o más personas que presentan una clínica similar siempre que estén relacionadas epidemiológicamente, permite destacar la importancia que tiene el norovirus como agente causal y, además, permite conocer el mecanismo de transmisión por el cual se ha llegado a producir el brote, cosa que no sucede con los casos esporádicos. Así mismo, no se puede obviar que los brotes representan solo la parte más pequeña de todos los casos, ya que incluyen exclusivamente los que han consultado con los servicios sanitarios, que se han podido relacionar epidemiológicamente, que se han notificado a los servicios de salud pública y que finalmente han sido investigados.

Una dato ilustrativo es el resultado de un estudio llevado a cabo en Estados Unidos en el cual se observó que sólo el 5 % de los profesionales de salud pública consideraba que el norovirus era uno de los patógenos más frecuentes entre los agentes causantes de brotes de gastroenteritis vehiculados por alimentos [129].

1.3.1 Situación a nivel mundial

El año 1982, Kaplan et al., reconociendo que no se disponía de pruebas diagnósticas adecuadas para establecer la etiología de los brotes de gastroenteritis que podían estar causados por norovirus, desarrolló un conjunto de criterios clínicos y epidemiológicos que permitieran distinguir estos brotes de los de etiología bacteriana. Estos criterios son: presencia de vómitos en más del 50 % de los afectados, un periodo de incubación medio de 24 a 48 horas, una duración media de la enfermedad de 12 a 60 horas y ausencia de agentes bacterianos o parasitarios [130].

Tras aplicar estos criterios a los brotes vehiculados por alimentos notificados en EEUU durante el periodo 1998-2000 para los que se disponía de datos clínicos y epidemiológicos pero sin resultados de laboratorio, se concluyó que, como mínimo, un 28% cumplían los criterios de Kaplan y podían atribuirse a norovirus [131]. Especialmente notorio es el papel de norovirus como agente causante de brotes de gastroenteritis de transmisión alimentaria. En Estados Unidos se estima que cada año se producen 23 millones de casos de gastroenteritis por norovirus de los cuales el 40% tienen origen alimentario [132]. En Argentina la incidencia de gastroenteritis por norovirus está ligeramente por debajo de rotavirus (24,2% vs 25,2%) en niños menores de 3 años, pero un estudio reciente de los brotes ocurridos durante el año 2004 revela norovirus como el agente etiológico más importante como causa de brotes de gastroenteritis [133]. Estos hallazgos están en concordancia con otros trabajos llevados a cabo en países como Brasil (20%) [67;134], Chile (45%) [135], Tailandia (14%) [136;137], Australia (20,5%) [138;139] y Japón [140].

1.3.2 Situación en Europa

A nivel europeo, se considera que norovirus causa aproximadamente un 10% de las gastroenteritis en países como Holanda [141]. En un estudio europeo con más de 3.700 brotes de gastroenteritis no bacterianas ocurridos entre 1995 y 2000, el 85% de los brotes se asociaron a norovirus [142].

La red europea de vigilancia de infecciones víricas transmitidas por alimentos (*Foodborne Viruses in Europe, FBVE*) constituida por trece países, empezó en el año 2001 a recopilar información epidemiológica y de laboratorio de los centros colaboradores para abordar el incremento observado en el número de brotes, estudiar que genotipos de norovirus se asociaban a dichos brotes y si estos genotipos eran distintos de los observados con anterioridad. Los datos que se obtuvieron mostraron que el incremento observado en el año 2002 fue concomitante con la aparición de una nueva variante de norovirus [143]. En el período 2005-2006 de nuevo se detectó un incremento en el número de brotes alimentarios producidos durante el año 2005-2006 y la aparición de nuevas variantes del genotipo II.4 (Figuras 1.3.1 y 1.3.2). Durante el período 2004-2005, se observó un incremento de brotes notificados al *FBVE*, aunque con importantes diferencias según los distintos países europeos. Así Alemania e Inglaterra y Gales notificaron más de mil brotes mientras que Francia notificó 6 brotes (Tabla 1.3.2) [144].

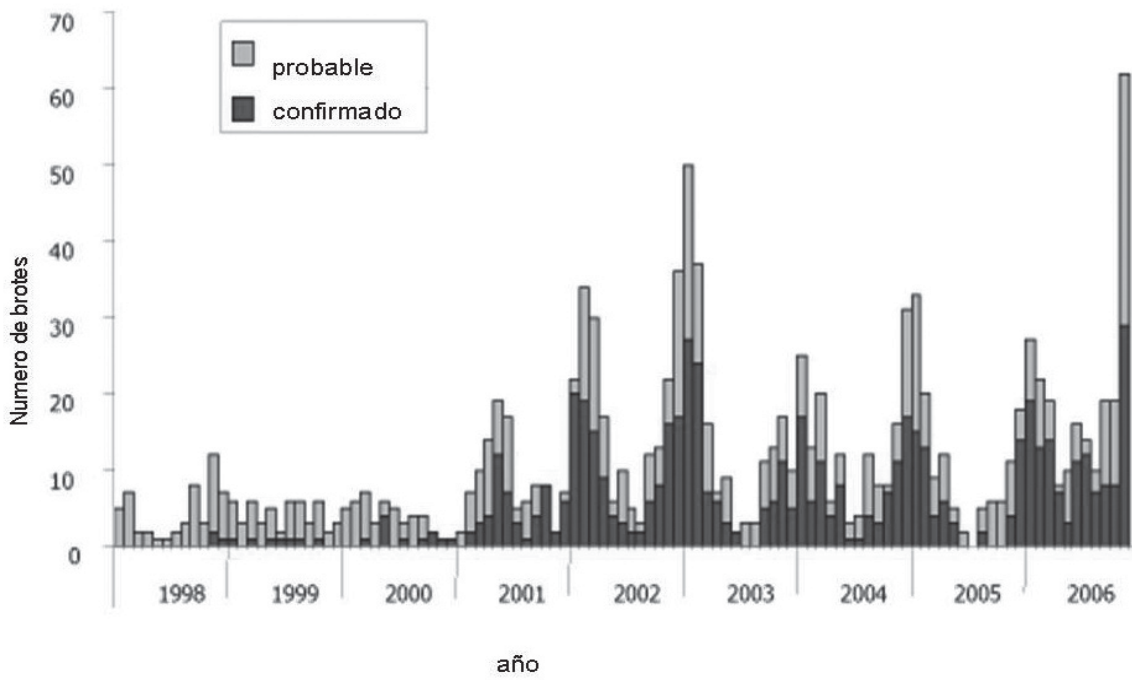


Figura 1.3.1. Evolución de los brotes de gastroenteritis por norovirus en Europa, 1998-2006 [144]

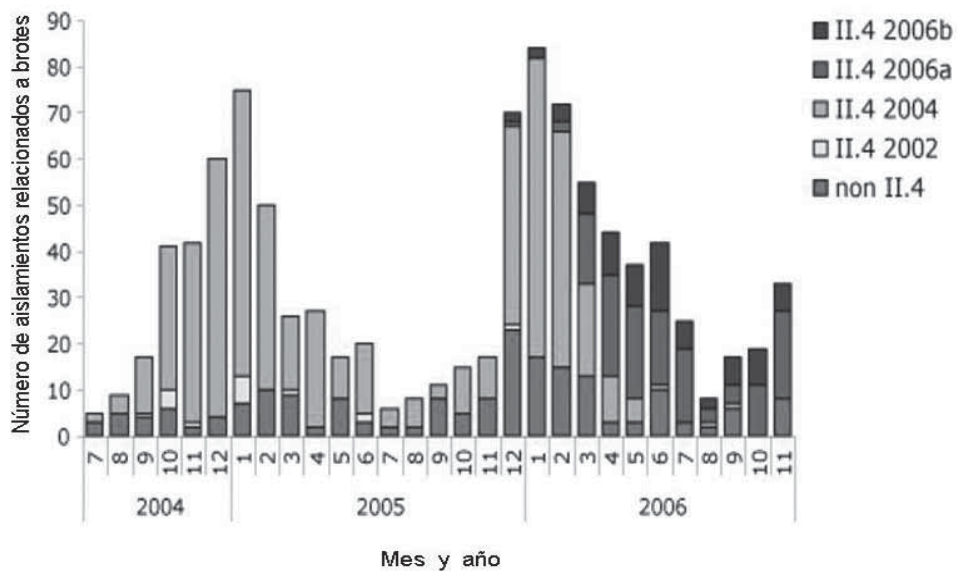


Figura 1.3.2. Genotipos/variantes de las temporadas 2004/5, 2005/6 y principios de 2006/7 [144]

Tabla 1.3.2. Registro de casos y brotes de norovirus en Europa. Datos obtenidos por encuesta electrónica con número estimado de casos (izquierda) y comunicados al FBVE (derecha) durante los meses de octubre y noviembre. Modificada de Kroneman et al. [144]

País	Brotos comunicados al FBVE						
	2006	2005	2004	2006	2005	2004	Genotipos/variantes
Alemania	604 brotes	184 brotes	514 brotes	134	139	0	4 G II.4 (1 variante 2006 b y 2006a)
Dinamarca	249 muestras laboratorio	38 muestras laboratorio	222 muestras laboratorio	0	2	2	2 II.4, variante 2006a ¹
España²	2 brotes	6 brotes	12 brotes	1	3	4	1 II.4, variante 2006a
Finlandia	~ 120 casos	~ 10 casos	~ 10 casos	0	2	0	
Francia	3 brotes	1 brote	2 brotes	7	1	2	2 II.4, 1 variante 2006a
Inglaterra y Gales³	768 brotes y 756 muestras laboratorio	83 brotes y 281 muestras laboratorio	374 brotes y 682 muestras laboratorio	11	54	69	43 G II.4 (20 2006a, 11 2006b) 15 no G II.4 ^{1*}
Hungría	81 brotes	17 brotes	24 brotes	21	3	14	7 G II.4 de los cuáles 5= variante 2006b y 2= 2006a
Irlanda	7 brotes	0 brotes	22 brotes	11	5	40	1 G II.4 variante 2006a
Italia				1	0	2	
Holanda	36 brotes	5 brotes	68 brotes	36	3	54	26 G II.4 (19 2006a y 7 2006b)
Noruega	~ 160 casos	~ 65 casos	~ 35 casos	1	7	0	
Suecia	~ 400 casos	~ 50 casos	~ 350 casos	1	2	0	1 G II.4, variante 2006a
Eslovenia	7 brotes	6 brotes	5 brotes	0	5	1	

¹Datos todavía no incluidos en la base de datos FBVE, recibidos vía electrónica a la red ²Datos de Valencia y Cataluña

³Brotos notificados sólo por laboratorio de referencia. Datos de laboratorio de Inglaterra y Gales, incluyendo casos de brotes y casos esporádicos

1.3.3 Situación en España

En España, desde 1999 a 2003, se observó un incremento en el número de brotes de gastroenteritis por norovirus que confirma la importancia de estos como causantes de gastroenteritis. El número de brotes por norovirus seguramente fue superior al constatado debido al cuadro de carácter leve que producen, a la recogida inadecuada de las muestras y a las dificultades diagnósticas existentes, especialmente durante el inicio del período estudiado. La distribución por comunidades autónomas no es homogénea, con una mayor incidencia en Cataluña (0,32/100.000 en 2003); en cambio en Cantabria, La Rioja, Ceuta y Melilla no notificaron ningún brote por norovirus durante este periodo (Figuras 1.3.3 A y 1.3.4 A) [145;146].

El ámbito en que aparecen los brotes fue mayoritariamente el de las residencias geriátricas y el mecanismo de transmisión más frecuente el interpersonal, pero con una creciente aportación de la transmisión alimentaria en los dos últimos años (2002-2003). En el año 2003, en el conjunto de comunidades autónomas (CCAA), el porcentaje de brotes transmitidos por vía alimentaria fue de 24,2%, pero se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,009$) en Cataluña, donde un 60% de brotes por norovirus fueron transmitidos por alimentos (Figuras 1.3.3 B y 1.3.4 B) [145;146].

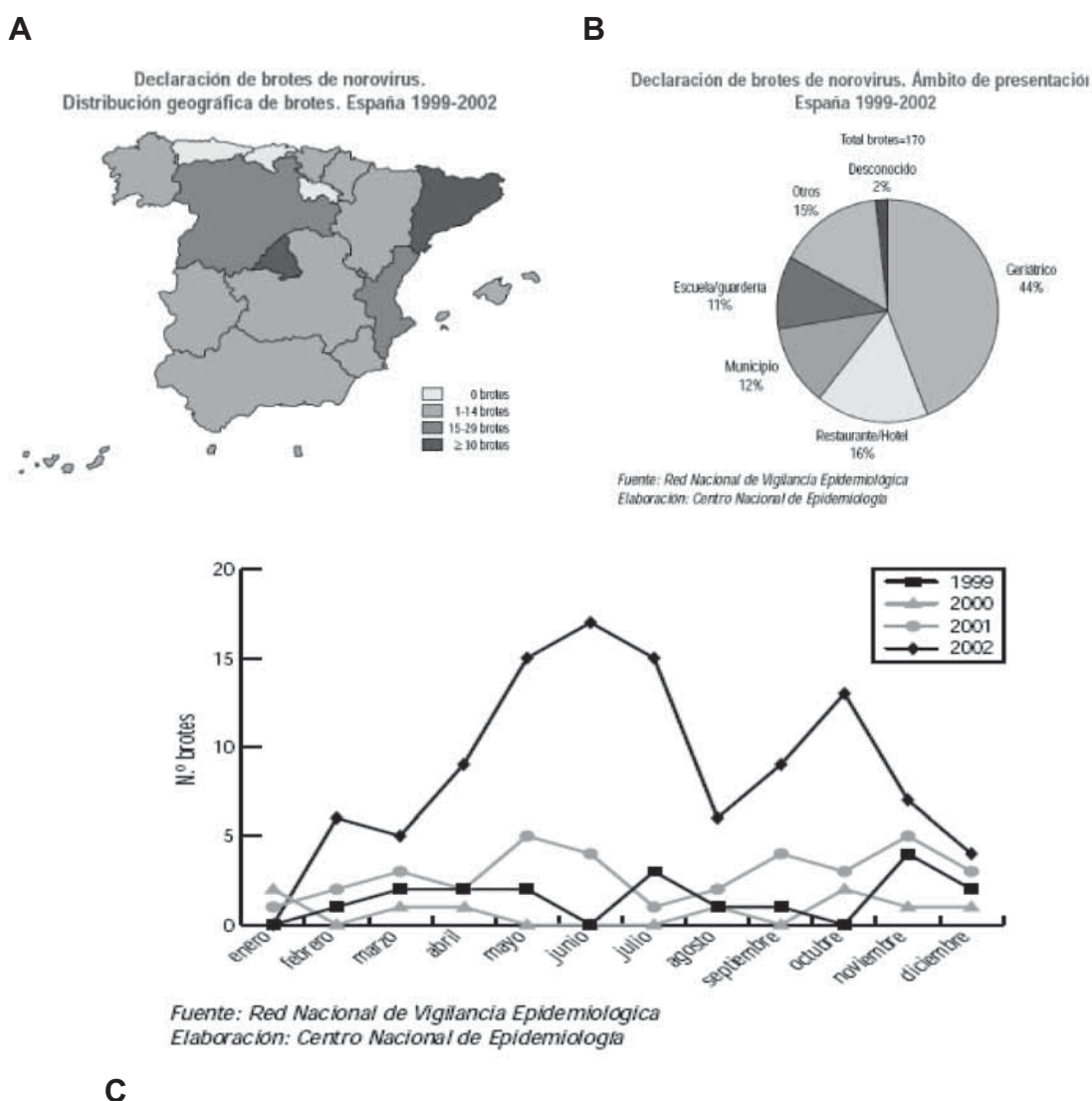


Figura 1.3.3. Declaración de brotes de norovirus. Distribución geográfica (A) de brotes y ámbito de presentación (B). España, 1999-2002. Declaración de brotes de norovirus. Distribución mensual. España, 1999-2002 (C) [145]

En cuanto a la posible estacionalidad se observa que, como en otros países europeos [142], existe una distribución homogénea a lo largo de todo el año con un pico en los meses entre mayo y octubre, aunque en el año 2003 se observó también un incremento puntual en el mes de febrero [146].

Los norovirus pertenecientes al genogrupo II son los que predominaron en España, al igual que en Europa, Australia y EEUU [88;122;123], siendo el

principal genotipo encontrado el Lordsdale, genotipo considerado también como predominante en otras poblaciones [122;147]. En la comunidad circulan diferentes genotipos y no se pudieron demostrar diferencias estadísticamente significativas entre genogrupos GGI y GGII y las distintas CCAA aunque los primeros en su mayoría eran procedentes de Cataluña. Si bien en la comunidad circulan distintos genotipos, ocasionalmente, se producen cambios en los que un único genotipo es predominante [143].

A

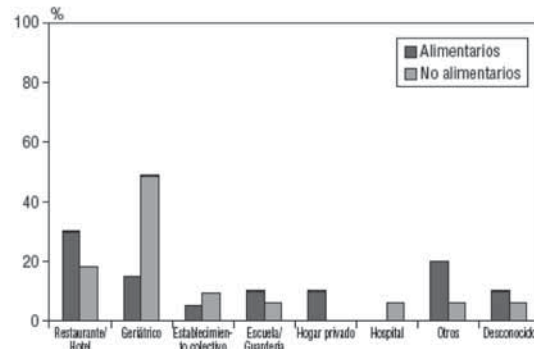
Brotos de norovirus declarados. Distribución geográfica según CCAA. España 2003



Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.
Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

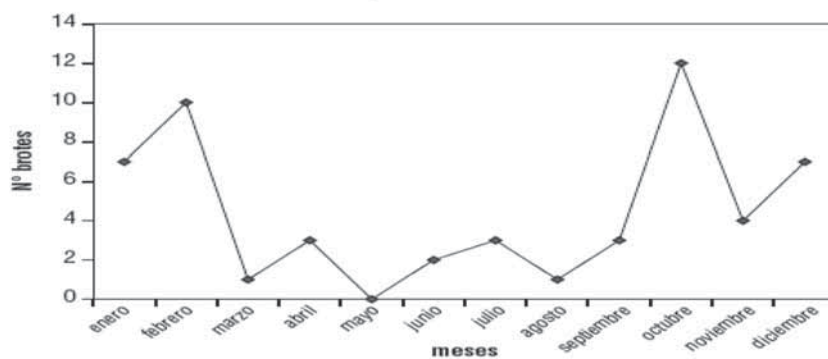
B

Brotos de norovirus declarados. Ámbito de presentación España 2003



Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.
Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

Brotos de norovirus declarados. Distribución mensual España 2003



C

Figura 1.3.4. Distribución geográfica (A), ámbito (B) y estacionalidad (C) de los brotes de norovirus en España durante el año 2003 [146]

1.3.4 Situación en Cataluña

Hasta hace pocos años, las técnicas de laboratorio disponibles para el diagnóstico tenían una sensibilidad muy baja y sólo algunos laboratorios de apoyo a la Salud Pública o de investigación las utilizaban. En la actualidad, los laboratorios especializados disponen ya de técnicas mucho más sensibles como la RT-PCR [148], por lo que se hacen más diagnósticos etiológicos y además se solicitan estas pruebas con mayor frecuencia. Sin embargo, los laboratorios a nivel asistencial aún no tienen incorporado el uso rutinario de dichas técnicas.

La descripción completa del estudio caracterizando los brotes de gastroenteritis por norovirus en Cataluña se presenta en el apartado de resultados, pero el incremento observado en los años previos a este estudio se hace evidente en la Figura 1.3.4.1.

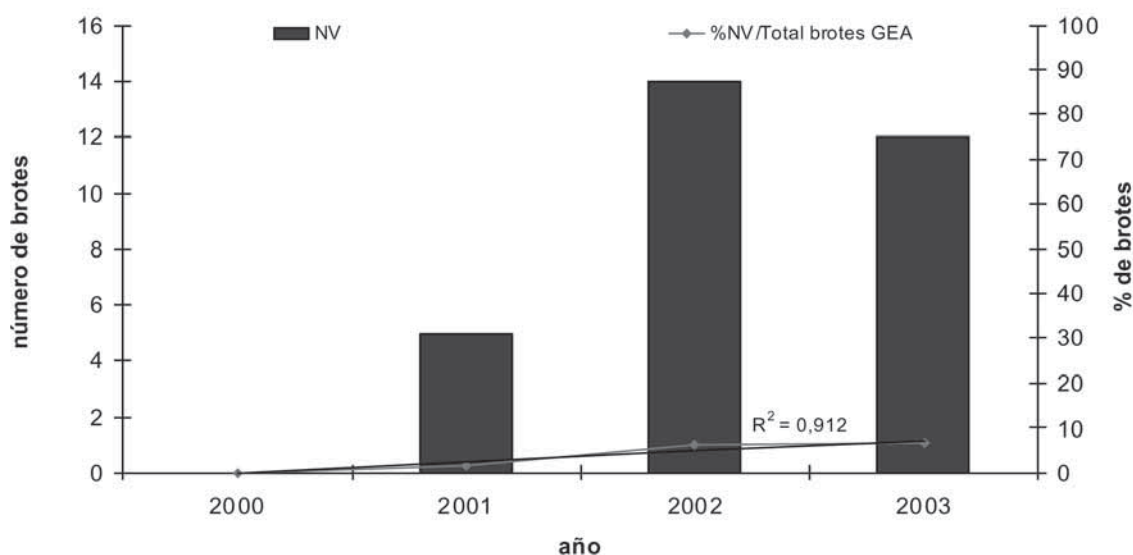


Figura 1.3.4.1. Evolución ascendente de los brotes de gastroenteritis por norovirus en Cataluña. Fuente: Direcció General de Salut Pública. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya [149-151]

1.4 Tipos de brotes de gastroenteritis aguda por Norovirus

Los distintos tipos de brotes causados por norovirus pueden clasificarse en brotes vehiculados por alimentos, brotes vehiculados por agua y brotes de transmisión de persona a persona.

1.4.1 Brotes vehiculados por alimentos

Los norovirus son responsables de más del 90% de casos de gastroenteritis asociados al consumo de alimentos contaminados, por lo que la Unión Europea los ha escogido junto con el virus de la hepatitis A para el control específico de virus en alimentos de riesgo. Los datos disponibles indican claramente que a nivel mundial los brotes por norovirus vehiculados por alimentos han aumentado. En Estados Unidos, durante el periodo 1993-1997 los norovirus supusieron el 0,3% del total de los brotes asociados a alimentos [152] y durante el periodo 1998-2002 el 1,1% [153].

En Cataluña, en el periodo 1993-1997 no se detectó norovirus en ninguno de los brotes vehiculados por alimentos (posiblemente porque tampoco se estudiaron) y en el periodo 1998-2003 solo norovirus supuso el 3 % de todos los brotes [149-151;154-161].

Para aproximarnos a la subnotificación de estos brotes podemos referirnos a un estudio puntual hecho en Francia el año 1995 sobre la salmonelosis no tifódica en el cual se observó que solo se habían notificado un 15% de los brotes [162], porcentaje muy bajo si tenemos en cuenta que se trata de una infección para la cual las técnicas diagnósticas están ampliamente consolidadas y disponibles en la mayoría de laboratorios clínicos [163].

No se dispone de datos globales que orienten sobre cual es el nivel de subdetección de los brotes de norovirus, pero es muy probable que sea superior

al de la salmonelosis no tifódica, ya que las técnicas de laboratorio , aunque hayan evolucionado enormemente en los últimos años, todavía están lejos de incorporarse a las pruebas de rutina en todos los laboratorios clínicos [164]. En Inglaterra se estima que el número de casos de gastroenteritis por norovirus es 1.500 veces superior al número de casos registrados [165].

Existe una gran diversidad de alimentos que pueden ser vehículo para norovirus, entre los cuales tienen especial importancia las ostras y los moluscos bivalvos, los bocadillos, las ensaladas, las frambuesas y los pasteles [166]. Estos alimentos pueden estar contaminados en origen o bien pueden haberse contaminado durante el proceso de preparación. Las ostras y bivalvos en general, con su sistema de filtrado concentran las partículas virales presentes en el agua y al ser consumidos se implican con frecuencia en la transmisión de virus entéricos como norovirus y otros. Dado que los norovirus son relativamente resistentes a la inactivación por calor y que el tratamiento con vapor de los bivalvos no elimina el riesgo de transmisión, la cocción ha de asegurar que en el interior del molusco se consiga una temperatura superior a 90°C y que se mantenga como mínimo durante 1,5 minutos [167].

Los alimentos que han sido preparados por un manipulador infectado y no se someten a tratamiento térmico posterior, como los bocadillos y ensaladas o los alimentos que se contaminan por lavado con agua con materia fecal pueden ocasionar brotes, ya que como se ha señalado anteriormente son suficientes unas decenas de partículas para que se transmita la infección [101].

La contaminación de los alimentos a partir de un manipulador que no ha cumplido con las normas higiénicas es muy difícil de demostrar. Estas infecciones pueden ser asintomáticas o con síntomas muy leves [168;169] y la

excreción del virus en una persona infectada puede producirse incluso antes de iniciar los síntomas [119] y prolongarse incluso semanas o meses después de la recuperación [111;117].

Estudios elaborados por diversos autores [170-172] indican que el consumo de marisco ocasiona la mayoría de brotes por norovirus. Sin embargo, estos brotes serían evitables si se incorporasen nuevos parámetros como indicadores de seguridad en los alimentos [173;174]. También cabe considerar que el consumo de frutas y vegetales crudos envasados va aumentando y que estos alimentos pueden provenir de lugares donde se utilicen aguas residuales para regadío. La detección de norovirus en los alimentos es compleja porque se precisa de grandes volúmenes de muestra y porque la baja dosis infectante requiere pruebas muy sensibles para detectar la presencia del virus. Además, no se dispone de un sistema de cultivo celular para norovirus humanos [74]. Los métodos como la microscopía electrónica o el enzimoimmunoanálisis requieren al menos una concentración de 10^5 – 10^6 partículas víricas por mililitro, niveles muy superiores a las dosis infectivas de 10 unidades por gramo de alimento. Las técnicas de amplificación como la RT-PCR han demostrado ser sensibles y específicas para el diagnóstico, aunque todavía necesitan mejora en el sentido de poder cubrir la diversidad antigénica de estos virus [175].

1.4.2 Brotes vehiculados por agua

Aunque los brotes por norovirus transmitidos por agua son mucho menos frecuentes que los vehiculados por alimentos, se han descrito brotes por consumo de agua procedente de la red de distribución pública, pozos, fuentes, hielos comerciales y también algunos relacionados con el baño en lagos y piscinas.

Hasta hace poco, los métodos analíticos no permitían detectar la presencia de norovirus en el agua, por lo que se utilizaba, como método de aproximación, la detección de microorganismos indicadores de contaminación fecal, como por ejemplo el recuento de coliformes [101]. De hecho, el primer brote documentado en el cuál se detectó norovirus en agua se remonta a 1997 [176].

Actualmente, las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa después de la transcripción inversa se pueden aplicar para evaluar la contaminación del agua, pero el problema que se plantea es que es necesaria la concentración de grandes volúmenes de agua para poder detectar la presencia del virus [177]. Desde la perspectiva de salud pública, hay que considerar que la detección del virus en un agua que puede haber sido el mecanismo de transmisión en un brote de gastroenteritis por norovirus confirmaría el brote, pero su ausencia no lo excluye, siempre que los datos epidemiológicos indiquen que el consumo del agua es la explicación más plausible del origen del brote. Obviamente, este razonamiento cobra más fuerza cuanto mayor sea el número de afectados.

Si se sospecha del agua como fuente de infección, hay que clorarla a razón de 10 mg/L durante 30 minutos, aunque incluso estos niveles de cloración pueden resultar ineficaces.

En los Estados Unidos, durante el período 2000- 2004, de un total de 226 brotes de gastroenteritis por norovirus estudiados, sólo 12 (5%) fueron transmitidos por agua [178].

La contaminación de las aguas de consumo puede ser resultado de filtraciones en el sistema de alcantarillado, en inundaciones y lluvias torrenciales o defectos en el sistema de cloración [179;180]. En los últimos años ya se han publicado varios trabajos que muestran que el consumo o el contacto en zonas recreativas con aguas contaminadas es causa de brotes [105;123].

1.4.3 Brotes de transmisión de persona a persona

Uno de los motivos por los cuales algunos autores consideran que las infecciones por norovirus son un problema emergente es porque, debido a los cambios en el estilo de vida de los países desarrollados y al envejecimiento de la población, existe un mayor número de personas que viven en residencias geriátricas [90;118].

La infección por norovirus puede ser muy debilitante en personas de edad avanzada y ser motivo de hospitalización.

Dada la baja dosis infectante, y las características de resistencia medioambientales del virus, cuando se produce un caso entre residentes o entre personal cuidador en una institución de este tipo, suelen aparecer casos secundarios. Tanto si el origen del brote en una institución cerrada es el consumo de algún alimento contaminado como si es el contacto directo con algún miembro de la comunidad que estuviera excretando el virus (antes, durante o después de presentar manifestaciones clínicas), lo cierto es que la transmisión de la infección a los trabajadores, y especialmente a otros internos, es muy frecuente.

Teniendo en cuenta, por un lado, la mayor susceptibilidad a la infección y a la enfermedad que tienen las personas de edad avanzada, y por otro, la ausencia de inmunidad duradera después de enfermar, es muy importante que en las residencias geriátricas se adopten estrictas medidas de higiene tan pronto como aparezcan los primeros casos. Si no se procede de este modo, la infección inevitablemente se expandirá [181]. La transmisión se produce fundamentalmente por contacto directo de persona a persona pero también debe considerarse la formación de aerosoles con partículas víricas durante el vómito [100].

Cuando estos brotes se producen en un hospital o centro sociosanitario tienen repercusiones particulares, porque las personas ingresadas tienen mayor riesgo de complicaciones [113], así como también por la importancia del coste económico que de ello se deriva. Las complicaciones que pueden aparecer son la deshidratación, trastornos electrolíticos y aspiración de vómitos. Algunos estudios relacionan estos procesos con un incremento en la mortalidad [182;183]. El hecho de que muchos autores incluyan los brotes de los centros sociosanitarios en la misma categoría que las residencias geriátricas dificulta la valoración real del problema que plantean este tipo de brotes en dichas instituciones [102]. Los brotes en centros sociosanitarios deberían considerarse como una categoría específica, ya que en este tipo de instituciones los brotes de gastroenteritis por norovirus se transmiten muy rápidamente, con elevadas tasas de ataque y son especialmente difíciles de controlar [101]. Un aspecto a destacar son los costes generados por los brotes nosocomiales de gastroenteritis. En un brote de infección por norovirus ocurrido en Suiza, afectando a 16 pacientes hospitalizados y 26 trabajadores del centro, se calculó que los gastos atribuibles al brote teniendo en cuenta los ingresos perdidos, los servicios adicionales de enfermería, las determinaciones microbiológicas, la pérdida de productividad de los trabajadores afectados y el equipamiento necesario para el control de la infección, sumaron un total de \$65.190 [184]. Un estudio similar realizado en el Reino Unido, el coste medio por brote de gastroenteritis nosocomial se estimó en \$11.000 [185]. Además, la duración del proceso en personas hospitalizadas es más largo y por lo tanto, se incrementa el tiempo en el que pueden producirse nuevos contagios. Estos hechos avalan la importancia de implementar medidas de prevención de la infección nosocomial por norovirus.

Para la limpieza de superficies salpicadas con heces o vómitos se recomienda una primera limpieza con detergente y agua caliente y posteriormente aplicar una solución de hipoclorito sódico (5.000 ppm de cloro disponible) [96]. Si las superficies no admiten cloro se recomienda la limpieza con vapor, derivados fenólicos o peróxido de oxígeno [96].

Para los brotes de gastroenteritis que ocurren en otros ámbitos como el familiar, la información disponible es limitada ya que no siempre se incluyen dichos brotes en los trabajos publicados.

En algunos países los brotes familiares no se deben notificar, pero sería conveniente que siempre fuesen de notificación obligatoria, ya que a partir de la investigación epidemiológica se pueden llegar a identificar más casos con un origen común fuera de la familia, y consecuentemente, la magnitud del problema se estimaría mejor.

En los últimos años han adquirido especial atención los brotes en cruceros. Algunos autores señalan que el incremento de brotes de gastroenteritis detectado en cruceros es tan sólo un reflejo del incremento en la circulación de estos virus en la comunidad [186;187]. Los cruceros han aumentado de forma espectacular y las características intrínsecas de este tipo de turismo hacen que sean un terreno abonado para la transmisión de norovirus. Muchas de las actividades que se llevan a cabo se hacen en espacios cerrados, se visitan muchas ciudades donde los pasajeros se relacionan con personas y ambientes donde puede haber norovirus, ya que como se ha señalado anteriormente, el virus se encuentra muy diseminado en la comunidad [188]. Los brotes en cruceros, que afectan a centenares de personas, se transmiten por mecanismos mixtos y acostumbran a ser recurrentes en los diversos viajes hechos en la misma nave y/o con la

misma tripulación. Se trata de brotes en los cuales a partir de una fuente común, frecuentemente alimentos contaminados, la transmisión de persona a persona es muy fácil [189].

La prevención de estos brotes debe constar de varias medidas como el control de los alimentos y de su manipulación, desinfecciones ambientales adecuadas, adopción de precauciones de contacto con las personas enfermas y promoción del lavado de manos en la tripulación y también en los pasajeros y tripulación. Es importante asegurar que no se penalice a los tripulantes por comunicar su enfermedad. Algunos autores señalan que debería disuadir a los pasajeros con sintomatología en el momento de embarcarse para evitar que se introduzca el virus a bordo [190]. Un problema adicional que plantean los brotes en cruceros es que no suele estar claro quien ha de ser el responsable de la vigilancia, ya que estos buques llegan a distintas ciudades en países diferentes, por lo que la coordinación de la investigación no resulta nada fácil [191].

Es frecuente que cuando las autoridades sanitarias de un país reciben la notificación del problema, ya no estén ni el buque ni sus pasajeros [186]. Cuando son de poca duración, todavía es más difícil identificar la causa debido a la rápida dispersión de los afectados. Ante estas dificultades se plantea que la investigación y las actuaciones de control de los brotes asociados a cruceros se rijan por una normativa de ámbito internacional [90;190;191].

2.

JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

La gastroenteritis aguda es un problema de salud importante, constituyendo la primera causa de morbilidad y de mortalidad en la población infantil en los países en vías de desarrollo. En los países desarrollados cerca del 10% de las hospitalizaciones en menores de 5 años se produce por esta causa. Afecta también a los adultos y especialmente a los ancianos, suponiendo el segundo o tercer motivo de consulta en servicios sanitarios de todo tipo. Las gastroenteritis agudas pueden estar causadas por bacterias, parásitos y virus enteropatógenos, entre los que se han reconocido claramente hasta la actualidad rotavirus, calicivirus, astrovirus y adenovirus. Se estima que estos virus pueden suponer casi el 80% del total de gastroenteritis aguda. La verdadera magnitud de estos procesos es difícil de estimar puesto que los casos aislados, más o menos leves, suelen pasar desapercibidos por los sistemas de notificación y vigilancia.

En Cataluña, las gastroenteritis en general y en especial las vehiculadas por alimentos, constituyen uno de los procesos que más frecuentemente afectan a la población.

3.

HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

En los últimos años la disponibilidad de técnicas de diagnóstico que permiten la identificación de los virus causantes de gastroenteritis ha puesto de manifiesto que los brotes por norovirus son mucho más frecuentes de lo que se podría pensar. La descripción epidemiológica de los brotes de gastroenteritis aguda causada por norovirus puede poner de manifiesto la situación en la que se encuentran dichas gastroenteritis en Cataluña en relación con la de otros países europeos y a nivel mundial.

La hipótesis planteada en este estudio es que a nivel poblacional la importancia de los brotes de gastroenteritis por norovirus es similar a la de los brotes causados por otros agentes infecciosos de relevancia contrastada como *Salmonella enterica*.

4.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

Con el propósito de contribuir al mejor conocimiento de la relevancia de los brotes de gastroenteritis por norovirus en Cataluña, los objetivos que se plantean en este estudio son:

- Conocer la frecuencia, los mecanismos de transmisión implicados y los ámbitos en que se producen los brotes de gastroenteritis aguda causados por virus en Cataluña
- Cuantificar la magnitud de la enfermedad que ocasionan los brotes de etiología vírica
- Investigar la implicación de los manipuladores de alimentos en los brotes de transmisión alimentaria de etiología vírica
- Determinar las fuentes de infección que han originado los brotes de transmisión persona a persona de etiología vírica

5.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material y métodos

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Población de estudio

La población de estudio fue la población afectada por los brotes de gastroenteritis aguda declarados a las Unidades de Vigilancia Epidemiológica del Departamento de Salud de la Generalitat de Catalunya correspondientes al lugar donde se presentaron dichos brotes durante el período transcurrido desde el 15 de Octubre del año 2004 al 30 de Octubre del año 2005.



5.2 Aislamiento e identificación

5.2.1 Norovirus, rotavirus, adenovirus y astrovirus

En las muestras de heces obtenidas de los afectados y de manipuladores o cuidadores relacionados con los brotes notificados se llevó a cabo la determinación primero por enzimoimmunoensayo para norovirus genogrupos I y II (IDEIA™ norovirus, DakoCytomation), rotavirus del grupo A (IDV Rotavirus-96.Izasa), astrovirus (IDEIA™ Astrovirus, DakoCytomation) y adenovirus de los serotipos 40 y 41 (IDV Adenovirus-96.Izasa). Además se practicó reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR).

Para la RT-PCR de norovirus se emplearon los cebadores diseñados para la región parcial de polimerasa ARN (*Open Reading Frame-ORF1*): Novp110 (5'-ACD ATY TCA TCA TCA CCA TA – 3') para la transcriptasa inversa y JV12 (5'-ATA CCA CTA TGA TGC AGA TTA – 3') y JV13 (5'-TCA TCA TCA CCA TGA AAA GAC – 3') para la PCR [127].

Para rotavirus los cebadores empleados fueron VP6-3 (5'-GCT TTA AAA CGA AGT CTT CAA C – 3') y VP6-4 (5'-GGT AAA TTA CCA ATT CCT CCA G – 3') [192].

Los cebadores empleados para adenovirus fueron hexAA1885 (5'-GCCGCAGTGGTCTTACATGCACATC-3') y hex AA1913(5'-CAGCACGCCGCGGATGTCAAAGT-3'), que amplifican un fragmento de 301 pares de bases dentro de la región del hexón del genoma de adenovirus [193].

Para el genogrupo A de astrovirus se usaron los grupos de cebadores A1 (5'-CCTGCCCGAGAACAACCAAGC-3') y A2 (5'-GTAAGATTCCCAGATTGGTGC-3') de la región hipervariable de la ORF1a

del genoma de astrovirus [65] y para la detección de genogrupo B el A1bis (5'-CCTGCCCCCGTATAATTAAC-3') y A2bis (5'-ATAGGACTCCCATATAGGTGC-3')[194]. Los productos de la PCR se revelaron sobre gel de agarosa teñido con 2% bromuro de etidio y purificado con QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Hilden, Germany).

5.2.2 Biología molecular de Norovirus

Extracción del ARN:

El ARN vírico se extrajo de la suspensión al 20% en tampón fosfato (PBS) de muestras de heces según metodología descrita en el manual de el preparado comercial QIAmp viral RNA Minikit (Quiagen Hilden, Germany) o Triazol LS (Invitrogen, Paisley, Scotland) eluyendo en agua tratada con dietil-policarbonato con RNAsin (Promega, Madison, Wis.,U.S.A.) y transcripción inmediata o congelado a -80°C hasta su transcripción.

Reacción en cadena de polimerasa de transcripción inversa:

Se llevó acabo la RT-PCR con 4 µL de extracto ARN. Como cebadores para la transcriptasa inversa se utilizó Nvp 110 y para la PCR se usaron los cebadores JV12 y JV13 para amplificar la secuencia de 326 nucleótidos (nucleótidos 4279-4604 según numeración Lordsdale [*GenBank accession number X86557*]) de la región A de la polimerasa del ARN.

Electroforesis en gel y Southern blot para los productos de la PCR:

Los productos de la amplificación PCR se analizaron en gel agarosa al 1,5% con bromuro de etidio y lectura a luz ultravioleta. El *Southern blot* se practicó para confirmar que los fragmentos de 327 nucleótidos pertenecían a norovirus [87].

Secuenciación y genotipado:

El genotipado de norovirus se llevó a cabo secuenciando los amplímeros con los cebadores JV12 y JV13 usando el sistema ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster, Cal., USA.) y un secuenciador automático (Applied Biosystems ABI PRISM 377).

Los norovirus fueron identificados mediante el programa BLAST disponible en www.ncbi.nlm.nih.gov/blast y la base de datos *Quicktyping FBVE* disponible en <https://hypocrates.rivm.nl/bnwww/Divine-Event/index.html> que permite comparar cada secuencia con una base de datos de secuencias consensuadas como pertenecientes a genotipos de norovirus. Está establecido que para genogrupos I y II, las cepas pertenecientes al mismo genotipo presentan respectivamente un 87% y un 91% de nucleótidos idénticos en su fragmento de ARN.

Análisis filogenético:

Mediante el programa Genedoc versión 2.6 se tradujo las secuencias de nucleótidos en aminoácidos y el contenido filogenético de estos datos se valoró mediante el programa Tree-Puzzle versión 5.2. Este método se basa en un análisis de máxima similitud para reconstruir un árbol filogenético. El árbol filogenético se diseñó mediante el programa MEGA versión 3.1

5.3 Aislamiento e identificación de otros agentes infecciosos

Las muestras de heces se sembraron en medios selectivos y diferenciales para estudiar *Salmonella* (MacConkey agar, *Salmonella-Shigella* agar, Xylose-Lysine-Desoxycholate agar y caldo nutritivo Selenite), *Shigella* (MacConkey agar y *Salmonella-Shigella* agar), cepas O157:H7 de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (MacConkey agar con sorbitol), *Yersinia* (Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin, CIN agar), *Campylobacter* (Charcoal agar), *Vibrio* (Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose, agar-TCBS) y *Aeromonas* spp (*Pseudomonas-Aeromonas* agar con 100.000 UI por litro de Penicillin G, GSP-agar). Los genes específicos de virulencia de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC) y enterotoxigénica (ETEC) fueron caracterizados por PCR convencional utilizando cebadores específicos. Las cepas de patógenos entéricos se identificaron mediante perfil bioquímico con el sistema automatizado de identificación Vitek 2 (bioMérieux) y la determinación de los antígenos (O, H y Vi) se llevó a cabo por aglutinación en porta con el antisuero adecuado.

La sensibilidad antibiótica de los patógenos entéricos se determinó por método de disco-difusión en agar Mueller-Hinton usando los discos antibióticos Rosco (Neo-Sensitab; Rosco Diagnostica, Tastrup, Denmark). La tipificación de las cepas aisladas asociadas al brote se determinó mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE).

En aquellos brotes en que se sospechaba una infección parasitaria se estableció el diagnóstico por examen microscópico directo o después de concentración de la muestra de heces conservada en MIF (Merthiolate-iodine-formalin) para determinar la presencia de huevos, trofozoitos o quistes de parásitos. Los ooquistes de *Cryptosporidium* fueron examinados por tinción de Auramina y Ziehl-Neelsen del material fecal conservado en formol al 10%.

5.4 Definiciones

5.4.1 Brote de gastroenteritis:

Bajo el término de gastroenteritis se engloban diversos tipos de irritación e infección del tracto digestivo que ocasionan trastornos diversos como son pérdida de apetito, náuseas, diarrea, también pueden aparecer vómitos, dolor abdominal, fiebre y debilidad. Las deposiciones suelen ser líquidas y pueden contener sangre o mucosidad. La sintomatología varía según el agente causal de la enfermedad.

Se define como brote de gastroenteritis la aparición de dos o más casos de gastroenteritis que hayan estado expuestos a una fuente de infección común o que se hallen relacionados en el espacio y en el tiempo.

5.4.2 Brote de gastroenteritis por norovirus

Se define como brote de gastroenteritis por norovirus la aparición de dos o más casos de gastroenteritis con sintomatología y criterios compatibles (Tabla 5.4.2) y/o al menos 1 muestra positiva a norovirus por técnica RT-PCR que hayan estado expuestos a una fuente de infección común o que se hallen relacionados en el espacio y en el tiempo.

Los brotes para los cuales no se haya podido recoger muestras o que las muestras no hayan sido positivas por RT-PCR y que cumplan los criterios de Kaplan se han incluido en esta categoría.

Tabla 5.4.2. Criterios de Kaplan para la identificación de brotes de gastroenteritis por norovirus [131]

Criterios de Kaplan
>50% afectados con vómitos
Promedio de mediana de periodo de incubación entre 24-48 horas
Promedio de mediana de duración de síntomas entre 12-60 horas
Estudio de heces negativo para otros patógenos

5.5 Estudio epidemiológico descriptivo

Para el cálculo de las tasas de incidencia anual y de tasa de incidencia de brote se utilizó como numerador la población afectada durante el periodo de un año natural (15 de Octubre del 2004 a 14 de Octubre del 2005) y como denominador la población censada en Cataluña correspondiente al año 2005 según consta en el registro del Instituto de Estadística de Cataluña [195]. De dicha base de información se tomaron los datos correspondientes a la distribución por edad y sexo quinquenal y se construyó la distribución de la población en grupos de edad (Tabla 5.5.1)

Tabla 5.5.1 Tabla de distribución de población por grupos de edad. Cataluña, 2005

Edad	Hombres	Mujeres	Total
De 0 a 4 años	184.635	174.225	358.860
De 5 a 9 años	163.145	153.097	316.242
De 10 a 14 años	160.821	152.093	312.914
De 15 a 64 años	2.479.418	2.377.048	4.856.466
De 65 a 84 años	441.703	576.730	1.018.433
Mayores 85 años	38.513	93.778	132.291
Total	3.468.235	3.526.971	6.995.206

La distribución de la población en las distintas Regiones Sanitarias vigentes en el periodo de estudio, Barcelonés Nord i Maresme (BNM), Costa de Ponent (CP), Regió Centre (RC), Barcelona ciudad, Girona, LLeida, Tarragona y Terres del Ebre se obtuvo del registro del Servei Català de la Salut (SCS) del año 2004 (Tabla 5.5.2).

Tabla 5.5.2 Tabla de distribución de población por Región Sanitaria. Cataluña, 2004

Región Sanitari	Población
BNM	751.916
CP	1.313.203
RC	1.511.896
BCN ciudad	1.578.546
Girona	621.891
Lleida	368.035
Tarragona	498.668
Terres del Ebre	169.164
Total habitantes	6.813.319

5.5.1 Incidencia de los brotes de gastroenteritis aguda por norovirus

Tasa de incidencia anual de casos

Cálculo de la tasa de incidencia anual de casos asociados a brotes de gastroenteritis aguda (GEA) causada por norovirus (NoV) durante un año natural del período de estudio (15 de Octubre del 2004 a 14 de Octubre del 2005).

Se han calculado las tasas de incidencia para el total de Cataluña y para sus regiones sanitarias (RS) según:

Nº casos de GEA por NoV asociados a brotes ocurridos en Cataluña en 1 año
Total de la población de Cataluña según censo IDESCAT para el año 2005

O bien

Nº casos de GEA por NoV asociados a brotes ocurridos en cada RS en 1 año
Población de Cataluña distribuida por RS según censo SCS para el año 2004

Tasa de incidencia de brotes

Cálculo de la tasa de incidencia anual de brotes de gastroenteritis aguda causada por norovirus durante período de estudio (15 de Octubre del 2004 a 30 de Octubre del 2005).

Se han calculado las tasas de incidencia de brotes para el total de Cataluña y para sus regiones sanitarias (RS) según:

$$\frac{\text{Nº de brotes de GEA por NoV ocurridos en Cataluña en 1 año}}{\text{Total de la población de Cataluña según censo IDESCAT para el año 2005}}$$

O bien

$$\frac{\text{Nº de brotes de GEA por NoV ocurridos en cada RS en 1 año}}{\text{Población de Cataluña distribuida por RS según censo SCS para el año 2004}}$$

5.5.2 Incidencia de los brotes de gastroenteritis aguda por otros agentes.

Tasa de incidencia anual de casos

Cálculo de la tasa de incidencia anual de casos asociados a brotes de gastroenteritis aguda causada por otros agentes durante un año natural del período de estudio (15 de Octubre del 2004 a 14 de Octubre del 2005).

Se han calculado las tasas de incidencia para el total de Cataluña y para sus regiones sanitarias (RS) según:

$$\frac{\text{Nº casos de GEA no-NoV asociados a brotes ocurridos en Cataluña en 1 año}}{\text{Total de la población de Cataluña según censo IDESCAT para el año 2005}}$$

O bien

$$\frac{\text{Nº casos de GEA no-NoV asociados a brotes ocurridos en cada RS en 1 año}}{\text{Población de Cataluña distribuida por RS según censo SCS para el año 2004}}$$

Tasa de incidencia de brotes

Cálculo de la tasa de incidencia anual de brotes de gastroenteritis aguda causada por otros agentes durante período de estudio (15 de Octubre del 2004 a 30 de Octubre del 2005).

Se han calculado las tasas de incidencia de brotes para el total de Cataluña y para sus regiones sanitarias (RS) según:

$$\frac{\text{Nº brotes de GEA por NoV ocurridos en Cataluña en 1 año}}{\text{Total de la población de Cataluña según censo IDESCAT para el año 2005}}$$

O bien

$$\frac{\text{Nº de brotes de GEA por NoV ocurridos en cada RS en 1 año}}{\text{Población de Cataluña distribuida por RS según censo SCS para el año 2004}}$$

5.6 Recogida de información

5.6.1 Cuestionario de brote

Se elaboró un cuestionario en formato ACCESS versión 2003 © Microsoft Corporation, para introducir la información de las encuestas epidemiológicas concernientes a cada brote de gastroenteritis con sospecha de naturaleza vírica. Dichos cuestionarios fueron completados por sus respectivas unidades de vigilancia epidemiológica y enviados en formato electrónico a la Direcció General de Salut Pública del Departament de Salut (Subdirecció General de Vigilància i Resposta a Emergències en Salut Pública)

Las variables recogidas para caracterizar cada brote se listan a continuación:

- 1. Código del brote:** Los códigos de brote están formados por 3 letras identificadoras de la unidad de vigilancia (ASPB, BNM, CP, RC, GI, LLE, TA y TE) 2 cifras identificadoras del número de brote dentro de la correspondiente unidad de vigilancia y 2 cifras correspondientes al año. unidad epidemiológica (ASPB, BNM, CP, RC, GI, LLE, TA y TE), número y año correspondientes.
- 2. Ámbito del brote:** Ámbito en el cuál se presentó el brote (familiar, hostelería, establecimientos alimentarios, escolar, guardería, casa de colonias, centro socio-sanitario, residencia de ancianos, hospital, otros)
- 3. Los datos Fecha de declaración** (fecha de declaración del brote a la unidad de vigilancia), **Fechas de recogida de muestras del alimento sospechoso y de agua** (fecha de recogida de alimento o agua sospechosos de haber causado el brote), **Día de consumo del alimento sospechoso y de agua** (fecha de consumo del alimento y/o agua sospechosos) se consignaron con formato dd/mm/aa.

4. **Municipio:** Municipio donde ocurrió el brote sin tener en cuenta la residencia de los afectados.
5. **“Muestras del alimento sospechoso y de agua”** Se constató si se tomaron muestras de alimentos y/o agua consignando las opciones (0= No ; 1= Sí ; 2= NC) y en caso afirmativo se especificó la fecha de recogida (en el formato anteriormente especificado) y en caso afirmativo, el resultado obtenido (Agente, genogrupo, genotipo) y, en el caso del agua, el nivel de cloración.
6. **“Mecanismo de transmisión”:** Mecanismo de transmisión que originó el brote (1= Alimentario; 2= Hídrico; 3= Interpersonal; 4= Alimentario-Interpersonal; 5= Hídrico-Interpersonal).
7. **“Alimento implicado epidemiológicamente”:** Alimento que tras el análisis epidemiológico se consideró que estaba implicado. También figuraba el día y la hora en que se consumió el alimento
8. **“Agua”** En caso de que se sospechara que la exposición hubiera sido el consumo de agua, se constató si se consumió agua en el ámbito del brote (0= No; 1= Sí) durante un periodo entre 12-48 horas antes del inicio de síntomas y en caso afirmativo se especificó la fecha y el tipo de agua ingerida (red de abastecimiento público, Pozo, Fuente, Otras) contestando (0= No; 1= Sí).

BROTS DE GASTROENTERITIS AGUDA VÍRICA

Buscar registre

DADES D'IDENTIFICACIÓ

Codi del Brot

Àmbit del brot

Data de declaració

Municipi

S'han prèss mostres clíniques?
 Sí No NC

Agent

Quantes?

Grup

Quantes han estat positives?

Tipus

S'ha prèss mostra de l'aliment sospitós?
 Sí No NC

Agent

Data recollida

Grup

Tipus

S'ha prèss mostra d'aigua?
 Sí No NC

Agent

Data recollida

Grup

Tipus

Nivell de cloració

Transmissió Alimentària Hídrica Interpersonal Alimentària - Hídrica Hídrica - Interpersonal

Aliment implicat epidemiològicament

Dia de consum

Hora de consum

Consum d'aigua (setmana abans) Sí No

Dia de consum

Tipus Xarxa pública
 Pou
 Font
 Altres

Especificar
 Especificar
 Especificar
 Especificar



5.6.2 Cuestionario de caso

Las variables recogidas para caracterizar cada caso se listan a continuación:

1. **Código de brote:** Código de brote según descritos en el apartado anterior
2. **Caso del brote:** Número de orden de caso
3. **Nombre:** Nombre del paciente. En aquellos pacientes con nombres compuestos se hizo constar el primer nombre completo y la primera letra de segundo nombre.
4. **Apellidos:** Apellidos del paciente. Los apellidos compuestos se consignaron completos (p.ej. del Valle, Rodríguez de las Heras).
5. **Edad :** Se consignó la edad del paciente
6. **Sexo:** sexo del paciente (1= hombre; 2=mujer).
7. Se consignó si se trataba de un **caso** (1) o un **control** (0).
8. Las fechas de (**Fecha de inicio de síntomas, último día con síntomas, fecha de ingreso, fecha de alta, fechas de baja y alta laboral /escolar, fecha de inicio de tratamiento, fecha de recogida de muestras clínicas**) introducidas en formato dd/mm/aa.
9. Las **horas** se entraron en formato hh:mm (hora de 0 a 23)
10. **Primer síntoma :** Se anotó cuál fue el primer síntoma, y dentro del listado de síntomas se marcaron los síntomas presentados por el caso, cuáles sí y cuales no o no constan (0= No ; 1= Sí; 2= NC). En el caso que presentara diarrea o vómitos, se anotó la frecuencia de dichos síntomas por día. En caso de que presentase fiebre se anotó la temperatura máxima presentada. Si presentó además otros síntomas distintos a los listados se marcó la casilla "Otros" y se detalló en la casilla "Especificar".

11. **“Ha acudido a algún centro sanitario”** Se constató si el caso acudió a algún centro sanitario escogiendo una de las opciones (0= No; 1= Sí ; 2= NC) y en caso afirmativo se consignó el nombre del centro.
12. **“Estuvo hospitalizado”**: Se constató si el caso estuvo ingresado en un centro hospitalario escogiendo una de las opciones (0= No; 1= Sí; 2= NC) y en caso afirmativo se consignó el nombre del hospital así como las fechas de ingreso y de alta (en el formato anteriormente especificado).
13. **“Ha dejado de asistir a la escuela o al trabajo”**: Se constató si el paciente dejó de acudir a la escuela o al trabajo (0= No ; 1= Sí ; 2= NC) y en caso afirmativo se anotaron las fechas de baja y de alta (en el formato anteriormente especificado).
14. **“Ha tomado algún antibiótico”**: Se constató si para dicho proceso, el paciente tomó algún tipo de antibiótico (0= No; 1= Sí; 2= NC) y en caso afirmativo se especificó la fecha de inicio del tratamiento (en el formato anteriormente especificado) y el antibiótico administrado .
15. **“Muestras clínicas “**: Se constató si se recogieron muestras clínicas del caso escogiendo una de las opciones (0= No; 1= Sí ; 2= NC) y en caso afirmativo, se consignó la fecha de recogida (en el formato anteriormente especificado), el tipo de muestra tomada, la técnica utilizada en su análisis y el resultado obtenido (1= Positivo, 0= Negativo, 2= NC). Si se realizaron más de una técnica para virus se consignó el resultado de la PCR.
16. **“Ocupación”**: Se constató la ocupación del caso escogiendo de una de las opciones (1= Niño en guardería; 2= Manipulador de alimentos; 3= Trabajador sanitario; 4=Trabajador en guardería; 5= Trabajador en instituciones cerradas). En caso de tratarse de un trabajador de una guardería, se consignó también si atendía a cambios de pañales

(0= No; 1= Sí) y/o si era monitor de comedor (0= No; 1= Sí). En el caso de trabajadores de una institución cerrada se especificó qué tipo de institución en la casilla en blanco. También se recogió el nombre, dirección y teléfono del lugar de trabajo.

PACIENTES DE GASTROENTERITIS AGUDA VÍRICA

DADES D'IDENTIFICACIÓ

Codi del brot	<input type="text"/>	Cas dins el brot	<input type="text" value="1"/>
Nom	<input type="text"/>	Cognoms	<input type="text"/>
Edat	<input type="text"/>	Sexe	<input type="radio"/> Home <input type="radio"/> Dona

DADES CLÍNQUES

Data d'inici de símptomes	<input type="text"/>	Hora	<input type="text"/>
Quin ha estat el primer símptoma?	<input type="text"/>		

Símptomes presentats

Diarrea aquosa <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC Cops/dia diarrea aquosa <input type="text"/>	Diarrea amb sang o moc <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC Cops/dia diarrea sang/moc <input type="text"/>
Diarrea sense especificar <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC Cops/dia diarrea sense esp. <input type="text"/>	Vòmits <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC Cops/dia vòmits <input type="text"/>
Febre <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC Temperatura màxima <input type="text"/>	Dolor abdominal <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC
Nàusees <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC	Cefalees <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC
Mialgies <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC	Calfreds <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC
Faringo-amigdalitis <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC	Otitis <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC
Coriza <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC	Tos <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> NC
Altres <input type="checkbox"/> Especificar <input type="text"/>	
Quin ha estat el darrer dia amb símptomes? <input type="text"/>	

Ha acudit a algun centre sanitari? <input type="radio"/> SI <input type="radio"/> No <input type="radio"/> NC	Nom centre sanitari <input type="text"/>
Ha estat hospitalitzat? <input type="radio"/> SI <input type="radio"/> No <input type="radio"/> NC	Nom centre hospitalari <input type="text"/> Data d'ingrés <input type="text"/> Data alta ingrés <input type="text"/>
Ha deixat d'acudir al treball o a l'escola? <input type="radio"/> SI <input type="radio"/> No <input type="radio"/> NC	Data de baixa <input type="text"/> Data d'alta <input type="text"/>
Ha prèes algun antibiòtic per a la malaltia? <input type="radio"/> SI <input type="radio"/> No <input type="radio"/> NC	Data inici tractament <input type="text"/> Especificar antibiòtic <input type="text"/>

DADES MICROBIOLÒGIQUES

S'han prèes mostres clíniques? <input type="radio"/> SI <input type="radio"/> No <input type="radio"/> NC	Data de recollida <input type="text"/>
	Tipus de mostra <input type="text"/>
	Tècnica <input type="text"/>
	Resultat <input type="radio"/> Positiu <input type="radio"/> Negatiu <input type="radio"/> NC
	Agent <input type="text"/>
	Grup <input type="text"/>
	Tipus <input type="text"/>

DADES EPIDEMIOLÒGIQUES

Ocupació en l'àmbit del brot <input type="radio"/> Nen que assisteix a escola bressol <input type="radio"/> Manipulador d'aliments <input type="radio"/> Treballador en establiment sanitari <input type="radio"/> Treballador en escola bressol/escola Canvia bolquers? <input type="checkbox"/> És monitor de menjador <input type="checkbox"/> <input type="radio"/> Treballador en altres institucions tancades. Especificar <input type="text"/>	Nom del centre de treball <input type="text"/> Adreça <input type="text"/> Telèfon <input type="text"/>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------

⏪ ⏩

▶ ▶▶

5.6.3 Cuestionario de manipulador

Criterio de inclusión: Se consideró manipulador aquella persona implicada en la elaboración y/o preparación de alimentos que no hubiera ingerido el alimento sospechoso de ser causa del brote, y que no hubiesen enfermado dentro del mismo periodo que los casos. De no ser así se consideró como caso perteneciente al brote.

Las variables recogidas para caracterizar cada manipulador asociado a brotes se listan a continuación:

1. **Código de brote:** Código de brote según descritos en el apartado anterior
2. **Identificador:** Número correspondiente al listado de manipuladores implicados.
3. **Nombre:** Nombre del manipulador. En aquellos manipuladores con nombres compuestos se constató el primer nombre completo y la primera letra de segundo nombre.
4. **Apellidos:** Apellidos del manipulador. Los apellidos compuestos se consignaron completos (p.ej. del Valle, Rodríguez de las Heras).
5. **Edad :**Se consignó la edad del paciente
6. **Sexo:** sexo del paciente (1= hombre; 2=mujer).
7. **Fechas de recogida de muestras** introducidas en formato dd/mm/aa.
8. **“Tipo de muestra “:** Se constató el tipo de muestra tomada (heces, frotis rectal, ungeal, nasal o faríngeo) la técnica utilizada en su análisis y el resultado obtenido (1= Positivo, 0= Negativo, 2= NC). Si se realizaron más de una técnica para virus se consignó el resultado de la PCR.

MANIPULADORS Buscar registre

Codi del Brot Identificador del manipulador

Nom Cognoms

Edat Sexe Home Dona

DADES DE LA MOSTRA

Data de recollida Tipus de mostra

Tècnica d'anàlisi

Resultat

Positiu

Negatiu

NC

Agent

Grup

Tipus

◀ ◁ ▶ ▷

5.6.4 Base de datos

Se elaboró una base de datos en SPSS versión 12.0[®] para las variables incluidas en la encuesta de brote, en la encuesta de caso y en la de manipuladores.

Se introdujeron nuevas variables derivadas:

1. Periodo de tiempo transcurrido entre el inicio de síntomas del primer caso y del último caso
2. Porcentaje de sintomatología observada en cada brote
3. Porcentaje de hospitalización
4. Duración de la enfermedad
5. Tasa de ataque :
$$\frac{\text{Número de afectados}}{\text{Número total de expuestos}}$$
6. Mediana de edad por brote
7. Porcentaje de absentismo

5.6.5 Validación de datos y cálculo estadístico

Los datos fueron validados mediante revisión exhaustiva de los informes generados con la investigación de cada brote por parte de las unidades de vigilancia correspondientes.

Se realizó un estudio de asociación de las variables cualitativas calculando el grado de significación mediante la prueba de χ^2 , Fisher y las Odds ratio (OR) con sus intervalos de confianza al 95%. Se realizó comprobación de normalidad mediante Shapiro-Wilks, pruebas no paramétricas para comparación de medias y medianas mediante test de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis.

El grado de significación estadística se estableció en $\alpha=0,05$. Los intervalos de confianza del 95% de las tasas de incidencia se calcularon asumiendo una distribución de Poisson.

6.

RESULTADOS

Resultados

6. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se notificaron 62 brotes de gastroenteritis aguda con sospecha de etiología vírica que resultaron negativos para bacterias, parásitos y toxinas. Dos de estos brotes se descartaron por imposibilidad de obtención de muestras y no cumplir con los criterios de Kaplan. De los 60 brotes, 28 (46,7%) fueron positivos a norovirus con ≥ 3 muestras positivas, 27 (45% con ≥ 1 muestra positiva a norovirus y 5 (8,3%) que no tenían muestras o ninguna positiva pero que cumplían los criterios de Kaplan. En 51 de estos brotes se consideró como agente causal norovirus y 4 brotes se identificó infección mixta con adenovirus, astrovirus del genogrupo A, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium y *Vibrio parahaemolyticus*.

6.1 Estudio descriptivo de la incidencia de brotes de gastroenteritis por norovirus

6.1.1 Incidencia según región sanitaria

La tasa de incidencia de brotes para el global de Cataluña fue de 8,1 brotes por millón de personas/año. Según localización, la Región Sanitaria de Lleida, con un tasa de 27,2 por millón de personas /año, fue la que presentó una tasa mayor, seguida de la Región Sanitaria de Girona con 16,2. La tasa menor se observó en Barcelona ciudad con 3,8 brotes por millón de personas / año. (Figura 6.1.1.1). No se observaron diferencias significativas entre regiones sanitarias.

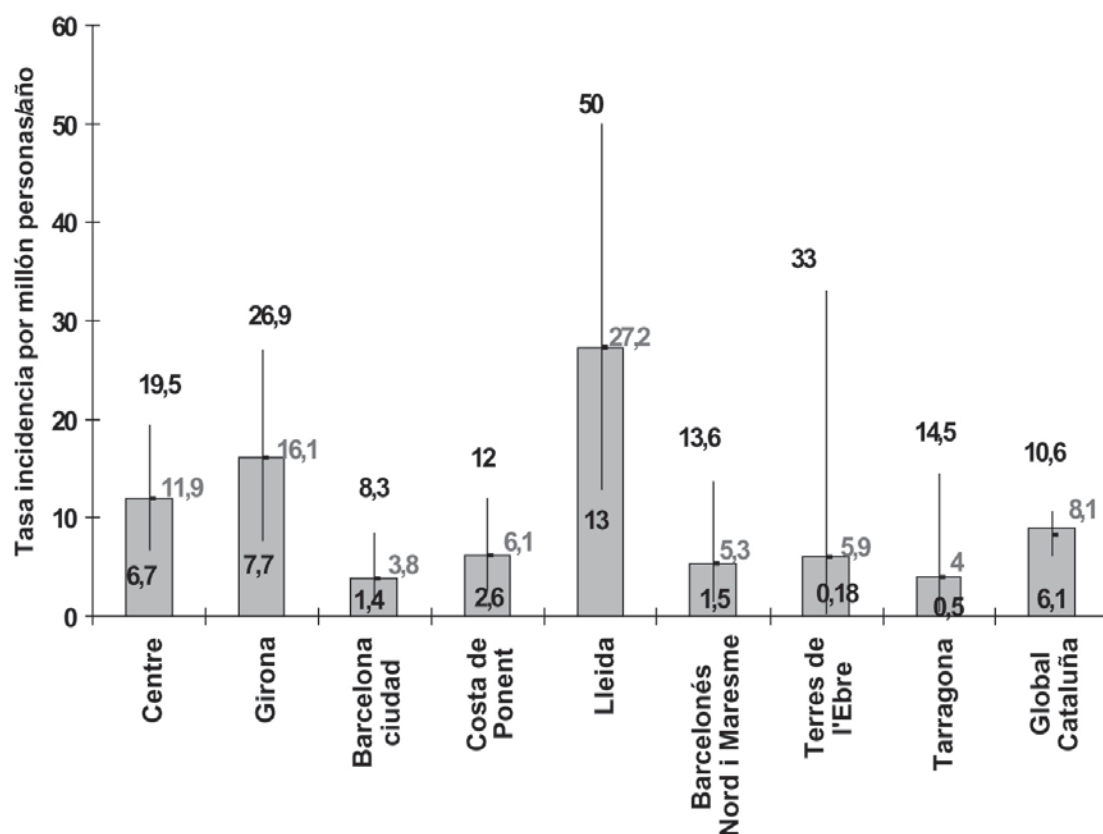


Figura 6.1.1.1. Tasa de incidencia anual de brotes de gastroenteritis causadas por norovirus. Distribución por región sanitaria. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

La tasa de incidencia anual de casos asociados a brotes de gastroenteritis causadas por norovirus fue mayor tasa en la región de Terres de l'Ebre con 96,4/100.000 personas/año y la menor en Barcelona ciudad con una tasa de 11,7/100.000 personas/año, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) (Figura 6.1.1.2).

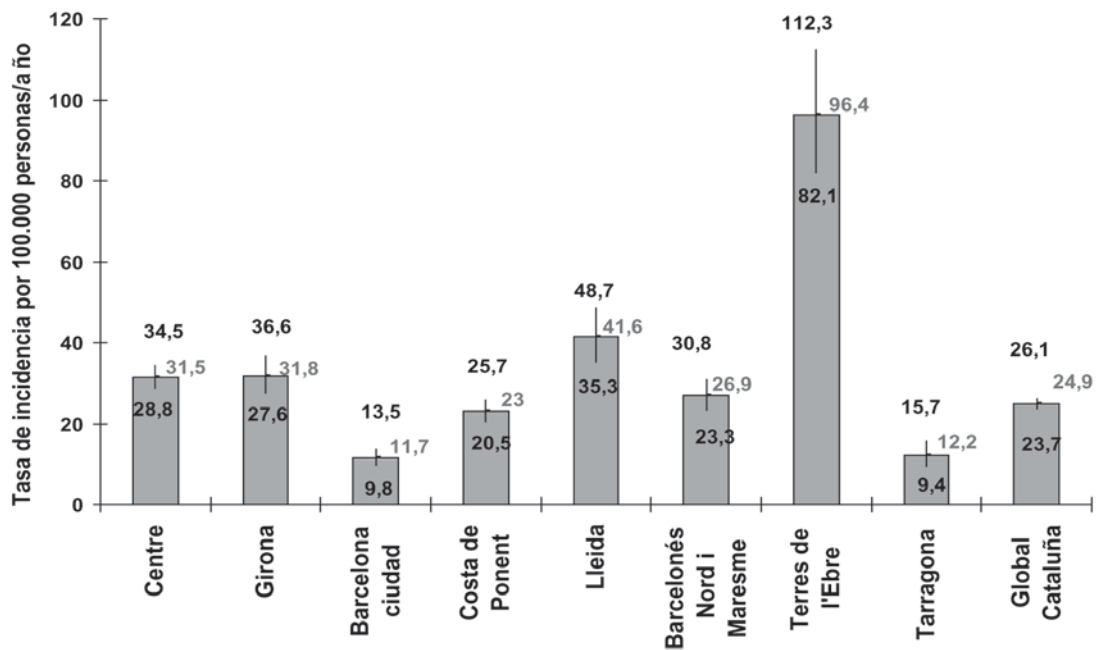


Figura 6.1.1.2. Tasa de incidencia anual de casos asociados a brotes de gastroenteritis causadas por norovirus. Distribución por región sanitaria. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

6.1.2 Estacionalidad

La distribución mensual de los brotes a lo largo del año no presentó ningún patrón estacional, presentándose brotes durante todo el año con una mayor frecuencia en los meses de septiembre (8 brotes) y octubre (7 brotes) (Figura 6.1.2).

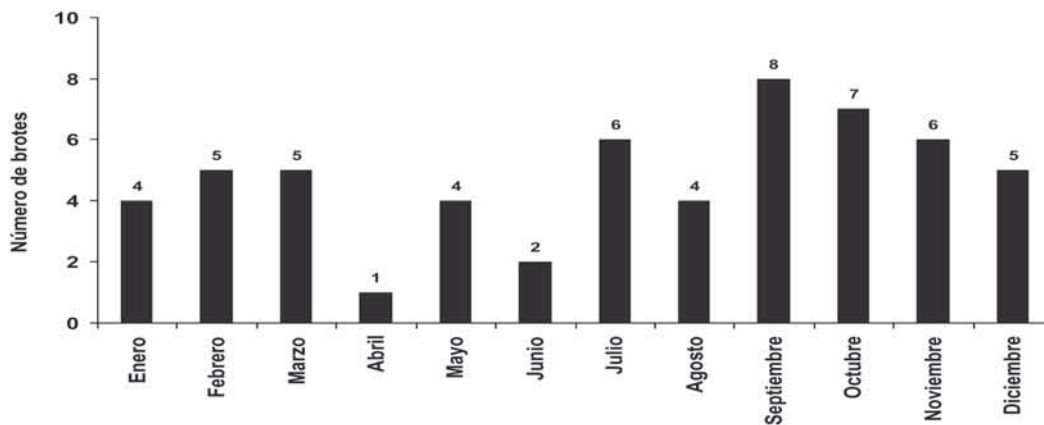


Figura 6.1.2. Distribución mensual de brotes de gastroenteritis causados por norovirus. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

6.1.3 Incidencia según grupos de edad

Se observó una mayor incidencia en los grupos de edad de personas mayores de 85 años con una tasa de 130,8 por 100.000 personas/año (IC 95%:111,9 – 151,9), donde se registraron 173 casos y en el grupo de niños entre 10 y 14 años, donde se registraron 182 casos que equivale a una tasa de 57,8 por 100.000 personas /año (IC 95%:49,9 – 66,8).

En el grupo de edad entre 15 y 64 años fue donde la tasa de incidencia fue más baja siendo de 12,8 por 100.000 personas/año (IC 95%: 11,8 – 13,9) con 664 casos, seguido del grupo de menores de 5 años donde aparecieron 61 casos que equivalen a una tasa de 16,2 por 100.000 personas/año (IC 95%: 12,5 – 20,7) sin que la diferencia fuera estadísticamente significativa ($p=0,12$).

Tabla 6.1.3. Tasa de incidencia por 100.000 personas/año y sus intervalos de confianza del 95% según grupos de edad de los brotes de gastroenteritis de etiología vírica. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

Edad*	Número de afectados	Tasa de Incidencia por 100.000 personas/año (IC 95%)	p
< 5 años	61	16,2 (12,5 – 20,7)	0,12
5 – 9 años	146	45,0 (37,9 – 53,1)	<0,001
10 – 14 años	182	57,8 (49,9 – 66,8)	<0,001
15 – 64 años	664	12,8 (11,8 – 13,9)	1
65 – 84 años	335	32,3 (28,9 – 36,0)	<0,001
≥ 85 años	173	130,8 (111,9 – 151,9)	<0,001
TOTAL	1791	24,9 (23,7 – 26,1)	

*En 230 casos no se conocía la edad

Las diferencias entre los demás grupos de edad fueron estadísticamente significativas ($p<0,001$). (Tabla 6.1.3)

6.1.4 Incidencia según sexo

La incidencia de casos fue significativamente superior en las mujeres que en los hombres ($p < 0,001$). El sexo mujer se mostró asociado a una mayor tasa de incidencia en la población adulta (≥ 14 años) [RR: 0,64 (0,57-0,72)] pero no en la población pediátrica (< 14 años) [RR: 1,04(0,86-1,28)].

Tabla 6.1.4. Tasa de incidencia por 100.000 personas/año y sus intervalos de confianza del 95% según sexo de los brotes de gastroenteritis de etiología vírica. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

Sexo*	Número de afectados	Tasa de Incidencia 100.000 personas/año (IC 95%)	p
Hombres	657	18,4 (16,9 – 19,8)	<0,001
Mujeres	945	26,1 (24,4 – 27,8)	
TOTAL	1791	24,9 (23,7 – 26,1)	

* En 189 casos no se conocía sexo.

6.1.5 Incidencia según ámbito

El 37% de los brotes ocurrieron en el ámbito de la restauración con 22 brotes y 611 afectados, seguido del ámbito familiar y residencias geriátricas con un 18% (11 brotes y 68 afectados en el primero y 382 en el segundo). En las tablas 6.1.5.1 y 2 se muestra la distribución de los 60 brotes estudiados según el ámbito de producción.

Tabla 6.1.5.1. Distribución de los brotes y número de afectados según ámbito de producción de los brotes de gastroenteritis de etiología vírica. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

ámbito	Nº de brotes (%)	Nº afectados (%)
Familiar	11 (18,3)	68 (3,8)
Restauración	22 (36,7)	611 (34,1)
Escolar	2 (3,3)	268 (15,0)
Residencia geriátrica	11 (18,3)	382 (21,3)
Casa de colonias	6 (10,0)	101 (5,6)
Hospital y Centro Sociosanitario	6 (10,0)	298 (16,6)
Centro de acogida infantil	2 (3,3)	63 (3,4)
Total (%)	60 (100,0)	1791(100,0)

Tabla 6.1.5.2. Distribución de la mediana de número de afectados, expuestos y mediana de tasa de ataque según ámbito de producción de los brotes de gastroenteritis de etiología vírica. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

ámbito	Nº de afectados Mediana (rango)	Nº expuestos Mediana (rango)	Tasa de ataque Mediana (%)
Familiar	4 (2-15)	6 (2-20)	66,7
Restauración	14 (2-174)	27 (3-432)	51,8
Escolar	134 (125-143)	419(371-467)	31,9
Residencia geriátrica	33 (5-92)	87 (23-172)	37,9
Casa de colonias	11 (7-40)	77 (50-95)	14,3
Hospital y Centro Sociosanitario	26 (212-163)	90 (39-473)	28,9
Centro de acogida infantil	32 (17-46)	109 (89-129)	29,4
Global	15 (2-174)	42 (2-473)	35,7

Se observó una mayor tasa de ataque en los brotes ocurridos en el ámbito familiar y en la restauración colectiva, siendo la diferencia significativa entre ellos ($p=0,032$), así como respecto a los demás ámbitos ($p<0,001$).

6.1.6 Incidencia según modo de transmisión

El principal modo de transmisión fue el alimentario, que se constató en el 50% de los brotes, seguido de la transmisión interpersonal, en un 43%. La transmisión por vía hídrica supuso el 7% de los brotes, aunque los menos frecuentes fueron los que presentaron un mayor valor de mediana de expuestos por brote, siendo la mediana de tasa de ataque significativamente inferior a la de los brotes alimentarios e interpersonales ($p < 0,001$).

Tabla 6.1.6. Distribución de la mediana de número de afectados, expuestos y mediana de tasa de ataque según mecanismo de transmisión de los brotes de gastroenteritis de etiología vírica. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

Mecanismo de Transmisión	Total afectados (%)	Nº de afectados Mediana (rango)	Nº expuestos Mediana (rango)	Tasa de ataque Mediana (%)
Alimentario	741 (41,4)	7 (2-174)	21 (3-371)	65,6 (8-100)
Interpersonal	897 (50,1)	28 (2-163)	83 (2-473)	36,0 (9-100)
Hídrico	153 (8,5)	10(13-125)	85(50-467)	20,5(14-36)
Global	1791 (100)	15 (2-174)	42 (2-473)	50 (8-100)

6.1.7 Características de genotípicas

Se analizaron un total de 534 muestras de heces de las cuales 278 resultaron positivas a norovirus. En 38 brotes (63,3%) se llevó a cabo el genotipado de los norovirus. El genotipo GGII.4 fue el más frecuente (25 brotes) con una mayor prevalencia en residencias geriátricas y hospitales [52% (13/25)] y fue el que presentó una tasa de ataque mayor (48%). Las tasas de ataque promedio entre genogrupo II y los no determinables (ND) no mostraron diferencia estadísticamente significativa ($p=0,87$). La distribución de genotipos según ámbito y mecanismo de transmisión se muestra en la Tabla 6.1.7.

Tabla 6.1.7. Distribución de genotipos de norovirus según ámbito, mecanismo de transmisión y tasa de ataque de los brotes de gastroenteritis de etiología vírica. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

Ámbito	Alimentario Número de brotes/ genotipo	Interpersonal Número de brotes/ genotipo	Hídrico Número de brotes/ genotipo
Familiar	2 2 GGII.4-Lordsdale	3 1 GGI.1-Norwalk; 1 GGII.4-Lordsdale y 1 No Determinable	-
Restauración colectiva	8 5 GGII.4-Lordsdale 3 No Determinable	2 1 GGII.4-Lordsdale; 1 No Determinable	-
Escolar	1 GGII.2-Melksham	-	-
Residencia geriátrica	1 1 GGII.4-Lordsdale	7 7 GGII.4-Lordsdale	-
Casas de colonias; *Acampada	1 1 GGII.2-Melksham	3 2 GGII.4-Lordsdale; 1 No Determinable	3 *1 GGI.6-Sindlesham; 1 GGII.4-Lordsdale y 1 No Determinable
Hospital/Centro sociosanitario	-	6 1 GGIIb; 5 GGII.4-Lordsdale	-
Centro acogida infantil	-	1 1 No Determinable	-
Total	13 (34%)	22 (58%)	3 (8%)

Tasa de ataque promedio (rango)DE

Genogruppo I : 0,32
(0,14-0,50) DE± 0,18
GGI.1- Norwalk: 0,50
GGI.6-Sindlesham: 0,14

Genogroup II : 0,40
(0,32-0,50) DE± 0,09
GGII.2-Melksham : 0,34
(0,32-0,53) ± 0,1
GGIIb: 0,34

GGII.4-Lordsdale: 0,48
(0,08-1,00) DE ± 0,27

No determinable : 0,49
(0,14-1) ± 0,32

6.2 Estudio descriptivo de casos

6.2.1. Características clínicas y epidemiológicas

Los síntomas observados con mayor frecuencia fueron la diarrea (74,2%), el dolor abdominal (61,2%) y los vómitos (60,3%). En los casos cuyas edades eran ≥ 14 años, los síntomas más frecuentes fueron la diarrea (81%), mientras que en los casos con edad pediátrica (<14 años) los síntomas más frecuentes fueron el dolor abdominal (78,8%) y los vómitos (74%). En la Tabla 6.2.1.1 se listan los porcentajes de síntomas observados en ≥ 14 años y <14 años.

Tabla 6.2.1.1. Manifestaciones clínicas de los casos asociados a brotes de gastroenteritis de etiología vírica. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

Síntomas	Todos los casos n = 1561*		≥ 14 años n = 1207		< 14 años n = 354		OR (IC95%)
	Casos	(%)	Casos	(%)	Casos	(%)	
Diarrea	1188	(74,2)	978	(81,0)	175	(49,4)	4,4 (3,36-5,67)
Dolor abdominal	981	(61,2)	678	(56,2)	269	(78,8)	0,30 (0,20-0,40)
Vómitos	966	(60,3)	680	(56,3)	262	(74,0)	0,46 (0,35-0,61)
Nausea	747	(46,6)	570	(47,2)	160	(45,2)	1,02 (0,79-1,33)
Fiebre	462	(28,8)	345	(28,6)	112	(31,6)	0,91 (0,70-1,20)
Cefalea	443	(27,7)	307	(25,4)	126	(35,6)	0,60 (0,46 - 0,79)
Mialgia	320	(20,0)	279	(23,1)	31	(8,8)	3,2 (2,10 - 4,80)
Escalofríos	185	(11,5)	158	(13,1)	24	(6,8)	1,55 (0,96-2,50)

*En 230 casos no se conocía la edad

La mediana de duración de los síntomas fue de 2 días, con un rango intercuartil (RIQ) de 1-3 días en todos los grupos de edad y se registraron 4 hospitalizaciones. Todos los casos se recuperaron satisfactoriamente. No se observaron diferencias significativas en la duración de los síntomas entre los brotes de transmisión alimentaria y los de transmisión interpersonal ($p=0,211$).

Tabla 6.2.1.2. Frecuencia de utilización de servicios médicos, ingreso hospitalario y absentismo laboral y escolar según grupo de edad y sexo de los casos de gastroenteritis por norovirus asociados a brotes. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

Edad*	Número de afectados	Consulta a servicios médicos		Ingreso hospitalario		Absentismo escolar/laboral	
		N (%)	p	N (%)	p	N (%)	p
< 5 años	61	14 (23,0)	0,0002	0		31 (50,8)	<0,0001
5 – 9 años	146	28 (19,2)	0,0002	1 (0,7)		92 (63,0)	<0,0001
10 – 14 años	182	59 (32,4)	<0,0001	0		26 (14,3)	1
15 – 64 años	664	139 (20,9)	<0,0001	0		144 (21,7)	0,04
65 – 84 años	335	19 (5,7)	0,99	1 (0,3)		5 (1,5)	-
≥ 85 años	173	9 (5,2)	1	2 (1,2)		0	-
Sexo**							
Hombres	657	116 (17,7)		1 (0,2)		137 (20,9)	
Mujeres	945	155 (16,4)	0,55	3 (0,3)		171 (18,1)	0,19
TOTAL	1791	271(16,9)		4 (0,3)		308 (19,2)	

*En 230 casos no se conocía la edad; ** En 189 casos no se conocía el sexo

6.2.2 Tasa de casos secundarios

En los brotes de transmisión alimentaria el número total de casos secundarios fue de 27 casos. Se observa un mayor porcentaje de casos secundarios en los ámbitos de residencias geriátricas (41,7%) y familiar (46,3%), y las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,97$). Excluyendo los brotes de ámbito familiar, dicho porcentaje fue significativamente superior entre los ocurridos en residencias geriátricas respecto a los demás ámbitos ($p<0,001$). La tasa de casos secundarios global fue del 6,2%; excluyendo los brotes familiares, la tasa global fue de 3,8% (27/700). La distribución según ámbito se muestra en la tabla 6.2.2.1.

Tabla 6.2.2.1. Distribución de los casos primarios y secundarios en los brotes vehiculados por alimentos de etiología vírica según ámbito. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

	Casos primarios	Casos secundarios	Total	p	OR (IC95%)
Restauración colectiva	499	6 (1,2%)	505	<0,001	12,1(59,4-303,6)
Residencia geriátrica	7	5 (41,7%)	12	-	1
Hospital	-	-	-	-	-
Escuela	129	14 (9,8%)	143	0,007	6,6 (1,6-27,7)
Casa de colonias	38	2 (5,0%)	40	0,019	6,8 (1,2-42,3)
Familiar*	22	19 (46,3%)	41	0,99	1,2 (0,3-5,7)
Total	695	46 (6,2%)	741		

*Incluido un brote producido en ámbito comunitario (comida asociación de vecinos con preparación casera y clasificado en el recuento general como ámbito familiar).

6.3 Estudio comparativo de las características de los brotes de gastroenteritis causados por norovirus y por otros agentes

Durante el periodo de estudio se registró un total de 225 brotes de gastroenteritis aguda, 60 de los cuáles se atribuyeron a etiología vírica (norovirus), 120 a otras etiologías conocidas y en 45 brotes no se pudo identificar el agente causal. El total de personas afectadas fue de 3436, de las cuáles 1791 (52,1%) lo fueron por norovirus, 1140 (33,2%) por otros agentes infecciosos, 96 (2,8%) por sustancias tóxicas de origen animal o vegetal y 409 casos (11,9%) correspondieron a brotes de etiología desconocida. La distribución de número de brotes y afectados según agente etiológico de muestra en la Tabla 6.3.1. De los agentes infecciosos, *Salmonella enterica* fue el principal causante de gastroenteritis aguda con un total de 74 brotes (32,9%) y 646 (18,8%) afectados. La tasa de ataque en los brotes causados por *Salmonella* fue de 45,6% y la tasa de hospitalización del 13,7% (86/646). Se observó una diferencia significativa entre la tasa de ataque de *Salmonella* y norovirus [(OR:1,57; IC95%: 1,39-1,78) $p < 0,001$].

No se observó diferencia significativa en el número de afectados en brotes de origen alimentario [(OR:1,06; IC95%:0,92-1,23) $p = 0,46$]. La asociación en los brotes de transmisión interpersonal no se consideró debido a que sólo se registraron 2 brotes causados por *Salmonella* con dicho mecanismo de transmisión y sólo se pudo determinar el número de expuestos en uno de ellos.

La mediana de tamaño de brote fue tres veces superior para norovirus [mediana 15 (rango 2-174)] que para los brotes causados por *Salmonella* [mediana 5 (2-44)]. El número de brotes ocurridos en el ámbito familiar mostraron diferencia significativa [(OR: 0,24; IC95%:0,11-0,50) $p < 0,001$], siendo mayor para *Salmonella* (40/225) que para norovirus (11/225).

Tabla 6.3.1. Distribución de número de brotes y afectados según agente etiológico. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

Etiología	Número de brotes (%)	Número de afectados (%)
<u>Norovirus:</u>		
Genotipo GG II.4 Lorsdale	25	60 (26,7) 1791 (52,1)
Otros genogrupos (2 GGII.2 Melksham, 1 GGI.1-Norwalk, 1 GGI.6 Sindlesham, 1 GGIIb)	5	
No Determinable	8	
No Genotipados	22	
<u>Salmonella:</u>		
<i>Salmonella enterica</i>	20	74 (32,9) 646 (18,8)
<i>Salmonella enterica</i> serovar Enteritidis	54	
<u>Otros agentes infecciosos</u>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	18 (8,0) 494 (14,4)
<i>Clostridium perfringens</i>	6	
<i>Campylobacter jejuni</i>	2	
<i>Shigella sonnei</i>	2	
<i>E coli</i> O157:H7	1	
<i>Streptococcus pyogenes</i> *	1	
Substancias tóxicas (escrombrotoxina, nitratos)	12 (5,3)	39 (1,1)
Substancias tóxicas de origen vegetal (setas, cannabis)	16 (7,1)	57 (1,7)
Desconocido	45 (20,0)	409 (11,9)
Total	225 (100,0)	3436 (100,0)

* Brote de faringitis pultácea vehiculada por alimentos en el cuál se observaron síntomas gastro-intestinales en algunos de los afectados. Se identificó *S. pyogenes* en los frotis faríngeos de los afectados y nasal de un manipulador con el mismo patrón *PFGE*. No se pudo disponer de muestras de heces para investigar la presencia de algún otro microorganismo causante de GEA.

Tabla 6.3.2. Distribución de número de brotes y mediana de afectados según mecanismo de transmisión y etiología. Cataluña, 15 de Octubre 2004-30 de Octubre 2005

Ámbito	Mecanismo de transmisión													
	Número de brotes(%)		Alimentario				Interpersonal		Hídrico		Mediana afectados (rango)			
	NoV	Salmonella	NoV	Salmonella	NoV	Salmonella	NoV	Salmonella	NoV	Salmonella	NoV	Salmonella	NoV	Salmonella
Familiar	11(18,3)	40(54,1)	6/31	40/224	5/27	-	-	-	-	-	-	4 (2-15)	5 (2-21)	
Restauración colectiva	22(6,7)	28(37,8)	20/505	27/234	2/106	1/4	-	-	-	-	-	14 (2-174)	5 (2-30)	
Escolar	2(3,3)	3(4,1)	1/143	2/85	-	1/37	1/125	-	-	-	-	134 (125-143)	41 (37-44)	
Residencia geriátrica	11(18,3)	2(2,7)	2/12	1/7	9/370	-	-	-	-	-	-	33 (5-92)	18,5(7-30)	
Casa colonias	6(10,0)	-	1/40	-	2/33	-	3/28	-	-	-	-	11 (7-40)	-	
Hospital/Centro Socio Sanitario	6(10,0)	-	-	1/25	6/298	-	-	-	-	-	-	26 (12-163)	25 (25-25)	
Centro de acogida, lúdico	2(3,3)	1(1,4)	-	1/30	2/61	-	-	-	-	-	-	32 (17-46)	-	
Total	60(26,7%)	74(32,9%)	30 /741	72/605	26/897	2/41	4 /153	0	4 /153	2/41	0	15 (2-174)	5 (2-44)	

6.3.1 Tasas de incidencia

La tasa de incidencia de brotes observada para norovirus fue de de 8,1 brotes por millón personas/año (IC95%: 6,1-10,6), mientras que para *Salmonella* fue de 10,2 brotes por millón de personas/año (IC95%: 7,9-12,8), sin que la diferencia fuera estadísticamente significativa [OR:0,70 (IC95%: 0,46-1,09) $p=0,12$] (Figura 6.3.1.1).

La tasa de incidencia anual de casos asociados a brotes de norovirus fue de 24,9 por 100.000 personas/año (IC95%: 23,7-26,1) y 9,2 por 100.000 personas/año (IC95%: 8,5-9,9) para *Salmonella*, siendo la diferencia estadísticamente significativa [OR:4,83 (IC95%: 4,32-5,40) $p<0,001$]. (Figura 6.3.1.2). En los brotes de origen alimentario la tasa de incidencia para norovirus fue de 9,9 por 100.000 personas/año (IC95%: 9,2-10,7) y 8,6 por 100.000 personas/año (IC95%: 7,9-9,3%) para *Salmonella*; en los brotes de transmisión interpersonal las tasas de incidencia fueron de 12,8 por 100.000 personas/año (IC95%: 12,0-13,7) y 0,60 por 100.000 personas/año (IC95%: 0,41-0,82) respectivamente, debido a que solo se registraron tres brotes con este mecanismo de transmisión para *Salmonella* frente a 26 en el caso de norovirus.

La distribución de las tasas de incidencia de brotes de gastroenteritis y de casos asociados a brotes de gastroenteritis según su etiología se muestra en las figuras 6.3.1.3 y 6.3.1.4.

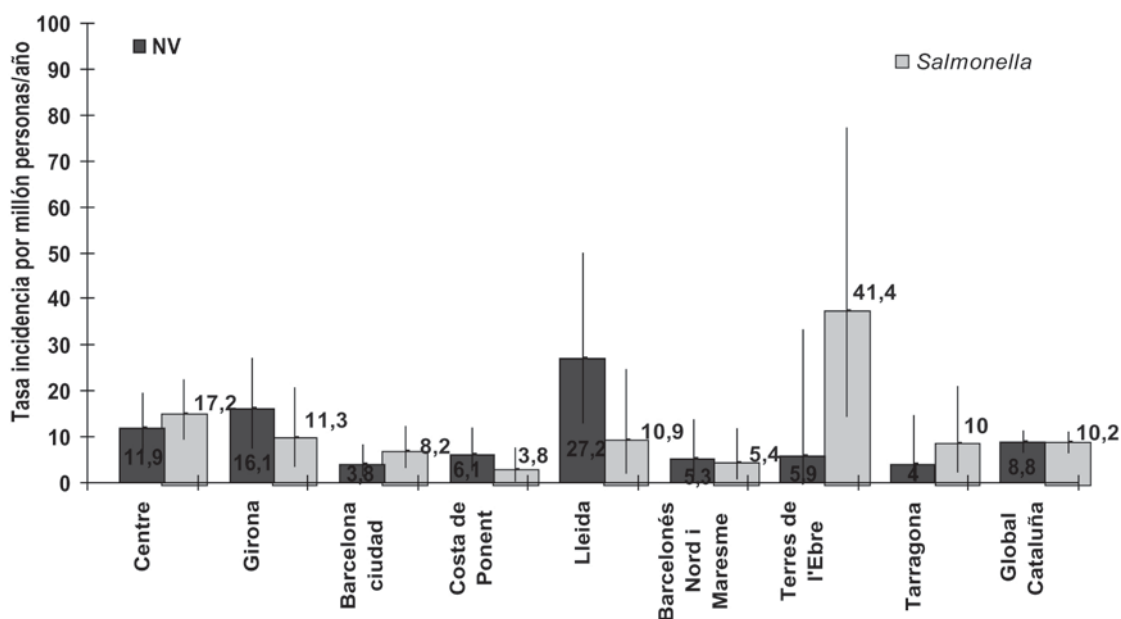


Figura 6.3.1.1. Tasa de incidencia de brotes de norovirus y *Salmonella enterica* por región sanitaria. Cataluña, 15 Octubre 2004-14 Octubre 2005

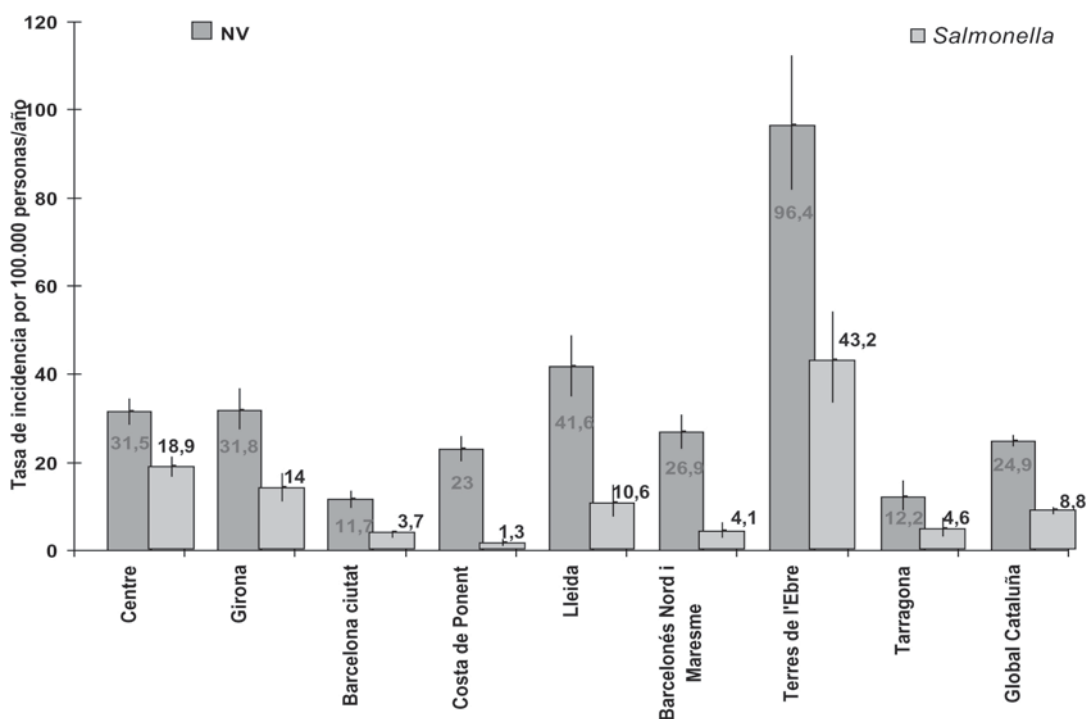


Figura 6.3.1.2. Tasa de incidencia de casos de norovirus y *Salmonella enterica* asociados a brotes por región sanitaria. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

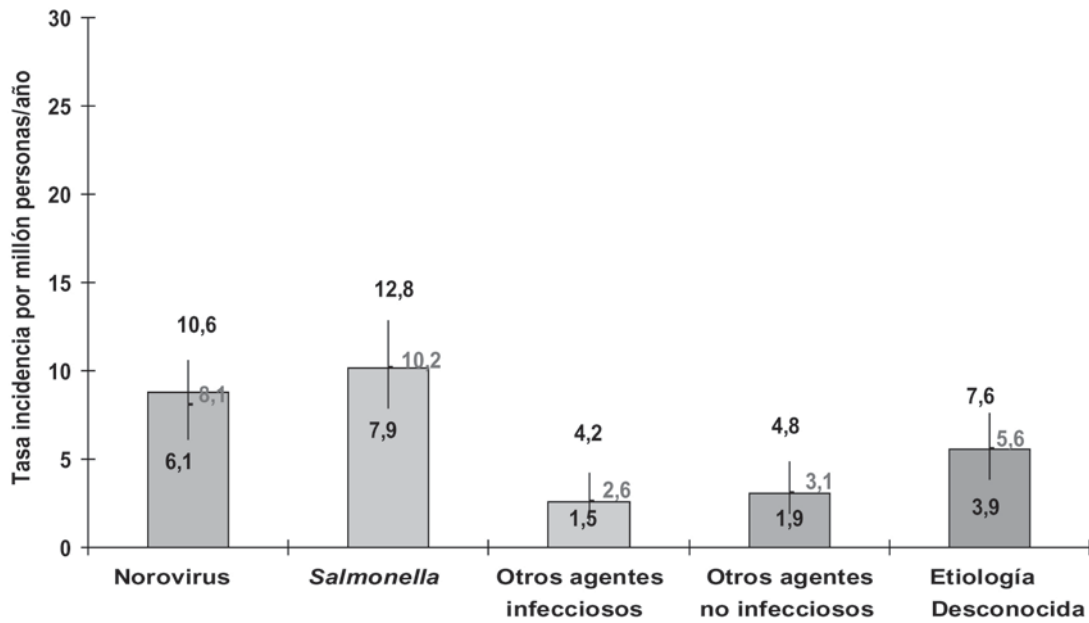


Figura 6.3.1.3. Tasa de incidencia de brotes de gastroenteritis según etiología. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

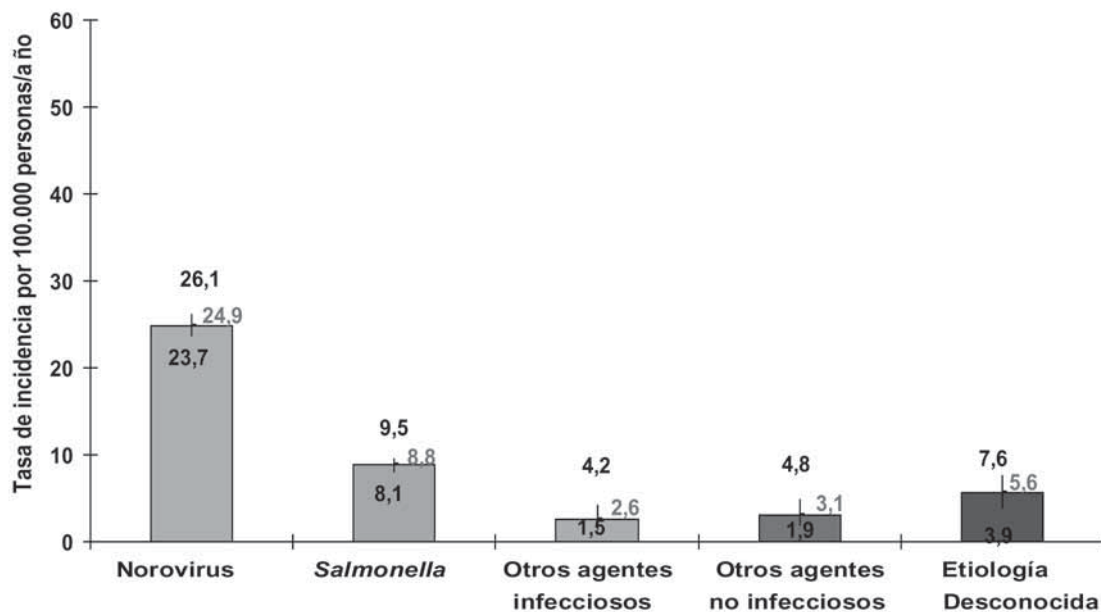


Figura 6.3.1.4. Tasa de incidencia de casos asociados a brotes de gastroenteritis según etiología. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

6.3.2 Estacionalidad

Considerando como meses cálidos los meses entre abril y septiembre y meses fríos los de octubre a marzo, se observó una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a estacionalidad entre norovirus y *Salmonella*. El porcentaje de brotes en uno y otro período fueron muy similares en el caso de norovirus [28/57 (49,1%) vs 29/57 (50,9%)] en comparación con los brotes por *Salmonella* [59/73 (80,8%) vs 14/73 (19,2%)] que ocurrieron, principalmente en los meses cálidos [OR:0,19;IC95%: 0,08-0,43 p<0,001]. La distribución mensual de los brotes se muestra en la Figura 6.3.2, en la cual se observa la distribución más homogénea de norovirus a lo largo del año, mientras que los brotes causados por *Salmonella* mostraron un incremento notable en los meses de verano.

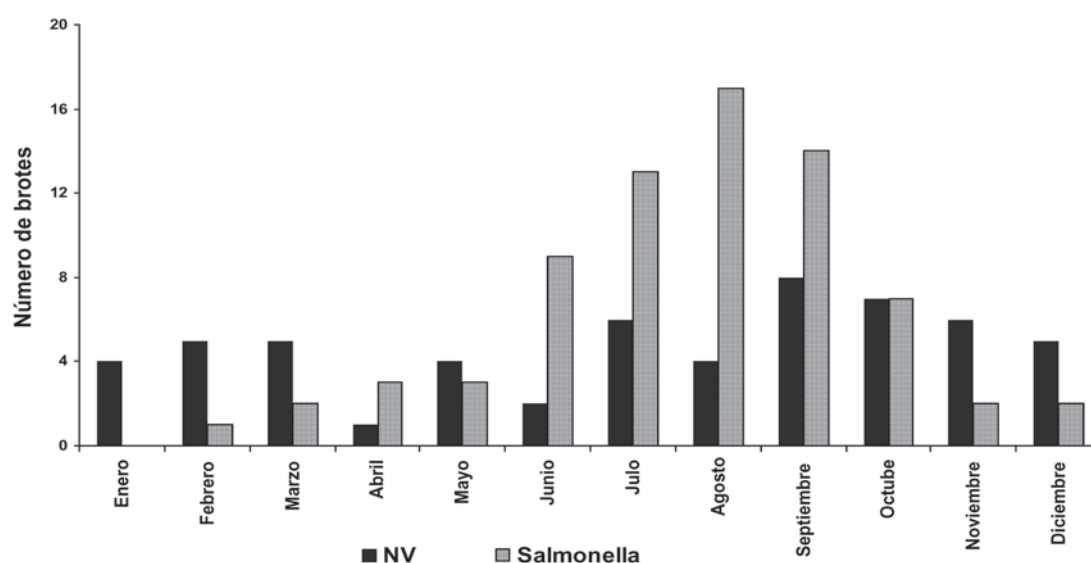


Figura 6.3.2. Distribución mensual de brotes de gastroenteritis causados por norovirus y *Salmonella enterica*. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

6.3.3 Brotes vehiculados por alimentos

En los brotes de origen alimentario la tasa de incidencia para norovirus fue de 9,9 por 100.000 personas/año (IC95%: 9,2-10,7) y 8,6 por 100.000 personas/año (IC95%: 7,9-9,3%) para *Salmonella*, de 0,2 por 100.000 personas/año (IC95%: 0,1-0,3) para los demás agentes etiológicos y de 1,5 (IC95%: 1,2-1,8) para los brotes de etiología desconocida (Figura 6.3.3.1).

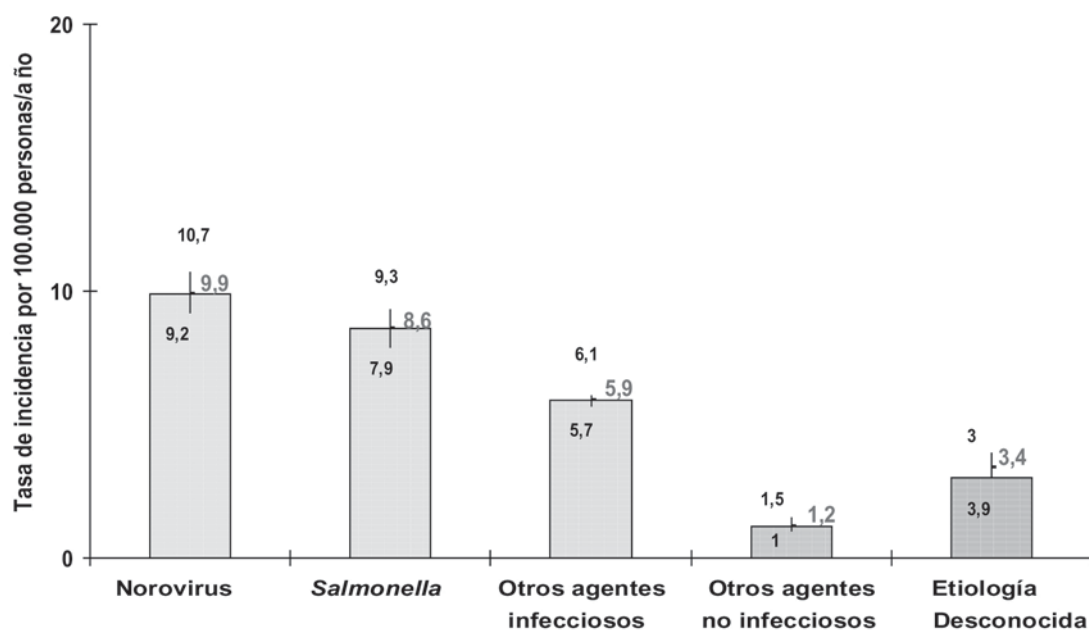


Figura 6.3.3.1. Tasa de incidencia de casos asociados a brotes de gastroenteritis vehiculados por alimentos según etiología. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

6.3.3.1 Implicación de alimentos

Se observó una gran variedad de alimentos implicados en la transmisión de los brotes causados por norovirus. En 17 brotes se determinó mediante análisis epidemiológico la implicación de diversos alimentos (marisco, bocadillos, pasteles, cremas, lentejas, puré de vegetales y ternera asada) aunque no fue posible aislar el agente causal en ninguno de ellos mientras que en los causados por *Salmonella* se observó un 66,6% (49/74) de brotes asociados a la ingestión de huevos crudos o poco cocinados, especialmente en el ámbito familiar (69%; 34/49 brotes) y restaurantes (38,5% ; 10/26 brotes). En la tabla 6.3.3.1 se muestran los alimentos identificados como vehículos en la transmisión alimentaria para brotes causados por norovirus y para brotes de etiología bacteriana.

Tabla 6.3.3.1. Relación de alimentos identificados como vehículos de transmisión alimentaria para brotes causados por norovirus y para brotes de etiología bacteriana.

	Brotos Norovirus (%)	Brotos Bacterianos (%)	p *
Mayonesa y similares	0	27 (31,4)	0,005
Otros productos con huevo	2 (6,7)	19 (22,1)	0,51
Pescado y marisco	8 (26,7)	2 (2,3)	< 0,0001
Cárnicos	1 (3,3)	6 (7,0)	1,0
Vegetales	2 (6,6)	0	0,04
Aves	0	3 (3,5)	1,0
Pastelería	3 (10,0)	3 (3,5)	0,06
Otros	1 (3,3)	9 (10,5)	0,67
Desconocido	13 (43,3)	17 (19,8)	0,003

*Test de Fisher para comparación de cada alimento con respecto al resto de alimentos implicados.

Se analizó el alimento implicado en 9 de los 30 brotes causados por norovirus sin resultados positivos. De los 86 brotes de etiología bacteriana se confirmó el alimento en 11 de ellos.

6.3.3.2 Implicación de manipuladores

En 23 (76,7%) de los 30 brotes vehiculados por alimentos se analizaron muestras de heces de manipuladores para determinar su posible implicación en la transmisión. Se obtuvo resultado positivo para una o más muestras en 17 brotes, de los cuales según la investigación epidemiológica llevada a cabo se determinó una posible implicación en 13 brotes, de los cuales solo se pudo verificar mediante estudio molecular en uno de dichos brotes. En la figura 6.3.3.2(A) se muestra el diagrama filogenético que relaciona la cepa de norovirus de los casos y del manipulador implicado.

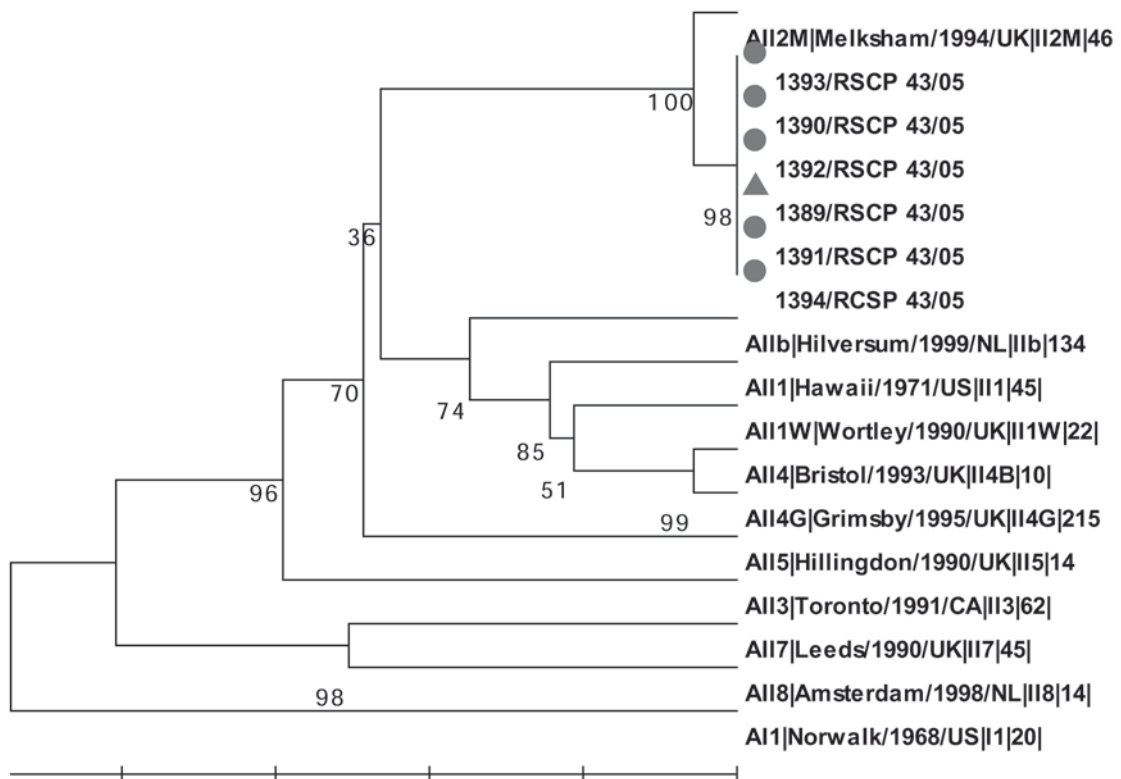


Figura 6.3.3.2.(A) Árbol filogenético de las secuencias parciales de ARN polimerasa de la cepa vírica procedente del manipulador de cinco pacientes obtenidas y de las cepas referencia. El árbol se construyó mediante el método de *clusters* UPGMA. Los valores para cada 1.000 replicados (*Bootstrap values*) se muestran en los puntos dicotómicos. La muestra del manipulador está marcada con un triángulo y las de los pacientes con círculos. Las secuencias de las cepas de referencia provienen de la base de datos *Foodborne Viruses in Europe database* (<http://www.eufoodborneviruses.co.uk/>). (Comunicación personal de J Buesa)

Se analizaron muestras de manipuladores en 30 (34,9%) de los 86 brotes de origen bacteriano vehiculados por alimentos y la investigación pudo confirmar la implicación de un manipulador en 7 (8,1%) brotes mediante métodos microbiológicos (comparación de patrones de restricción *PFGE*, serotipos o positividad a enterotoxinas). En la figura 6.3.3.2.(B) se muestra el estudio de las cepas aisladas en un brote de toxiinfección alimentaria por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium a partir de muestras de heces de manipuladores, afectados y de una muestra de alimento vehículo de la infección.

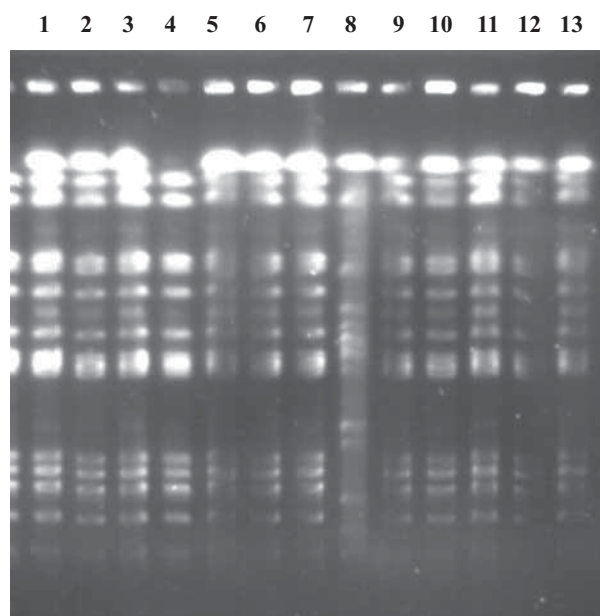


Figura 6.3.3.2.(B). Estudio de cepas de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium mediante técnica de electroforesis en campo pulsado con enzima de restricción *XbaI*. Columnas núm. 2,5 y 6 corresponden a manipuladores de alimentos, columna núm. 13 al alimento y el resto de columnas corresponden a casos

En casi la mitad (43,3%) de los brotes de etiología vírica y origen alimentario se vió implicado un manipulador, de los cuales sólo se pudo verificar dicha implicación mediante estudio molecular en uno de los brotes. En los brotes de etiología bacteriana se estudió la implicación de un manipulador en un 34% de los brotes alimentarios, confirmándose esta implicación en el 8% de los brotes.

6.3.4 Brotes de transmisión interpersonal

Se notificaron un total de 35 brotes de gastroenteritis de transmisión interpersonal, 26 de etiología vírica, 2 por *Salmonella* Enteritidis, uno por *Campylobacter jejuni*, uno por *E coli* O156:H7 y 4 de etiología desconocida. La tasa de incidencia fue de 12,8 por 100,000 personas/año (IC95%: 12,0-13,7) para norovirus, de 0,80 (IC95%: 0,50-0,85) para otros agentes infecciosos y de 1,5 (IC95%: 1,2-1,8) para los brotes de etiología desconocida. (Figura 6.3.4.1) La proporción de afectados por brotes de transmisión interpersonal presenta una diferencia significativa entre norovirus y otros agentes infecciosos [NoV (741/897) vs otros agentes infecciosos (1140/54) y de origen desconocido (238/106) (OR:0,04 ;IC95%: 0,03-0,05) $p < 0,001$].

El ámbito de ocurrencia más frecuente fue el de residencias geriátricas y centros sociosanitarios para norovirus, mientras que para los otros agentes infecciosos fue el ámbito escolar y familiar. La distribución del número de brotes y afectados se muestra en la Tabla 6.3.4.

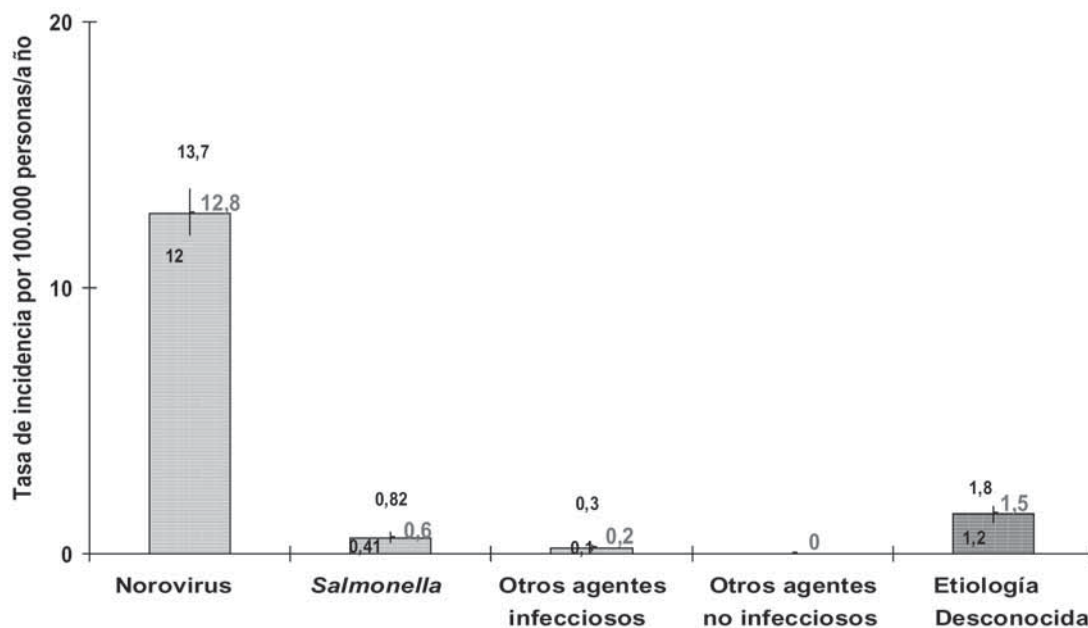


Figura 6.3.4.1. Tasa de incidencia de casos asociados a brotes de gastroenteritis de transmisión interpersonal según etiología. Cataluña, 15 de Octubre 2004-14 de Octubre 2005

Tabla 6.3.4. Distribución de número de brotes de gastroenteritis de transmisión interpersonal según etiología y afectados. Cataluña 15 de Octubre 2004- 30 de Octubre 2005.

Ámbito	Mecanismo de transmisión interpersonal				
	Norovirus (%)	Salmonella (%)	Otros agentes infecciosos (%)	Agente etiológico desconocido	
Familiar	5/27	-	1/2 (<i>E coli</i> O157:H7)	3/7	
Restauración colectiva	2/106	1/4	-	-	
Escolar	-	1/37	1/11 (<i>Campylobacter jejuni</i>)	-	
Residencia geriátrica	9/370	-	-	1/8	
Casa de colonias, albergue	2/33	-	-	1/93	
Hospital/Centro Socio Sanitario	6/298	-	-	-	
Centro de acogida, lúdico	2/61	-	-	-	
Total	26/897	2/41	2/13	5/108	

6.3.5 Brotes de transmisión hídrica

Durante el periodo de estudio solo se registraron 4 brotes de etiología vírica y transmisión hídrica: uno en ámbito escolar y tres en casas de colonias y campamentos. En ninguno de ellos se pudo encontrar el virus en el agua pero la información clínica, epidemiológica y el resultado de laboratorio de las muestras de los afectados eran concluyentes respecto a que la fuente común fue el consumo de agua.

Se produjeron dos brotes, uno causado por *Shigella sonnei* en una casa de colonias y en el otro de ámbito comunitario, en el que no se pudo determinar el agente causal.

Las tasas de ataque promedio de los brotes hídricos causados por norovirus fueron del 24%, siendo de 51% para *S. sonnei* y 21% en el brote de origen desconocido.

El pequeño número de brotes ocasionados por este mecanismo de transmisión no permite hacer ningún análisis de significación. El grado de desinfección solo se pudo determinar en uno de los brotes de etiología vírica, siendo de 0,6-0,9 ppm de cloro libre. En los otros brotes el agua consumida era o bien de río o de una cisterna propia, no de la red pública.

7.

DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

7.1 Estudio descriptivo de incidencia de norovirus

Este estudio poblacional muestra, al igual que otros estudios no poblacionales llevados a cabo en España [147;163], que la incidencia de los brotes de gastroenteritis por norovirus es elevada en Cataluña e indica que la incidencia total de gastroenteritis por norovirus es mucho mayor, ya que no se detectan todos los brotes y además los casos esporádicos, que suelen ser más frecuentes que los casos asociados a brote, no se han incluido en el estudio.

A partir de brotes notificados e investigados durante el periodo de un año entre octubre de 2004 y octubre de 2005, se combinaron los resultados de laboratorio y criterios de Kaplan observándose que la tasa de incidencia de la infección fue de 24,9 per 100.000 personas/año, mientras que en el mismo periodo la incidencia de salmonelosis no tifódica asociada a brotes fue de tan sólo del 9,2 por 100.000 personas/año, es decir, aproximadamente una tercera parte [196;197]. Los datos obtenidos confirman que los brotes de origen vírico son de mayor tamaño que los de etiología bacteriana. La mediana de afectados en brotes de gastroenteritis por norovirus resultó ser tres veces superior que en el caso de *Salmonella*. La mitad del número total de afectados en brotes de gastroenteritis de transmisión alimentaria que se registraron durante el periodo de estudio fueron ocasionados por norovirus [198]. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en un estudio realizado en el Reino Unido [199].

Algunos autores proponen la tasa de incidencia de brotes como indicador

de magnitud del problema que suponen las gastroenteritis de origen vírico [142]. En este trabajo la tasa de incidencia de brotes fue de 8,1 por millón de personas/año, ligeramente menor que la tasa de 9,7 y de entre 9 y 22 observada en Holanda [200] o en Suecia [201] pero superior a las halladas en Suiza y Portugal [202;203]. Es muy probable que las diferencias entre países sean, al menos en parte, debidas a limitaciones en la notificación e investigación de los brotes de etiología vírica [204]. La tasa de incidencia mayor corresponde a la población mayor de 85 años (5 veces más que en la población general), seguida de las tasas correspondientes a los grupos de edad de 10 a 14 años y de 5 a 9 años. En un estudio prospectivo llevado a cabo en Holanda, las tasas de incidencia más elevadas se encontraron en niños y ancianos. Este patrón puede explicarse por el ámbito en donde suelen ocurrir estos brotes (residencias geriátricas, centros socio sanitarios, casas de colonias, etc) y porque las medidas higiénicas no se observan de manera estricta, especialmente en el caso de los ancianos debido a sus condiciones de salud y grado de dependencia [205].

La incidencia ha sido significativamente superior en las mujeres que en los hombres (26,8 y 18,9 por 100.000 personas/año, respectivamente). Dicha diferencia se observa en la población adulta, tal y como también han señalado otros autores [123;206]. Se ha planteado que estas diferencias de género pudieran ser debidas a cambios en la fisiología del tracto digestivo ocasionadas por las hormonas femeninas haciéndolo más susceptible a la infección, aunque este aspecto necesita de ulteriores estudios para su verificación [122].

La tasa de hospitalización fue mayor en las personas mayores de 85 años y el absentismo escolar o laboral en los casos pertenecientes al grupo de edad entre 5 y 9 años. En este estudio no se registró ninguna defunción, aunque se ha

descrito una tasa de letalidad de hasta el 2% en residencias geriátricas [207].

El genotipo de norovirus predominante fue el GGII.4, siendo responsable del 52% del total de brotes de etiología vírica, pero también se detectaron algunas cepas pertenecientes al genogrupo I. Durante los últimos años, este genotipo ha sido el predominante en Europa [143]. La coexistencia de más de un virus entérico fue detectada en 2 brotes y en otros dos se detectó presencia de otro agente bacteriano. Se han notificado casos esporádicos y brotes de gastroenteritis donde los agentes implicados han sido dos virus [208;209], aunque son muy infrecuentes. Los brotes causados por norovirus y bacterias también se han notificado con anterioridad [210;211].

El ámbito de ocurrencia más frecuente fue el de la restauración colectiva, donde se produjeron el 37% de los brotes, seguido de las residencias geriátricas con el 18,3% y los hospitales y centros sociosanitarios con el 10%. Las personas ingresadas en estos centros presentan mayor riesgo de complicaciones [212] y los costes económicos derivados son muy considerables [185]. Debido a la mayor susceptibilidad de las personas ancianas y la ausencia de inmunidad duradera después de un episodio de gastroenteritis por norovirus, es indispensable establecer e implementar precauciones de contacto estrictas para evitar nuevos contagios desde el primer momento en que se conoce un caso, ya que la enfermedad se disemina con gran facilidad en este tipo de entornos [181].

Como ya se ha comentado en el apartado de patogenia y virulencia (apartado 1.2.3) el tema de la estacionalidad de las infecciones por norovirus es un tópico debatido. Algunos investigadores continúan observando este patrón de distribución estacional [120], mientras que otros observan un incremento en los meses de invierno sólo para los brotes de transmisión persona a persona

[199] o bien no hallan ningún patrón estacional [168;213]. Esta última sería la situación observada en este estudio, aunque sería necesaria una vigilancia más prolongada en el tiempo para confirmarla.

Aunque muchos brotes se encuentran epidemiológicamente asociados al origen alimentario, ninguno de los alimentos sospechosos dió resultado positivo para norovirus. Estos resultados negativos reflejan dificultades en el muestreo, presencia de inhibidores de técnicas de PCR en los alimentos, pérdida de elementos víricos durante los procesos de extracción y la falta de técnicas lo suficientemente sensibles para la detección. En tan sólo 9 de los 30 brotes de transmisión alimentaria se implicó la ingesta de moluscos bivalvos y aunque en España el consumo de bivalvos crudos no está muy extendido, sería conveniente promocionar indicadores de higiene alimentaria adicionales para evitar brotes de gastroenteritis de etiología vírica debida al consumo de este tipo de alimentos [132;214;215].

7.2 Implicación de cuidadores y manipuladores

Aunque es muy difícil probar la implicación de un manipulador como causa de la transmisión, no se puede olvidar la existencia de portadores asintomáticos y que el virus puede excretarse antes del inicio de síntomas [119] y durante semanas o incluso meses después de la curación [117]. Además, la transmisión puede ocurrir con una carga vírica de tan sólo 10 partículas víricas [216].

De los brotes investigados, en 10 se consideró que el manipulador de alimentos había sido un factor contribuyente, aunque sólo en un brote se pudo correlacionar el genotipo del manipulador implicado con el de los casos y en dos brotes de transmisión interpersonal se consideró el cuidador como caso índice. Ello evidencia que la educación sanitaria de manipuladores de alimentos y de cuidadores en residencias o instituciones para que conozcan adecuadamente todos los posibles mecanismos de transmisión y los eviten es fundamental para la prevención de estos brotes. El conocimiento más amplio de los múltiples medios de transmisión de la infección hará posible la prevención de una mayor diseminación de la infección [217].

7.3 Prevención y control de la infección por norovirus

El cumplimiento estricto de las medidas preventivas es esencial para evitar el contagio de norovirus de persona a persona y a través de superficies de contacto. Se han descrito incluso brotes transmitidos por contacto con teclados de ordenador en un centro de escolar en British Columbia [218], o a partir de una superficie de trabajo en un establecimiento alimentario, a pesar de que el manipulador había observado medidas higiénicas personales de lavado de manos [217].

La epidemiología de los brotes de gastroenteritis por norovirus demuestra que cuando los casos primarios se infectan por transmisión alimentaria o hídrica, los casos secundarios y terciarios a menudo son consecuencia de transmisión interpersonal favorecida por la contaminación de fómites y superficies, así como la diseminación de partículas mediante la formación de aerosoles que se diseminan a distancia y pueden durar días en el entorno si no se adoptan medidas de desinfección adecuadas [99;100;219]. Esta contaminación inaparente hace que el brote sea más difícil de controlar [220]. Se especula que las partículas víricas en aerosol se inhalan y posteriormente se tragan. El personal de limpieza está a mayor riesgo de infección debido a esta posible aerosolización y a la gran resistencia de norovirus a la cloración [96;98].

Entre las precauciones estándar para evitar la transmisión de microorganismos que se transmiten por contacto se incluye la higiene de manos con preparados de base alcohólica, siempre que las manos no estén visiblemente sucias. Sin embargo, no hay suficientes estudios que avalen la efectividad de dichos preparados frente a norovirus, por lo que se recomienda el lavado higiénico de manos con agua y jabón [221-223]. En el control ambiental de superficies,

aunque en algunos brotes se han empleado compuestos fenólicos activos frente a calicivirus felinos [181;222;224], se recomienda la limpieza cuidadosa con detergente y agua caliente con hipoclorito sódico a una concentración de 5.000 ppm de cloro disponible [101].

En el caso de los brotes de transmisión hídrica (aguas de pozo, fuentes de agua no controladas, aguas de depósito) la detección de norovirus fue negativa incluso después de concentrar grandes volúmenes de agua [225]. En este caso en particular la explicación podría ser el hecho de que las aguas se cloraron inmediatamente una vez se conocieron los primeros casos y antes de que se recojan las muestras. Aunque la detección de norovirus en muestras concentradas de aguas se realizó mediante técnicas de biología molecular y aunque la cloración no elimina completamente los ácidos nucleicos de norovirus, sí que se reduce su concentración y por lo tanto, hace más difícil la detección del ARN diana.

7.4 Estudio de factores de riesgo emergentes

7.4.1 Cambios en el estilo de vida

Las mejoras en las condiciones higiénicas del agua y disponibilidad de atención médica que se produjeron a lo largo del siglo XX tuvieron como resultado un gran descenso en el número de casos de gastroenteritis aguda de origen infeccioso, aunque todavía hoy representa una carga de enfermedad nada desdeñable para los sistemas sanitarios y la población general. Esto se debe, en parte, a los cambios en el estilo de vida que afectan los hábitos de adquisición y preparación de comidas y a la mayor utilización cotidiana de servicios de hostelería [226]. El hecho de la incorporación de la mujer al mundo laboral y por tanto, con menos tiempo para la preparación de comidas, hace que se consuman más productos elaborados o manipulados o parcialmente cocinados fuera del hogar. La restauración colectiva también juega un papel muy importante en los hábitos actuales y por lo tanto, la educación sanitaria de los manipuladores y personas relacionadas con la elaboración de alimentos, así como de los propios consumidores de dichos productos, es de suma importancia a la hora de prevenir la posible transmisión de agentes causantes de gastroenteritis [227;228]. Se reconoce la necesidad de llevar a cabo estudios de cohorte prospectivos o estudios de intervención randomizados para investigar la contribución real de las prácticas higiénicas deficientes en el ámbito doméstico sobre el riesgo de enfermedad diarreica [229].

En este estudio la proporción global de brotes ocurridos en el ámbito familiar fue del 18,3%, un porcentaje nada despreciable si tenemos en cuenta el grado de infranotificación que se da en este tipo de brotes con pocos casos

(mediana de 4 afectados por brote, con un rango de 2-15) y de curso clínico leve y autolimitado (mediana de duración de la sintomatología de 2 días, con un rango de 1-3). En el caso de *Salmonella* el porcentaje de brotes ocurridos y detectados en el ámbito familiar fue mucho más elevado durante el mismo periodo (54,1%). Este hecho se explica por una mayor hospitalización, identificación del agente causal y gravedad del curso clínico [198]. Green et al, observaron que el comportamiento a la hora de la notificación de casos esporádicos o brotes pequeños se relaciona con la gravedad y el tipo de síntomas, siendo más probable que se notifiquen aquellos que han presentado vómitos [230].

7.4.2 Envejecimiento de la población

En un estudio llevado a cabo en Estados Unidos donde analizaron 90 brotes de gastroenteritis de etiología no bacteriana, de los cuales 86 fueron ocasionados por norovirus, casi la mitad (43%) se produjeron en residencias geriátricas, centros sociosanitarios u hospitales [164;213]. En Holanda, de un total de 69 brotes de etiología no bacteriana, de los cuales 60 estaban producidos por norovirus, más de la mitad se produjeron en residencias geriátricas [89]. Estudios hechos en el Reino Unido y Suecia también ponen de manifiesto la importancia de las infecciones por norovirus en las residencias geriátricas [231;232].

En un brote de gastroenteritis por norovirus que afectó a 61 residentes y 5 trabajadores de una residencia geriátrica en Victoria (Australia) se pudo observar que la excreción del virus duraba entre 2 y 15 días, que no había relación entre presentar diarrea y la presencia del virus en las heces, y que en un caso se había detectado el virus en heces antes de iniciar sintomatología. Los autores del trabajo

concluyen que no siempre hay relación entre la excreción del virus y la presentación de manifestaciones clínicas, al menos en personas de edad avanzada [119]. En Catalunya durante el periodo de estudio se produjeron 11 brotes (18,3%) en residencias geriátricas con un total de 382 casos representando casi una cuarta parte del total de afectados [233]. En gran parte, la predominancia de brotes causados por norovirus se debe a la mayor institucionalización de las personas de edad avanzada o con un cierto grado de dependencia. En los ancianos, las enfermedades subyacentes que pueden comprometer su estado inmunitario también representan un factor de riesgo para la infección por norovirus.

Algunos autores proponen que las medidas preventivas sean adoptadas incluso antes de tener ningún tipo de confirmación de laboratorio y que en este tipo de instituciones se disponga obligatoriamente de protocolos para controlar los brotes de gastroenteritis en cuanto se presente un caso [234].

En el ámbito hospitalario, se produjeron 6 brotes (10%) de gastroenteritis por norovirus, afectando tanto a pacientes como a personal sanitario [233]. Es necesario disponer de sistemas de vigilancia adecuados que detecten los cuadros de gastroenteritis e informar a los pacientes, especialmente si son inmunodeprimidos, para que ellos mismos informen al médico tan pronto observen molestias y de este modo poder aplicar inmediatamente las precauciones de contacto para evitar nuevos contagios [113].

7.5 Implicaciones para la Salud Pública

En Cataluña, durante el periodo 1993-1997 no se detectó norovirus en los cerca de 650 brotes de gastroenteritis ocurridos durante este periodo. Seguramente una razón para ello sea porque no se estudiaba su presencia [154-158], y entre el 1998-2002 norovirus solo supuso el 6% (34/605) de todos los brotes de gastroenteritis registrados en Cataluña [149;150;159-161], pero a partir del año 2003 esta proporción se fue incrementando y supuso el 11% (20/180) en el 2003, el 15% (38/250) en el 2004 y el 23% (52/222) en el 2005 [151;196;197] del total de brotes de gastroenteritis. Dicho aumento es debido, en gran medida, a que cada vez se estudia más la posible presencia de norovirus como causa de brotes de gastroenteritis. En este estudio, los brotes por norovirus fueron responsables del 26,6% de todos los brotes de gastroenteritis detectados, evidenciándose tanto una tendencia al alza como una mayor sensibilidad en la detección. Este incremento se viene manteniendo también en el año 2006, con el 28% de la totalidad de brotes de gastroenteritis producidos por norovirus [235].

La evolución de los brotes de etiología desconocida en comparación con los causados por norovirus resalta la importancia tanto de la recogida de muestras para su confirmación analítica como la información sindrómica de los brotes para establecer su etiología. En los brotes de gastroenteritis registrados desde el año 1993 al 2006, se evidencia que el porcentaje de brotes de etiología desconocida tiende a disminuir, mientras que el porcentaje de brotes atribuibles a norovirus sigue una línea de tendencia al alza. Este hecho también se encuentra descrito por Hall et al. [236], que observaron cerca de un 44% de los brotes de etiología

desconocida eran atribuibles a norovirus. Turcios et al., en su valoración de criterios epidemiológicos para identificar brotes de gastroenteritis causados por norovirus, estimaron que al menos un 28% de todos los brotes de gastroenteritis de transmisión alimentaria serían atribuibles a norovirus [131]. En el presente estudio un 20% (12/60) de los brotes atribuidos a norovirus cumplían los criterios de Kaplan [237].

En los brotes de transmisión alimentaria se llegó a conocer el alimento vehículo de la infección en dos terceras partes, siendo un tercio causado por moluscos bivalvos y otra tercera parte por bocadillos, ensaladas y pasta, aunque no fue posible aislar el virus en ninguno de ellos [238]. La gran diversificación de alimentos vehículos de transmisión hace de norovirus uno de los principales responsables de gastroenteritis en todo el mundo.

El número de brotes ocurridos en el ámbito familiar fue de 11 brotes (18,3%), que fueron de pequeño tamaño, siendo la mediana de afectados 4 personas, y que dan una idea de la menor relevancia en términos absolutos que tienen estos brotes. Esta frecuencia es similar a la que se da en los Estados Unidos [153].

Durante los últimos años y probablemente a consecuencia de la ocurrencia de un brote de salmonelosis no tifódica en el año 2002 que afectó a casi 1500 personas, se ha incrementado en gran manera las medidas de prevención para evitar la contaminación bacteriana de alimentos, tanto en el proceso de elaboración como en la manipulación en establecimientos alimentarios. Desafortunadamente, el porcentaje de brotes y casos en los que no se llega a determinar el agente causal es mayor de lo que sería deseable, principalmente por retrasos en la notificación del proceso que impide una actuación e investigación adecuadas y por falta de muestras tanto clínicas como del posible vehículo de transmisión implicado.

Los resultados obtenidos con el presente estudio indican que aunque *Salmonella* sigue siendo el agente causal más implicado (40,0%; 74 de 180), en los brotes de gastroenteritis de etiología conocida, el segundo agente causal es norovirus (33,3%; 60 de 180).

Es probable que entre los 45 brotes de etiología desconocida registrados durante el periodo de estudio (porque no se obtuvieran datos o muestras o porque los resultados de laboratorio fueron negativos a los agentes investigados), la frecuencia de brotes víricos sea superior a la de brotes producidos por otros agentes, con lo que la proporción real de gastroenteritis de etiología vírica sería superior al 26,7% (60/225) obtenido en el presente estudio.

En algunos brotes el número de muestras disponibles para analizar es limitado. El uso de pruebas diagnósticas de tipo ELISA para determinar la presencia de norovirus se traduciría en un número considerable de brotes de etiología desconocida por dar resultados falsos negativos. Si un brote es sospechoso de ser causado por norovirus y las muestras analizadas por ELISA dan resultado negativo, debería considerarse la conveniencia de repetir el examen con un método más sensible como la RT-PCR [239]. Así pues, se propone a los laboratorios de Salud Pública o aquellos que colaboran con la Salud Pública utilicen RT-PCR para el diagnóstico de brotes con sospecha de norovirus.

7.6 Educación sanitaria

La proporción de brotes de origen alimentario en los cuales se detectó la posible implicación de un manipulador como transmisor de la infección a los alimentos consumidos por los afectados fue del 43% (13/30). Sin embargo, esta implicación solo se pudo demostrar mediante el apareamiento de genotipo en la muestra del manipulador y de los afectados en un brote. Es imprescindible la recogida de muestras de heces de afectados y de manipuladores implicados en la preparación de los alimentos ingeridos para poder demostrar su relación causal con el brote [238]. El elevado número de brotes de origen alimentario afectando residentes en centros geriátricos, centros socio sanitarios y hospitalizados destaca tanto la necesidad de una buena educación sanitaria en cuanto a la higiene personal como la implementación inmediata de medidas de control de la infección tan pronto como se conozca la existencia de un caso [113;205]. El hecho de que norovirus tenga como reservorio exclusivo al hombre, su baja dosis infectiva y su prolongada persistencia en el entorno hace posible que las personas manipuladoras puedan ser transmisoras de la infección en distintas circunstancias. A menudo los manipuladores no son conocedores de su potencial como transmisores ni de la facilidad con que una sola persona puede infectar a cientos si no se observa la separación del puesto de trabajo

de los manipuladores con sintomatología, aun cuando estos observen estrictas medidas de higiene [217]. Sin embargo, es evidente que es imposible prevenir la aparición de todos los brotes, tanto de origen alimentario como interpersonal, causados por norovirus; por ello la detección precoz de los brotes y la inmediata adopción de precauciones de contacto es fundamental para evitar la difusión de la infección [103; 223].

8.

CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

Las conclusiones de este estudio son las siguientes :

1. La tasa de incidencia de los brotes de gastroenteritis de etiología vírica ha sido elevada (8,1 brotes por millón de personas/año) y comparable a la que presentan los brotes de salmonellosis no tifódica (10,2 brotes por millón de personas/año)
2. La tasa de incidencia de los casos asociados a brotes de gastroenteritis de etiología vírica ha sido elevada (24,9 por 100,000 personas/año) y superior a la que presentan los casos asociados a brotes de salmonellosis no tifódica (9,2 por 100,000 personas/año).
3. De todos los brotes de etiología vírica registrados durante el periodo de estudio, norovirus ha sido el agente causal mayoritario, habiendo sido detectado en al menos una muestra clínica en un 90% (55/60) de los brotes. En dos brotes se detectó en muestras clínicas la presencia de otro virus además de norovirus (astrovirus genogrupo A y adenovirus entérico, respectivamente).
4. Aunque las hospitalizaciones fueron pocas (solamente 4 pacientes), el grado de absentismo y de utilización de servicios sanitarios generado fue importante (19,2% y 16,9% respectivamente).
5. En la mitad de los brotes el mecanismo de transmisión de la infección fue alimentario con una elevada tasa de ataque (65,6%). En los brotes de transmisión alimentaria no familiar se observó un porcentaje de casos secundarios del 3,8%, siendo el porcentaje muy superior en las residencias geriátricas (41,7%).

6. Se identificaron 5 genotipos distintos de *Norovirus*, siendo el genotipo GGII.4 el más frecuente (83,3%), dato que coincide con los resultados hallados en otros países europeos.
7. La mediana de tamaño de brote fue tres veces superior para norovirus [mediana 15 (rango 2-174)] que para los brotes causados por *Salmonella* [mediana 5;(rango 2-44)]. El mayor tamaño de los brotes de norovirus sugiere un mayor grado de infranotificación de los brotes con menor número de afectados.
8. Se han observado diferencias en el patrón estacional de los brotes por norovirus y los brotes por *Salmonella*. En el caso de norovirus se distribuyeron de forma uniforme a lo largo del año, mientras que los brotes de *Salmonella* ocurrieron principalmente en los meses cálidos. Debería estudiarse un periodo más prolongado para confirmar esta observación.
9. En casi la mitad (43,3%) de los brotes de etiología vírica y origen alimentario se vió implicado un manipulador, aunque sólo se pudo verificar dicha implicación mediante estudio molecular en uno de los brotes. En los brotes de etiología bacteriana se estudió la implicación de un manipulador en el 34% de los brotes alimentarios, confirmandose dicha implicación en el 8% de los brotes. Probablemente ello refleja que los recursos técnicos para el estudio de los agentes víricos todavía son inferiores que para los agentes bacterianos.
10. El ámbito en el que ocurren más frecuentemente los brotes de transmisión interpersonal fue el de residencias geriátricas y centros sociosanitarios para norovirus, mientras que para los de etiología bacteriana fueron los ámbitos escolar y familiar. Al igual que en el apartado de casos secundarios en los brotes alimentarios, este dato pone de manifiesto la necesidad de extremar las medidas higiénicas generales y en especial las precauciones para evitar la transmisión por contacto y la aparición de más casos.

11. La transmisión hídrica se produjo en el 7% de los brotes de etiología vírica.

A pesar de haber recogido muestras de agua siguiendo los procedimientos recomendados, no se consiguió detectar norovirus en las muestras de agua.

La dificultad para recoger muestras de agua antes de la cloración hace que el análisis epidemiológico sea fundamental en este tipo de brotes.

12. En menos de la mitad de los brotes por norovirus (47,6%) se obtuvieron

tres o más muestras clínicas positivas para dicho virus. Un 8,3% de los brotes se diagnosticó teniendo en cuenta criterios clínicos y epidemiológicos.

Mientras no sea posible diagnosticar mediante técnicas de laboratorio todos los brotes, parece razonable combinar resultados de laboratorio y criterios de Kaplan para estimar de manera adecuada la magnitud del problema de la gastroenteritis por norovirus.

9.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

Bibliografía

- [1] Glass RI, Kilgore P. Etiology of acute viral gastroenteritis. Lippincott-Raven, editor. 39-54. 1997. Philadelphia. Diarrheal disease. Nestlé Nutrition Workshop Series. Gracey, M and Walker, JA.
- [2] Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2003;9(4):247-62.
- [3] Parashar UD, Bresee JS, Glass RI. The global burden of diarrhoeal disease in children. *Bull World Health Organ* 2003;81(4):236.
- [4] Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ* 2003;81(3):197-204.
- [5] Guerrant RL, Hughes JM, Lima NL, Crane J. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings, and etiologies. *Rev Infect Dis* 1990;12 Suppl 1:S41-S50.
- [6] Blacklow NR, Greenberg HB. Viral gastroenteritis. *N Engl J Med* 1991;325(4):252-64.
- [7] Thomas T, Lynch E. Infectious diarrhea. En: Slaven E, Stone S, López F, editores. *Infectious diseases*. New York, McGraw-Hill, 2007: p. 166-75.
- [8] Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10(5):1075-81.
- [9] Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 1973;2(7841):1281-3.
- [10] Madeley CR, Cosgrove BP. Letter: 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 1975;2(7932):451-2.
- [11] Morris CA, Flewett TH, Bryden AS, Davies H. Epidemic viral enteritis in a long-stay children's ward. *Lancet* 1975;1(7897):4-5.
- [12] Jamieson FB, Wang EE, Bain C, Good J, Duckmanton L, Petric M. Human torovirus: a new nosocomial gastrointestinal pathogen. *J Infect Dis* 1998;178(5):1263-9.

- [13] Kapikian AZ. Viral gastroenteritis. En: Evans AS, Kaslow RA, editores. *Viral Infections in humans: epidemiology and control*. New York, Plenum Medical Book Company, 1997: p. 285-343.
- [14] Kilgore P, Glass RI. Gastrointestinal syndromes. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editores. *Clinical Virology*. New York, Churchill Livingstone, 1997: p. 55-67.
- [15] Buesa J, López-Andújar P, Rodríguez Díaz J. Diagnóstico de infecciones víricas gastrointestinales. Disponible en URL http://www.seimc.org/control/revi_viro/rotavir.htm
- [16] Dormitzer PR. Rotavirus. En: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editores. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6ª ed. Philadelphia, Elsevier, 2005: p. 1902-13.
- [17] Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003;9(5):565-72.
- [18] Glass RI, Bresee JS, Parashar U, Miller M, Gentsch JR. Rotavirus vaccines at the threshold. *Nat Med* 1997;3(12):1324-5.
- [19] Anderson EJ, Weber SG. Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004;4(2):91-9.
- [20] Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG, et al. Reoviruslike agent in stools: association with infantile diarrhea and development of serologic tests. *Science* 1974;185(156):1049-53.
- [21] Estes MK, Morris AP. A viral enterotoxin. A new mechanism of virus-induced pathogenesis. *Adv Exp Med Biol* 1999;473:73-82.
- [22] Yeager M, Berriman JA, Baker TS, Bellamy AR. Three-dimensional structure of the rotavirus haemagglutinin VP4 by cryo-electron microscopy and difference map analysis. *EMBO J* 1994;13(5):1011-8.
- [23] Estes MK, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol Rev* 1989;53(4):410-49.
- [24] Christensen ML. Rotaviruses. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover PC, Tenover PC, Yolken RH, editores. *Manual of Clinical Microbiology*. 7ª ed. Washington, ASM Press, 1999: p. 999-1004.
- [25] Das S, Varghese V, Chaudhury S, et al. Emergence of novel human group A rotavirus G12 strains in India. *J Clin Microbiol* 2003;41(6):2760-2.

- [26] Beards G, Xu L, Ballard A, Desselberger U, McCrae MA. A serotype 10 human rotavirus. *J Clin Microbiol* 1992;30(6):1432-5.
- [27] Cunliffe NA, Gondwe JS, Graham SM, et al. Rotavirus strain diversity in Blantyre, Malawi, from 1997 to 1999. *J Clin Microbiol* 2001;39(3):836-43.
- [28] Adah MI, Wade A, Taniguchi K. Molecular epidemiology of rotaviruses in Nigeria: detection of unusual strains with G2P[6] and G8P[1] specificities. *J Clin Microbiol* 2001;39(11):3969-75.
- [29] Banyai K, Gentsch JR, Schipp R, et al. Molecular epidemiology of human P[8],G9 rotaviruses in Hungary between 1998 and 2001. *J Med Microbiol* 2004;53(Pt 8):791-801.
- [30] Santos N, Lima RC, Pereira CF, Gouvea V. Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. *J Clin Microbiol* 1998;36(9):2727-9.
- [31] Griffin DD, Kirkwood CD, Parashar UD, et al. Surveillance of rotavirus strains in the United States: identification of unusual strains. The National Rotavirus Strain Surveillance System collaborating laboratories. *J Clin Microbiol* 2000;38(7):2784-7.
- [32] Bon F, Fromantin C, Aho S, Pothier P, Kohli E. G and P genotyping of rotavirus strains circulating in France over a three-year period: detection of G9 and P[6] strains at low frequencies. The AZAY Group. *J Clin Microbiol* 2000;38(4):1681-3.
- [33] Unicomb LE, Podder G, Gentsch JR, et al. Evidence of high-frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in Bangladesh: emergence of type G9 in 1995. *J Clin Microbiol* 1999;37(6):1885-91.
- [34] Bok K, Palacios G, Sijvarger K, Matson D, Gomez J. Emergence of G9 P[6] human rotaviruses in Argentina: phylogenetic relationships among G9 strains. *J Clin Microbiol* 2001;39(11):4020-5.
- [35] Iturriza-Gomara M, Cubitt D, Steele D, et al. Characterisation of rotavirus G9 strains isolated in the UK between 1995 and 1998. *J Med Virol* 2000 Aug;61(4):510-7.
- [36] Palombo EA, Masendycz PJ, Bugg HC, Bogdanovic-Sakran N, Barnes GL, Bishop RF. Emergence of serotype G9 human rotaviruses in Australia. *J Clin Microbiol* 2000;38(3):1305-6.
- [37] Cunliffe NA, Dove W, Bunn JE, et al. Expanding global distribution of rotavirus serotype G9: detection in Libya, Kenya, and Cuba. *Emerg Infect Dis* 2001;7(5):890-2.

- [38] Pachon I, Martinez MV, Suarez B, Sanchez-Fauquier A, Salmeron F, de Jose MI. Situación epidemiológica de las gastroenteritis producidas por Rotavirus. 2006. Disponible en URL: <http://www.avpap.org/gtdocencia/rotaviruscav.pdf>
- [39] Cilla G, Perez-Trallero E, Lopez-Lopategui MC, Gilsetas A, Gomariz M. Incidence, seasonality and serotypes of rotavirus in Gipuzkoa (Basque Country), Spain. A 14-year study. *Epidemiol Infect* 2000;125(3):677-83.
- [40] Buesa J, de Souza CO, Asensi M, Martinez C, Prat J, Gil MT. VP7 and VP4 genotypes among rotavirus strains recovered from children with gastroenteritis over a 3-year period in Valencia, Spain. *Eur J Epidemiol* 2000;16(6):501-6.
- [41] Lundgren O, Peregrin AT, Persson K, Kordasti S, Uhnöo I, Svensson L. Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyte secretion of rotavirus diarrhea. *Science* 2000;287(5452):491-5.
- [42] Lynch M, Shieh WJ, Tatti K, et al. The pathology of rotavirus-associated deaths, using new molecular diagnostics. *Clin Infect Dis* 2003;37(10):1327-33.
- [43] Pang XL, Lee B, Boroumand N, Leblanc B, Preiksaitis JK, Yu Ip CC. Increased detection of rotavirus using a real time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay in stool specimens from children with diarrhea. *J Med Virol* 2004;72(3):496-501.
- [44] Lovmar L, Fock C, Espinoza F, Bucardo F, Syvanen AC, Bondeson K. Microarrays for genotyping human group A rotavirus by multiplex capture and type-specific primer extension. *J Clin Microbiol* 2003;41(11):5153-8.
- [45] Fischer TK, Gentsch JR. Rotavirus typing methods and algorithms. *Rev Med Virol* 2004;14(2):71-82.
- [46] Abid I, Guix S, Aouni M, Pinto R, Bosch A. Detection and characterization of human group C rotavirus in the pediatric population of Barcelona, Spain. *J Clin Virol* 2007;38:78-82.
- [47] Desselberger U. Rotavirus infections: guidelines for treatment and prevention. *Drugs* 1999;58(3):447-52.
- [48] Pant N, Marcotte H, Bruessow H, Svensson L, Hammarstrom L. Effective prophylaxis against rotavirus diarrhea using a combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and antibodies. *BMC Microbiol* 2007;7(1):86.
- [49] Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006;354(1):23-33.

- [50] Ruiz-Palacios GM, Perez-Schael I, Velazquez FR, et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006;354(1):11-22.
- [51] Baum SG. Adenovirus. En: Mandell GL, Bennet JE, DollinR, editores. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6ª ed. New York, Churcill Livingstone, 2005: p. 1835-40.
- [52] Brown M, Grydsuk JD, Fortsas E, Petric M. Structural features unique to enteric adenoviruses. *Arch Virol Suppl* 1996;12:301-7.
- [53] Philipson J., Pettersson U., Lindberg U. *Molecular Biology of Adenoviruses*. 1975. New York, Springer Publishing. *Virology Monographs* 14.
- [54] Wold W, Horwitz MS. Adenoviruses. En: Knipe DM, Howley PM., editores. *Fields Virology*. 5ª ed. Philadelphia, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2007: p. 2395-436.
- [55] Wadell G, Allard A, Hierholzer JC. Adenoviruses. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH, editores. *Manual of Clinical Microbiology*. 7ª ed. Washington, ASM press, 1999: p. 970-82.
- [56] Pinto RM, Diez JM, Bosch A. Use of the colonic carcinoma cell line CaCo-2 for in vivo amplification and detection of enteric viruses. *J Med Virol* 1994;44(3):310-5.
- [57] Grabow WOK, Putergill DL, Bosch A. Propagation of adenovirus types 40 and 41 in the PLC/PRF/5 primary liver carcinoma cell line. *J Virol Met* 1992;37:201-8.
- [58] de Jong JC, Wigand R, Kidd AH, et al. Candidate adenoviruses 40 and 41: fastidious adenoviruses from human infant stool. *J Med Virol* 1983;11(3):215-31.
- [59] Mendez M, Arias CF. Astroviruses. En: Knipe DM, Howley PM, editores. *Fields Virology*. 5ª ed. Philadelphia, Walter Kluwer&Lippincott Williams & Wilkins, 2007: p. 982-99.
- [60] Monroe SS, Jiang B, Stine SE, Koopmans M, Glass RI. Subgenomic RNA sequence of human astrovirus supports classification of Astroviridae as a new family of RNA viruses. *J Virol* 1993;67(6):3611-4.
- [61] Belliot G, Laveran H, Monroe SS. Detection and genetic differentiation of human astroviruses: phylogenetic grouping varies by coding region. *Arch Virol* 1997;142(7):1323-34.
- [62] Walter JE, Mitchell DK. Astrovirus infection in children. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16(3):247-53.

- [63] Treanor JJ, Dolin R. Astroviruses, toroviruses, y picobirnaviruses. En: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editores. Principles and Practice in Infectious Diseases. 5ª ed. New York, Churchill Livingstone, 2000: p. 1956-8.
- [64] Dalton RM, Roman ER, Negredo AA, Wilhelmi ID, Glass RI, Sanchez-Fauquier A. Astrovirus acute gastroenteritis among children in Madrid, Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21(11):1038-41.
- [65] Guix S, Caballero S, Villena C, et al. Molecular epidemiology of astrovirus infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol* 2002;40(1):133-9.
- [66] Espul C, Martinez N, Noel JS, et al. Prevalence and characterization of astroviruses in Argentinean children with acute gastroenteritis. *J Med Virol* 2004;72(1):75-82.
- [67] Victoria M, Carvalho-Costa FA, Heinemann MB, Leite JP, Miagostovich MP. Genotypes and molecular epidemiology of human astroviruses in hospitalized children with acute gastroenteritis in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Virol* 2007;79(7):939-44.
- [68] Royuela E, Negredo A, Sanchez-Fauquier A. Development of a one step real-time RT-PCR method for sensitive detection of human astrovirus. *J Virol Methods* 2006;133(1):14-9.
- [69] Guix S, Bosch A, Pinto RM. Human astrovirus diagnosis and typing: current and future prospects. *Lett Appl Microbiol* 2005;41(2):103-5.
- [70] Thornhill TS, Wyatt RG, Kalica AR, Dolin R, Chanock RM, Kapikian AZ. Detection by immune electron microscopy of 26- to 27-nm viruslike particles associated with two family outbreaks of gastroenteritis. *J Infect Dis* 1977;135(1):20-7.
- [71] Caul EO, Ashley C, Pether JV. "Norwalk"-like particles in the epidemic gastroenteritis in the U.K. *Lancet* 1979;2(8155):1292.
- [72] Dolin R, Reichman RC, Roessner KD, et al. Detection by immune electron microscopy of the Snow Mountain agent of acute viral gastroenteritis. *J Infect Dis* 1982;146(2):184-9.
- [73] Dolin R, Levy AG, Wyatt RG, Thornhill TS, Gardner JD. Viral gastroenteritis induced by the Hawaii agent. Jejunal histopathology and serologic response. *Am J Med* 1975;59(6):761-8.
- [74] Duizer E, Schwab KJ, Neill FH, Atmar RL, Koopmans MP, Estes MK. Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J Gen Virol* 2004;85(Pt 1):79-87.

- [75] Straub TM, Honer zu BK, Orosz-Coghlan P, et al. In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Infect Dis* 2007;13(3):396-403.
- [76] Chaudhry Y, Skinner MA, Goodfellow IG. Recovery of genetically defined murine norovirus in tissue culture by using a fowlpox virus expressing T7 RNA polymerase. *J Gen Virol* 2007;88(Pt 8):2091-100.
- [77] Wobus CE, Karst SM, Thackray LB, et al. Replication of Norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. *PLoS Biol* 2004;2(12):e432.
- [78] König M, Thiel HJ, Meyers G. Detection of viral proteins after infection of cultured hepatocytes with rabbit hemorrhagic disease virus. *J Virol* 1998;72(5):4492-7.
- [79] Prasad BV, Hardy ME, Dokland T, Bella J, Rossmann MG, Estes MK. X-ray crystallographic structure of the Norwalk virus capsid. *Science* 1999;286(5438):287-90.
- [80] Tan M, Huang P, Meller J, Zhong W, Farkas T, Jiang X. Mutations within the P2 domain of norovirus capsid affect binding to human histo-blood group antigens: evidence for a binding pocket. *J Virol* 2003;77(23):12562-71.
- [81] Lochridge VP, Jutila KL, Graff JW, Hardy ME. Epitopes in the P2 domain of norovirus VP1 recognized by monoclonal antibodies that block cell interactions. *J Gen Virol* 2005;86(Pt 10):2799-806.
- [82] Green KY. *Caliciviridae: The noroviruses*. En: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 5^a ed. Philadelphia, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2007: p. 949-79.
- [83] Bertolotti-Ciarlet A, Crawford SE, Hutson AM, Estes MK. The 3' end of Norwalk virus mRNA contains determinants that regulate the expression and stability of the viral capsid protein VP1: a novel function for the VP2 protein. *J Virol* 2003;77(21):11603-15.
- [84] Gutierrez-Escolano AL, Vazquez-Ochoa M, Escobar-Herrera J, Hernandez-Acosta J. La, PTB, and PAB proteins bind to the 3' untranslated region of Norwalk virus genomic RNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;311(3):759-66.
- [85] Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 2006;346(2):312-23.
- [86] Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. Genetic classification of "Norwalk-like viruses". *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 2:S336-S348.

- [87] Buesa J, Montava R, Abu-Mallouh R, et al. Sequential evolution of genotype GII.4 norovirus variants causing gastroenteritis outbreaks from 2001 to 2006 in Eastern Spain. *J Med Virol* 2008;80(7):1288-95.
- [88] Noel JS, Fankhauser RL, Ando T, Monroe SS, Glass RI. Identification of a distinct common strain of "Norwalk-like viruses" having a global distribution. *J Infect Dis* 1999;179(6):1334-44.
- [89] Vinje J, Altena SA, Koopmans MP. The incidence and genetic variability of small round-structured viruses in outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *J Infect Dis* 1997;176(5):1374-8.
- [90] Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, et al. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus--United States, 2002. *J Infect Dis* 2004;190(1):27-36.
- [91] van der Poel WH, Vinje J, van der Heide R, Herrera MI, Vivo A, Koopmans MP. Norwalk-like calicivirus genes in farm animals. *Emerg Infect Dis* 2000;6(1):36-41.
- [92] Oliver SL, Brown DW, Green J, Bridger JC. A chimeric bovine enteric calicivirus: evidence for genomic recombination in genogroup III of the Norovirus genus of the Caliciviridae. *Virology* 2004;326(2):231-9.
- [93] Makita K, Hayakawa Y, Okame M, et al. First detection of IgA against norovirus in breast milk. *Clin Lab* 2007;53(3-4):125-8.
- [94] Cannon RO, Poliner JR, Hirschhorn RB, et al. A multistate outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated with consumption of commercial ice. *J Infect Dis* 1991;164(5):860-3.
- [95] Khan AS, Moe CL, Glass RI, et al. Norwalk virus-associated gastroenteritis traced to ice consumption aboard a cruise ship in Hawaii: comparison and application of molecular method-based assays. *J Clin Microbiol* 1994;32(2):318-22.
- [96] Barker J, Vipond IB, Bloomfield SF. Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus contamination via environmental surfaces. *J Hosp Infect* 2004;58(1):42-9.
- [97] Dolin R, Blacklow NR, DuPont H, et al. Biological properties of Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1972;140(2):578-83.
- [98] Duizer E, Bijkerk P, Rockx B, De GA, Twisk F, Koopmans M. Inactivation of caliciviruses. *Appl Environ Microbiol* 2004;70(8):4538-43.

- [99] Evans MR, Meldrum R, Lane W, et al. An outbreak of viral gastroenteritis following environmental contamination at a concert hall. *Epidemiol Infect* 2002;129(2):355-60.
- [100] Marks PJ, Vipond IB, Regan FM, Wedgwood K, Fey RE, Caul EO. A school outbreak of Norwalk-like virus: evidence for airborne transmission. *Epidemiol Infect* 2003;131(1):727-36.
- [101] Parashar U, Quiroz ES, Mounts AW, et al. "Norwalk-like viruses". Public health consequences and outbreak management. *MMWR Recomm Rep* 2001;50(RR-9):1-17.
- [102] Green KY, Belliot G, Taylor JL, et al. A predominant role for Norwalk-like viruses as agents of epidemic gastroenteritis in Maryland nursing homes for the elderly. *J Infect Dis* 2002;185(2):133-46.
- [103] Gotz H, de Jong B., Lindback J, et al. Epidemiological investigation of a food-borne gastroenteritis outbreak caused by Norwalk-like virus in 30 day-care centres. *Scand J Infect Dis* 2002;34(2):115-21.
- [104] Marie-Cardine A, Gourelain K, Mouterde O, et al. Epidemiology of acute viral gastroenteritis in children hospitalized in Rouen, France. *Clin Infect Dis* 2002;34(9):1170-8.
- [105] Maunula L, von Bonsdorff CH. Norovirus genotypes causing gastroenteritis outbreaks in Finland 1998-2002. *J Clin Virol* 2005;34(3):186-94.
- [106] Dolin R, Blacklow NR, DuPont H, et al. Transmission of acute infectious nonbacterial gastroenteritis to volunteers by oral administration of stool filtrates. *J Infect Dis* 1971;123(3):307-12.
- [107] Dolin R. Norwalk agent-like particles associated with gastroenteritis in human beings. *J Am Vet Med Assoc* 1978;173(5 Pt 2):615-9.
- [108] Wyatt RG, Dolin R, Blacklow NR, et al. Comparison of three agents of acute infectious nonbacterial gastroenteritis by cross-challenge in volunteers. *J Infect Dis* 1974;129(6):709-14.
- [109] Agus SG, Dolin R, Wyatt RG, Tousimis AJ, Northrup RS. Acute infectious nonbacterial gastroenteritis: intestinal histopathology. Histologic and enzymatic alterations during illness produced by the Norwalk agent in man. *Ann Intern Med* 1973;79(1):18-25.
- [110] Schreiber DS, Blacklow NR, Trier JS. The mucosal lesion of the proximal small intestine in acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *N Engl J Med* 1973; 288: 1318-23.

- [111] Kaufman SS, Chatterjee NK, Fuschino ME, et al. Calicivirus enteritis in an intestinal transplant recipient. *Am J Transplant* 2003;3(6):764-8.
- [112] Nilsson M, Hedlund KO, Thorhagen M, et al. Evolution of human calicivirus RNA in vivo: accumulation of mutations in the protruding P2 domain of the capsid leads to structural changes and possibly a new phenotype. *J Virol* 2003;77(24):13117-24.
- [113] Mattner F, Sohr D, Heim A, Gastmeier P, Vennema H, Koopmans M. Risk groups for clinical complications of norovirus infections: an outbreak investigation. *Clin Microbiol Infect* 2006;12(1):69-74.
- [114] Outbreak of acute gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses among British military personnel--Afghanistan, May 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51(22):477-9.
- [115] Graham DY, Jiang X, Tanaka T, Opekun AR, Madore HP, Estes MK. Norwalk virus infection of volunteers: new insights based on improved assays. *J Infect Dis* 1994;170(1):34-43.
- [116] Rockx BH, Vennema H, Hoebe CJ, Duizer E, Koopmans MP. Association of histo-blood group antigens and susceptibility to norovirus infections. *J Infect Dis* 2005;191(5):749-54.
- [117] Gallimore CI, Cubitt D, du Plessis N., Gray JJ. Asymptomatic and symptomatic excretion of noroviruses during a hospital outbreak of gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2004;42(5):2271-4.
- [118] Centers for Disease Control and Prevention and National Center for Health Statistics. National Nursing Home Survey, selected years (1973-1999); Disponible en URL: <http://www.cdc.gov/nchs/data/nhhd>
- [119] Goller JL, Dimitriadis A, Tan A, Kelly H, Marshall JA. Long-term features of norovirus gastroenteritis in the elderly. *J Hosp Infect* 2004;58(4):286-91.
- [120] Treanor JJ, Dolin R. Noroviruses and other caliciviruses. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6ª ed. Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone, 2005: p. 2194-201.
- [121] Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9(1):71-7.
- [122] Marshall JA, Dimitriadis A, Wright PJ. Molecular and epidemiological features of norovirus-associated gastroenteritis outbreaks in Victoria, Australia in 2001. *J Med Virol* 2005;75(2):321-31.

- [123] Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, et al. Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 2002;186(1):1-7.
- [124] Kass PH, Rieman HP. Epidemiology of foodborne diseases. En: Rieman HP, Cliver DO, editores. *Foodborne Infections and Intoxications*. 3ª ed. San Diego, Academic Press, 2006: p. 3-26.
- [125] Atmar RL, Estes MK. Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. *Clin Microbiol Rev* 2001;14(1):15-37.
- [126] Green J, Henshilwood K, Gallimore CI, Brown DW, Lees DN. A nested reverse transcriptase PCR assay for detection of small round-structured viruses in environmentally contaminated molluscan shellfish. *Appl Environ Microbiol* 1998;64(3):858-63.
- [127] Vinje J, Koopmans MP. Molecular detection and epidemiology of small round-structured viruses in outbreaks of gastroenteritis in the Netherlands. *J Infect Dis* 1996;174(3):610-5.
- [128] Jiang X, Wang J, Estes MK. Characterization of SRSVs using RT-PCR and a new antigen ELISA. *Arch Virol* 1995;140(2):363-74.
- [129] Jones TF, Gerber DE. Perceived etiology of foodborne illness among public health personnel. *Emerg Infect Dis* 2001;7(5):904-5.
- [130] Kaplan JE, Feldman R, Campbell DS, Lookabaugh C, Gary GW. The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis. *Am J Public Health* 1982;72(12):1329-32.
- [131] Turcios RM, Widdowson MA, Sulka AC, Mead PS, Glass RI. Reevaluation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus: United States, 1998-2000. *Clin Infect Dis* 2006;42(7):964-9.
- [132] Mead PS, Slutsker L, Dietz V, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999;5(5):607-25.
- [133] Gomes KA, Stupka JA, Gomez J, Parra GI. Molecular characterization of calicivirus strains detected in outbreaks of gastroenteritis in Argentina. *J Med Virol* 2007;79(11):1703-9.
- [134] Borges AM, Teixeira JM, Costa PS, et al. Detection of calicivirus from fecal samples from children with acute gastroenteritis in the West Central region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006;101(7):721-4.
- [135] Vidal R, Solari V, Mamani N, et al. Caliciviruses and foodborne gastroenteritis, Chile. *Emerg Infect Dis* 2005;11(7):1134-7.

- [136] Khamrin P, Maneekarn N, Peerakome S, et al. Genetic diversity of noroviruses and sapoviruses in children hospitalized with acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. *J Med Virol* 2007;79(12):1921-6.
- [137] Guntapong R, Hansman GS, Oka T, et al. Norovirus and sapovirus infections in Thailand. *Jpn J Infect Dis* 2004 Dec;57(6):276-8.
- [138] Foodborne disease investigation across Australia: annual report of the OzFoodNet network, 2003. *Commun Dis Intell* 2004;28(3):359-89.
- [139] Tu ET, Nguyen T, Lee P, et al. Norovirus GII.4 strains and outbreaks, Australia. *Emerg Infect Dis* 2007;13(7):1128-30.
- [140] Inouye S, Yamashita K, Yamadera S, Yoshikawa M, Kato N, Okabe N. Surveillance of viral gastroenteritis in Japan: pediatric cases and outbreak incidents. *J Infect Dis* 2000 May;181 Suppl 2:S270-S274.
- [141] de Wit MA, Koopmans MP, Kortbeek LM, et al. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am J Epidemiol* 2001;154(7):666-74.
- [142] Lopman BA, Reacher MH, Van Duynhoven Y, Hanon FX, Brown D, Koopmans M. Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995-2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9(1):90-6.
- [143] Lopman B, Vennema H, Kohli E, et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 2004;363(9410):682-8.
- [144] Kroneman A, Vennema H, Harris J, et al. Increase in norovirus activity reported in Europe. *Euro Surveill* 2006;11(12):E061214.
- [145] Grupo de Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico de Norovirus. Brotes de gastroenteritis por norovirus en España 1999-2002. *Boletín Epidemiológico Semanal (BES)* 2004;12:1-4.
- [146] Grupo de Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico de Norovirus. Brotes de gastroenteritis por norovirus en España, 2003. *Boletín Epidemiológico Semanal (BES)* 2005;13:241-52.
- [147] Buesa J, Collado B, Lopez-Andujar P, et al. Molecular epidemiology of caliciviruses causing outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis in Spain. *J Clin Microbiol* 2002;40(8):2854-9.
- [148] Lopman B, Van Duynhoven Y., Hanon FX, Reacher M, Koopmans M, Brown D. Laboratory capability in Europe for foodborne viruses. *Euro Surveill* 2002;7(4):61-5.

- [149] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2001. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 2002 XXIII:137-146. Disponible en: URL: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec1002ex.pdf>
- [150] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2002. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 2003 XXIV:121-132. Disponible en: URL: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec92003.pdf>
- [151] Departament de Salut. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2003. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 2004 XXV:141-152. Disponible en: URL: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec102004ex.pdf>
- [152] Olsen SJ, MacKinnon LC, Goulding JS, Bean NH, Slutsker L. Surveillance for foodborne-disease outbreaks--United States, 1993-1997. MMWR CDC Surveill Summ 2000;49(1):1-62.
- [153] Lynch M, Painter J, Woodruff R, Braden C. Surveillance for foodborne-disease outbreaks--United States, 1998-2002. MMWR Surveill Summ 2006;55(10):1-42.
- [154] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1993. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 1994;XV(Extra 2n trimestre):93-106.
- [155] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1994. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 1995;XVI(Extra 2n trimestre):95-108.
- [156] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1995. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 1996;XVII(Extra 2n trimestre):108-15.
- [157] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1996. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 1997;XVIII(Extra 2n trimestre):135-42.
- [158] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1997. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 1998 XIX:167-174.
Disponible en: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec122.pdf>

- [159] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1998. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 1999 XX:119-126.
Disponible en: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec992.pdf>
- [160] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1999. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 2000 XXI:97-105.
Disponible en: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec71.pdf>
- [161] Departament de Sanitat i Seguretat Social. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2000. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 2001 XXII:103-111.
Disponible en URL: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec81.pdf>
- [162] Gallay A, Vaillant V, Bouvet P, Grimont P, Desenclos JC. How many foodborne outbreaks of Salmonella infection occurred in France in 1995? Application of the capture-recapture method to three surveillance systems. *Am J Epidemiol* 2000;152(2):171-7.
- [163] Sanchez-Fauquier A, Wilhelmi I, Roman E, Colomina J, Montero V, Negro A. Surveillance of human calicivirus in Spain. *Emerg Infect Dis* 2005;11(8):1327-9.
- [164] Glass RI, Noel J, Ando T, et al. The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 2:S254-S261.
- [165] Cowden JM. Foodborne infectious risks: do we need a wide system of data collection and survey? The lessons learned from the study of infectious intestinal disease in England. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2002;50(1):89-92.
- [166] Cliver DO, Matsui SM, Casteel M. Infections with viruses and prions. En: Riemann HP, Cliver DO, editores. *Foodborne Infections and Intoxications*. 3ª ed. Amsterdam, Elsevier, 2006: p. 367-448.
- [167] Millard J, Appleton H, Parry JV. Studies on heat inactivation of hepatitis A virus with special reference to shellfish. Part 1. Procedures for infection and recovery of virus from laboratory-maintained cockles. *Epidemiol Infect* 1987;98(3):397-414.
- [168] Hedberg CW, Osterholm MT. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* 1993;6(3):199-210.

- [169] Multisite outbreak of norovirus associated with a franchise restaurant--Kent County, Michigan, May 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(14):395-7.
- [170] Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, et al. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J Clin Microbiol* 2004;42(7):2988-95.
- [171] Doyle A, Barataud D, Gallay A, et al. Norovirus foodborne outbreaks associated with the consumption of oysters from the Etang de Thau, France, December 2002. *Euro Surveill* 2004;9(3):24-6.
- [172] Hamano M, Kuzuya M, Fujii R, Ogura H, Yamada M. Epidemiology of acute gastroenteritis outbreaks caused by Noroviruses in Okayama, Japan. *J Med Virol* 2005;77(2):282-9.
- [173] Koopmans M, Duizer E. Foodborne viruses: an emerging problem. *Int J Food Microbiol* 2004;90(1):23-41.
- [174] Simmons G, Greening G, Gao W, Campbell D. Raw oyster consumption and outbreaks of viral gastroenteritis in New Zealand: evidence for risk to the public's health. *Aust N Z J Public Health* 2001;25(3):234-40.
- [175] Vinje J, Vennema H, Maunula L, et al. International collaborative study to compare reverse transcriptase PCR assays for detection and genotyping of noroviruses. *J Clin Microbiol* 2003;41(4):1423-33.
- [176] Beller M, Ellis A, Lee SH, et al. Outbreak of viral gastroenteritis due to a contaminated well. International consequences. *JAMA* 1997;278(7):563-8.
- [177] Bosch A, Pinto R, Abad FX. Survival and transport of enteric viruses in the environment. En: Goyal SM, editor. *Viruses in Food*. New York, Springer, 2006: p. 151-87.
- [178] Blanton LH, Adams SM, Beard RS, et al. Molecular and epidemiologic trends of caliciviruses associated with outbreaks of acute gastroenteritis in the United States, 2000-2004. *J Infect Dis* 2006;193(3):413-21.
- [179] Bosch A. Human enteric viruses in the water environment: a minireview. *Int Microbiol* 1998;1(3):191-6.
- [180] Norovirus outbreak among evacuees from hurricane Katrina--Houston, Texas, September 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005;54(40):1016-8.
- [181] Wu HM, Fornek M, Schwab KJ, et al. A norovirus outbreak at a long-term-care facility: the role of environmental surface contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(10):802-10.

- [182] Goodgame R. Norovirus gastroenteritis. *Curr Gastroenterol Rep* 2006;8(5):401-8.
- [183] Okada M, Tanaka T, Oseto M, Takeda N, Shinozaki K. Genetic analysis of noroviruses associated with fatalities in healthcare facilities. *Arch Virol* 2006;151(8):1635-41.
- [184] Zingg W, Colombo C, Jucker T, Bossart W, Ruef C. Impact of an outbreak of norovirus infection on hospital resources. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(3):263-7.
- [185] Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, et al. Epidemiology and cost of nosocomial gastroenteritis, Avon, England, 2002-2003. *Emerg Infect Dis* 2004;10(10):1827-34.
- [186] Enserink M. Infectious diseases. Gastrointestinal virus strikes European cruise ships. *Science* 2006;313(5788):747.
- [187] Koopmans M, Harris J, Verhoef L, Depoortere E, Takkinen J, Coulombier D. European investigation into recent norovirus outbreaks on cruise ships: update. *Euro Surveill* 2006;11(7):E060706.
- [188] Smolinski MS, Hamburg MA, Lederberg J. Microbial threats to health: Emergence, detection, and response. Washington: National Academic Press, 2003.
- [189] Rooney RM, Cramer EH, Mantha S, et al. A review of outbreaks of foodborne disease associated with passenger ships: evidence for risk management. *Public Health Rep* 2004;119(4):427-34.
- [190] Isakbaeva ET, Widdowson MA, Beard RS, et al. Norovirus transmission on cruise ship. *Emerg Infect Dis* 2005;11(1):154-8.
- [191] Takkinen J. Recent norovirus outbreaks on river and seagoing cruise ships in Europe. *Euro Surveill* 2006;11(6):E060615.
- [192] Villena C, Morsy El-Senousy W, Abad FX, Pinto RM, Bosch A. Group A rotavirus in sewage samples from Barcelona and Cairo: emergence of unusual genotypes. *Appl Environ Microbiol* 2003;69(7):3919-23.
- [193] Allard A, Albinsson B, Wadell G. Detection of adenoviruses in stools from healthy persons and patients with diarrhea by two-step polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1992;37(2):149-57.
- [194] Morsy El-Senousy W, Guix S, Abid I, Pinto RM, Bosch A. Removal of astrovirus from water and sewage treatment plants, evaluated by a competitive reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol* 2007;73(1):164-7.

- [195] IDESCAT. Anuari Estadístic de Catalunya 2006. Disponible en: <http://idescat.net/cat/idescat/publicacions/anuari/aec.html>
- [196] Departament de Salut. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2005. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 2006 XXVII:157-174. Disponible en: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec3ex2006.pdf>
- [197] Departament de Salut. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2004. Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC) 2005 December 1XXVI:173-196. Disponible en: <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec122005ex.pdf>
- [198] Torner N, Dominguez A, Ruiz L, et al. Acute gastroenteritis outbreaks in Catalonia, Spain: norovirus versus Salmonella. *Scand J Gastroenterol* 2008;43(5):567-73.
- [199] Lopman BA, Reacher M, Gallimore C, Adak GK, Gray JJ, Brown DW. A summertime peak of "winter vomiting disease": surveillance of noroviruses in England and Wales, 1995 to 2002. *BMC Public Health* 2003;3:13.
- [200] Koek AG, Bovee LP, van den Hoek JA, Bos AJ, Bruisten SM. Additional value of typing Noroviruses in gastroenteritis outbreaks in Amsterdam, The Netherlands. *J Clin Virol* 2006;35(2):167-72.
- [201] Lindqvist R, Andersson Y, Lindback J, et al. A one-year study of foodborne illnesses in the municipality of Uppsala, Sweden. *Emerg Infect Dis* 2001;7(3 Suppl):588-92.
- [202] Fretz R, Svoboda P, Luthi TM, Tanner M, Baumgartner A. Outbreaks of gastroenteritis due to infections with Norovirus in Switzerland, 2001-2003. *Epidemiol Infect* 2005;133(3):429-37.
- [203] Correia AM, Goncalves G, Saraiva MM. Foodborne outbreaks in northern Portugal, 2002. *Euro Surveill* 2004;9(3):18-20.
- [204] Jones TF, Imhoff B, Samuel M, et al. Limitations to successful investigation and reporting of foodborne outbreaks: an analysis of foodborne disease outbreaks in FoodNet catchment areas, 1998-1999. *Clin Infect Dis* 2004;38 Suppl 3:S297-S302.
- [205] Koopmans M. Outbreaks of viral gastroenteritis: what's new in 2004? *Curr Opin Infect Dis* 2005;18(4):295-9.
- [206] Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Sarangi J, Brown DW. Clinical manifestation of norovirus gastroenteritis in health care settings. *Clin Infect Dis* 2004;39(3):318-24.

- [207] Calderon-Margalit R, Sheffer R, Halperin T, Orr N, Cohen D, Shohat T. A large-scale gastroenteritis outbreak associated with Norovirus in nursing homes. *Epidemiol Infect* 2005;133(1):35-40.
- [208] Rockx B, de Wit MA, Vennema H, et al. Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2002;35(3):246-53.
- [209] Akihara S, Phan TG, Nguyen TA, Hansman G, Okitsu S, Ushijima H. Existence of multiple outbreaks of viral gastroenteritis among infants in a day care center in Japan. *Arch Virol* 2005;150(10):2061-75.
- [210] Bettelheim KA, Nett-Wood V, Lightfoot D, Wright PJ, Marshall JA. Simultaneous isolation of verotoxin-producing strains of *Escherichia coli* O128:H2 and viruses in gastroenteritis outbreaks. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2001;24(2):135-42.
- [211] Maurer AM, Sturchler D. A waterborne outbreak of small round structured virus, campylobacter and shigella co-infections in La Neuveville, Switzerland, 1998. *Epidemiol Infect* 2000;125(2):325-32.
- [212] Cooper E, Blamey S. A norovirus gastroenteritis epidemic in a long-term-care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(3):256-8.
- [213] Fankhauser RL, Noel JS, Monroe SS, Ando T, Glass RI. Molecular epidemiology of "Norwalk-like viruses" in outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 1998;178(6):1571-8.
- [214] Bosch A, Xavier AF, Gajardo R, Pinto RM. Should shellfish be purified before public consumption? *Lancet* 1994;344(8928):1024-5.
- [215] Prato R, Lopalco PL, Chironna M, Barbuti G, Germinario C, Quarto M. Norovirus gastroenteritis general outbreak associated with raw shellfish consumption in south Italy. *BMC Infect Dis* 2004;4:37.
- [216] Norovirus activity--United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003;52(3):41-5.
- [217] de Wit MA, Widdowson MA, Vennema H, De Bruin E., Fernandes T, Koopmans M. Large outbreak of norovirus: the baker who should have known better. *J Infect* 2007;55(2):188-93.
- [218] Norovirus outbreak in an elementary school--District of Columbia, February 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;56(51-52):1340-3.
- [219] Marks PJ, Vipond IB, Carlisle D, Deakin D, Fey RE, Caul EO. Evidence for airborne transmission of Norwalk-like virus (NLV) in a hotel restaurant. *Epidemiol Infect* 2000;124(3):481-7.

- [220] Kuusi M, Nuorti JP, Maunula L, et al. A prolonged outbreak of Norwalk-like calicivirus (NLV) gastroenteritis in a rehabilitation centre due to environmental contamination. *Epidemiol Infect* 2002;129(1):133-8.
- [221] Weber DJ, Sickbert-Bennett EE, Vinje J, et al. Lessons learned from a norovirus outbreak in a locked pediatric inpatient psychiatric unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(10):841-3.
- [222] Gehrke C, Steinmann J, Goroncy-Bermes P. Inactivation of feline calicivirus, a surrogate of norovirus (formerly Norwalk-like viruses), by different types of alcohol in vitro and in vivo. *J Hosp Infect* 2004;56(1):49-55.
- [223] Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings.
Disponibile en: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines_Isolation2007.pdf.
- [224] Gulati BR, Allwood PB, Hedberg CW, Goyal SM. Efficacy of commonly used disinfectants for the inactivation of calicivirus on strawberry, lettuce, and a food-contact surface. *J Food Prot* 2001;64(9):1430-4.
- [225] Bosch A, Lucena F, Diez JM, Gajardo R, Blasi M, Jofre J. Waterborne viruses associated with a hepatitis outbreak. *J Am Water Works Assoc* 1991;83:80-3.
- [226] Collins JE. Impact of changing consumer lifestyles on the emergence/reemergence of foodborne pathogens. *Emerg Infect Dis* 1997;3(4):471-9.
- [227] Redmond EC, Griffith CJ. Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *J Food Prot* 2003;66(1):130-61.
- [228] Marcus R, Varma JK, Medus C, et al. Re-assessment of risk factors for sporadic Salmonella serotype Enteritidis infections: a case-control study in five FoodNet Sites, 2002-2003. *Epidemiol Infect* 2007;135(1):84-92.
- [229] Stenberg A, Macdonald C, Hunter PR. How effective is good domestic kitchen hygiene at reducing diarrhoeal disease in developed countries? A systematic review and reanalysis of the UK IID study. *BMC Public Health* 2008;8:71.
- [230] Green LR, Selman C, Scallan E, Jones TF, Marcus R. Beliefs about meals eaten outside the home as sources of gastrointestinal illness. *J Food Prot* 2005;68(10):2184-9.
- [231] Dedman D, Laurichesse H, Caul EO, Wall PG. Surveillance of small round structured virus (SRSV) infection in England and Wales, 1990-5. *Epidemiol Infect* 1998;121(1):139-49.

- [232] Hedlund KO, Rubilar-Abreu E, Svensson L. Epidemiology of calicivirus infections in Sweden, 1994-1998. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 2:S275-S280.
- [233] Dominguez A, Torner N, Ruiz L, et al. Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004-2005. *J Clin Virol*. En prensa 2008.
- [234] Schmid D, Lederer I, Pichler AM, Berghold C, Schreier E, Allerberger F. An outbreak of Norovirus infection affecting an Austrian nursing home and a hospital. *Wien Klin Wochenschr* 2005;117(23-24):802-8.
- [235] Departament de Salut. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2006. *Butlletí Epidemiològic de Catalunya(BEC)*. En prensa 2008.
- [236] Hall JA, Goulding JS, Bean NH, Tauxe RV, Hedberg CW. Epidemiologic profiling: evaluating foodborne outbreaks for which no pathogen was isolated by routine laboratory testing: United States, 1982-9. *Epidemiol Infect* 2001;127(3):381-7.
- [237] Kaplan JE, Gary GW, Baron RC, et al. Epidemiology of Norwalk gastroenteritis and the role of Norwalk virus in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis. *Ann Intern Med* 1982;96(6 Pt 1):756-61.
- [238] Martinez A, Dominguez A, Torner N, et al. Epidemiology of foodborne Norovirus outbreaks in Catalonia, Spain. *BMC Infect Dis* 2008;8(1):47.
- [239] Duizer E, Pielaat A, Vennema H, Kroneman A, Koopmans M. Probabilities in norovirus outbreak diagnosis. *J Clin Virol* 2007;40:38-42.

10.

ANEXOS

10. ANEXOS

10.1. Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004-2005. *J Clin Virol* (2008) En Prensa

10.2. Epidemiology of foodborne Norovirus outbreaks in Catalonia, Spain. *BMC Infectious Diseases* (2008) 8:47

10.3. Acute gastroenteritis outbreaks in Catalonia, Spain: Norovirus versus *Salmonella*. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:567-573

10.1. Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005. *J Clin Virol* (2008) En Prensa

JCV-1465; No. of Pages 6

ARTICLE IN PRESS



ELSEVIER

Journal of Clinical Virology xxx (2008) xxx–xxx



www.elsevier.com/locate/jcv

Short communication

Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005

Angela Domínguez^{a,b,c,*}, Núria Torner^{b,c}, Laura Ruíz^c, Ana Martínez^c, Irene Barrabeig^d, Neus Camps^e, Pere Godoy^{b,f}, Sofia Minguell^g, Ignasi Parrón^c, Analía Pumarés^h, Maria Rosa Salaⁱ, Rosa Bartolomé^{j,k}, Unai Pérez^k, Mercedes de Simón^l, Rebeca Montava^m, Javier Buesa^m,

the Catalan Viral Gastroenteritis Study Group¹

^a Department of Public Health, University of Barcelona, Spain

^b CIBER Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Dr Aiguader 88, 08005, Barcelona, Spain

^c Department of Health, Generalitat of Catalonia, Roc Boronat 81-95, 08005 Barcelona, Spain

^d Department of Health, Generalitat of Catalonia, Av. de la Granvia 8-10, 5è 08902 L'Hospitalet del Llobregat, Barcelona, Spain

^e Department of Health, Generalitat of Catalonia, C/ del Sol, 15, 17004 Girona, Barcelona, Spain

^f Department of Health, Generalitat of Catalonia, Avda Alcalde Roure Rovira 2, 25006 Lleida, Spain

^g Department of Health, Generalitat of Catalonia, Av. Maria Cristina, 54, 43002 Tarragona, Spain

^h Department of Health, Generalitat of Catalonia, La Salle, 8, 43500 Tortosa, Spain

ⁱ Department of Health, Generalitat of Catalonia, Crta. de Torrebónica, 08227 Terrassa, Spain

^j Microbiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Psg Vall d'Hebron 171, 08035 Barcelona, Spain

^k Enteric Virus Laboratory, University of Barcelona, Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain

^l Laboratory of the Public Health Agency, Avda Drassanes 13, 08001 Barcelona, Spain

^m Microbiology Department, University of Valencia, Dr. Moliner 50, 46100 Burjassot, Valencia, Spain

Received 13 July 2007; received in revised form 20 February 2008; accepted 20 March 2008

Abstract

Background: Acute infectious gastroenteritis causes substantial morbidity and economic loss.

Objective: The aetiology, epidemiology, and clinical features of acute viral gastroenteritis outbreaks reported during 1 year in Catalonia were investigated.

Study Design: This was a population-based study in which enzyme immunoassay and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) techniques were used to determine the presence of virus in stool specimens from outbreaks clinically and epidemiologically compatible with a viral aetiology and negative for bacteria, parasites and toxins.

Abbreviations: ESU, epidemiological surveillance units; EIA, enzyme immunoassay; RT-PCR, reverse transcriptase-polymerase chain reaction; VG, viral gastroenteritis; CI, confidence intervals; IQR, inter-quartile range; OR, odds ratios.

* Corresponding author at: Department of Public Health, University of Barcelona, Casanovas 143, 08036 Barcelona, Spain. Tel.: +34 93 402 45 66; fax: +34 93 402 90 84.

E-mail address: angela.dominguez@ub.edu (A. Domínguez).

¹ The other members of the Catalan Viral Gastroenteritis Study Group are: Gloria Carmona, Neus Cardeñosa (Department of Health, Barcelona, Spain), Ariadna Rovira, Josep Alvarez, Caritat Planas and Cesar Arias (Department of Health, Territorial Service of Barcelona, Barcelona, Spain), Núria Fullia and Maria Asunción Company (Department of Health, Territorial Service of Girona, Girona, Spain), Miquel Alseda, Joan Torres and Antoni Artigues (Department of Health, Territorial Service of Lleida), Pilar Jorgina Balaña (Department of Health, Territorial Service of Tarragona, Tarragona, Spain), Dolors Ferrer (Laboratory of the Public Health Agency, Barcelona, Spain), Rosa Maria Pintó and Alberto Bosch (Enteric Virus Laboratory, University of Barcelona, Barcelona, Spain), Gemma Codina (Microbiology Service, Vall d'Hebron Hospital, Barcelona Spain) and Jesús Rodríguez (Microbiology Department, University of Valencia, Valencia, Spain).

1386-6532/\$ – see front matter © 2008 Published by Elsevier B.V.
doi:10.1016/j.jcv.2008.03.016

Please cite this article in press as: Domínguez A, et al., Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005, *J Clin Virol* (2008), doi:10.1016/j.jcv.2008.03.016

Results: Sixty outbreaks affecting 1791 people were evaluated. Fifty-five outbreaks were positive for norovirus, four were positive for norovirus and other microorganisms (adenovirus, astrovirus, *S. Typhimurium* and *V. parahaemolyticus* in one each). Thirty-seven percentage of the outbreaks occurred in collective catering; 18.3% in nursing homes; 10% in hospitals and long-term-care facilities. Foodborne transmission accounted for 50% of outbreaks. Norovirus genotype GGII.4 accounted for 42% of all the outbreaks, being more prevalent in nursing homes, hospital and long-term-care facilities.

Conclusions: The large number of norovirus outbreaks and resulting health service demand and absenteeism indicate that acute gastroenteritis caused by norovirus is an important health problem in Catalonia. Preventive measures should target education and control of food handlers, and immediate specific control measures should be adopted in institutions.

© 2008 Published by Elsevier B.V.

Keywords: Outbreak; Epidemiology; Gastroenteritis; Norovirus; Viral genotypes

1. Introduction

Acute gastroenteritis of infectious origin is a substantial health problem in both developing and developed countries. It is estimated that almost 80% of cases of acute gastroenteritis are due to viruses (Mead et al., 1999). Norovirus causes approximately 10% of intestinal infections in developed countries like Holland and England (De Wit et al., 2001; Wheeler et al., 1999). In 1982, Kaplan proposed clinical and epidemiological criteria that defined an outbreak as probably caused by the Norwalk virus (Kaplan et al., 1982). Laboratory techniques to confirm viral gastroenteritis (VG) outbreaks have evolved in the last decade, although few laboratories use them routinely, resulting in an underestimation of the problem (Cliver et al., 2006; Green et al., 2002). The objective of this study was to determine the epidemiological and clinical characteristics of VG outbreaks reported to the public health services during 1 year in Catalonia, a region located in the northeast of Spain that has 7 million inhabitants.

2. Methods

Outbreaks of acute gastroenteritis, defined as two or more subjects who had similar clinical signs and symptoms, and had the same exposure or are epidemiologically linked, must be reported to the Department of Health. Mode of transmission was ascertained by epidemiological investigation. Stool samples were pre-screened using standard microbiological tests to rule out bacteria and parasites and stored at -20°C (Martínez et al., 2008). Enzyme immunoassay (EIA) for norovirus and astrovirus (IDEIA™ Norovirus, IDEIA™ Astrovirus and DakoCytomation), rotavirus and enteric adenovirus (IDV Rotavirus-96, IDV Adenovirus-96 and Izasa) were performed on stool specimens. Additionally, reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) detection was performed as previously described (Allard et al., 1992; Guix et al., 2002; Morsy El-Senousy et al., 2007; Vinje and Koopmans, 1996; Villena et al., 2003). Norovirus genotyping was performed by sequencing the amplicons obtained with the JV12/JV13 pair of primers. In outbreaks where less than three samples were collected, Kaplan's criteria were followed (Kaplan et al., 1982).

The study period was from 15 October 2004 to 30 October 2005. Collected variables were: setting, date of onset of first case, number of people exposed and affected, age, sex, clinical presentation and duration, use of health services, hospitalization and work or school absenteeism.

Incidence rates of outbreaks and of cases associated to outbreaks occurring in a natural year were calculated using the estimated population of Catalonia for the year 2005 and the 95% confidence intervals (CI) assuming a Poisson distribution. Non-normal variables were stated as the median value along with the range or inter-quartile range (IQR), and variables with normal distribution were stated as the mean and standard deviation. The Mann–Whitney *U*-test was used to assess equality of the medians for two observation samples. Level of statistical significance was established as $\alpha = 0.05$. The odds ratios (OR) and corresponding 95%CI were calculated to estimate the association between clinical symptoms and age. All statistical analyses were carried out using the SPSS V12 statistical programme (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results

During the study 62 suspected outbreaks of VG which were negative for bacteria, parasites and toxins were reported. Two outbreaks with no samples available and did not fulfil Kaplan's criteria were discarded. The incidence rate of outbreaks was 8.1 (95%CI: 6.1–10.6) per million inhabitants. A total of 534 samples were analyzed, of which 278 (52%) were positive for norovirus. Twenty-eight outbreaks were positive for norovirus with ≥ 3 positive samples, 27 had ≥ 1 sample positive for norovirus and 5 fulfilled Kaplan's criteria. In 51 outbreaks, norovirus was identified as the single causative agent and in four outbreaks mixed infection with norovirus was identified (adenovirus, genogroup A astrovirus, *S. Typhimurium* and *V. parahaemolyticus* in one case each).

Foodborne (50%) and person-to-person (46.3%) were the most frequent. Waterborne transmission was considered probable in only four (6.7%) outbreaks; although water samples were analyzed, laboratory confirmation could not be obtained (Table 1). The median attack rate was 50%, (foodborne outbreaks (65.6%), person-to-person outbreaks (36.0%); $p = 0.002$).

Please cite this article in press as: Domínguez A, et al., Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005, J Clin Virol (2008), doi:10.1016/j.jcv.2008.03.016

Table 1
Epidemiologic characteristics of the outbreaks of gastroenteritis investigated in Catalonia, October 2004 to October 2005

Setting	No. of outbreaks (%)	Mode of transmission			Persons affected (%)	Mean age (range)	Persons affected Median (range)	Persons exposed Median (range)
		F ^g	pp ^h	W ⁱ				
Family	11 (18.3)	6 ^a	5	0	68 (3.8)	34 (1–90)	4 (2–15)	6 (2–20)
Collective catering	22 (36.7)	20 ^b	2	0	611 (34.1)	39 (2–84)	14 (2–174)	27 (3–432)
School	2 (3.3)	1 ^c	0	1	268 (15.0)	10 (3–57)	134 (125–143)	419 (371–467)
Nursing homes, retirement centers	11 (18.3)	2 ^d	9	0	382 (21.3)	66 (10–100)	33 (5–92)	87 (23–172)
Holidays camp	6 (10.0)	1 ^c	2	3	101 (5.6)	13 (8–50)	11 (7–40)	77 (50–95)
Hospital/long-term-care facilities	6 (10.0)	0	6	0	298 (16.6)	71 (18–100)	26 (12–163)	90 (39–473)
Other ^f	2 (3.3)	0	2	0	63 (3.4)	8 (3–44)	32 (17–46)	109 (89–129)
Total (%)	60 (100.0)	30	26	4	1791 (100.0)	44 (1–100)	15 (2–174)	42 (2–473)

^a Clams, sandwich, omelette, custard and lentils.

^b Shellfish (8), unknown (8), cake (3) and several foods (1).

^c Unknown.

^d Vegetable purée.

^e Roasted veal.

^f Recreational centers for children.

^g F, foodborne.

^h PP, person-to-person.

ⁱ W, waterborne.

Table 2
Distribution of norovirus genotypes according to setting of occurrence and mode of transmission

Setting	Foodborne genotype (number of outbreaks)	Person-to-person genotype (number of outbreaks)	Waterborne genotype (number of outbreaks)
Family	GGII.4-Lordsdale (2)	GGI.1-Norwalk(1) GGII.4-Lordsdale (1)	–
Collective catering	GGII.4-Lordsdale (5)	GGII.4-Lordsdale (1)	–
School	GGII.2-Melksham (1)	–	–
Nursing homes, retirement centers	GGII.4-Lordsdale (1)	GGII.4-Lordsdale (7)	–
Holidays camp	GGII.2-Melksham (1)	GGII.4-Lordsdale (2)	GGI.6-Sindlesham (1) GGII.4-Lordsdale (1)
Hospital/long-term-care facilities	–	GGIIB (1) GGII.4-Lordsdale (5)	–
Recreational centers for children	–	–	–
Total ^a	10	18	2

^a In 8 outbreaks genotype sequence could not be determined.

The norovirus genotype was sequenced in 38 outbreaks (63.3%). Genotype distribution is shown in Table 2. Genotype GGII.4 had a higher median attack rate (42.0%) and was found more prevalent in hospitals, long-term-care units and nursing homes (52.0%).

The distribution of cases by age and sex, and the use of health services, hospitalizations and school and work absenteeism is shown in Table 3. There were important differences in incidence rates according to age (12.8 per 100,000 person/years in the 15–64 age group and 130.8 in the ≥ 85 age group; $p < 0.0001$) and sex (18.4 per 100,000 person/years for males and 26.1 for females; $p < 0.0001$). The median disease duration was 2 days (IQR 1–3) in all age groups and only 4 hospitalizations were recorded. All patients recovered completely. No statistically significant differences in disease duration were found between cases associated with foodborne outbreaks (median 2, IQR 1–3) or person-to-person transmission (median 2, IQR 1–3). No seasonal pattern was

observed. The most frequent clinical symptoms were diarrhea (81%) in subjects aged ≥ 14 years and abdominal pain (78.8%) and vomiting (74.0%) in children (Table 4).

4. Discussion

More than one enteric virus was detected in two outbreaks, whereas in two other outbreaks bacteria and viruses were found. Dual viral infections both in sporadic cases and in outbreaks of gastroenteritis have been reported rarely (Akihara et al., 2005; Rockx et al., 2002). Outbreaks with mixed infections caused by norovirus and bacteria have also been reported (Bettelheim et al., 2001; Maurer and Sturchler, 2000).

Nearly 30% of the outbreaks occurred in nursing homes, hospitals and long-term-care facilities; people admitted to these types of centres are at higher risk of complications

Please cite this article in press as: Domínguez A, et al., Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005, J Clin Virol (2008), doi:10.1016/j.jcv.2008.03.016

Table 3
Incidence rates of cases, use of health services, hospitalizations, and school and work absenteeism of viral gastroenteritis associated with outbreaks according to age and sex

	Number of affected	Incidence rate per 100,000 person/years per person/years	Use of health services (%)	Hospitalization (%)	School/work absenteeism (%)
Age ^a					
<5 years	61	16.2 (12.5–20.7)	14 (23)	0	31 (50.8)
5–9 years	146	45.0 (37.9–53.1)	28 (19.2)	1 (0.7)	92 (63.0)
10–14 years	182	57.8 (49.9–66.8)	59 (32.4)	0	26 (14.3)
15–64 years	664	12.8 (11.8–13.9)	139 (20.9)	0	144 (21.7)
65–84 years	335	32.3 (28.9–36.0)	19 (5.7)	1 (0.3)	5 (1.5)
≥85 years	173	130.8 (111.9–151.9)	9 (5.2)	2 (1.2)	0
Sex ^b					
Male	657	18.4 (16.9–19.8)	116 (17.7)	1 (0.2)	137 (20.9)
Female	945	26.1 (24.4–27.8)	155 (16.4)	3 (0.3)	171 (18.1)
Total	1791	24.9 (23.7–26.1)	271 (16.9)	4 (0.3)	308 (19.2)

^a In 230 cases age was unknown.

^b In 189 cases sex was unknown.

(Cooper and Blamey, 2005) and the economic costs are substantial (Lopman et al., 2004a,b,c). Strict adherence to contact precautions should be established in these facilities as soon as the first cases appear, as the disease spreads very easily (Wu et al., 2005).

As in other European studies, most sequenced outbreaks were due to genotype GGII.4 (Lopman et al., 2004a,b,c).

The reported rate of outbreaks indicates the magnitude of the problem posed by VG (Lopman et al., 2003a,b); in this study, it was 8.1 per million inhabitants, slightly lower than the rates found in Holland or Sweden (Koeck et al., 2006; Lopman et al., 2003a,b), but higher than those found in Portugal and Switzerland (Correia et al., 2004; Fretz et al., 2005).

The highest incidence rate was found in people aged ≥85 years (5.3 times greater than that of the general population), followed by the 10–14 years and 5–9 years age groups. This may be explained by the type of setting in which these age groups usually are found and by the lack of strict compliance with hygienic measures (Koopmans, 2005). As in other reports (Fankhauser et al., 2002; Lopman et al., 2004a,b,c) the incidence in women was significantly higher than in men.

Some reports show a higher frequency in winter (Treanor and Dolin, 2005), whereas others have found an increase

in winter only in person-to-person transmission outbreaks (Lopman et al., 2003a,b) or, as in our study, have found no clear seasonality (Fankhauser et al., 1998; Hedberg and Osterholm, 1993), although a longer surveillance period would be needed for confirmation.

The main limitation of this study is that it was not always possible to obtain a large number of samples positive for norovirus. Some reports (Blanton et al., 2006; Maunula and von Bonsdorff, 2005) suggest a minimum of four positive samples in order to attribute the outbreak to norovirus. Theoretically, one sample positive for norovirus could put the aetiology of the outbreak in doubt if the other samples are negative or if only one has been obtained. This occurred in twelve outbreaks in our study, but Kaplan's criteria were fulfilled, and thus we considered the possibility of error to be negligible. If clinical and epidemiological criteria are not considered, underdetection can reach 28–98% (Turcios et al., 2006; Hall et al., 2001).

In conclusion, this study shows that the incidence rate of cases associated with outbreaks (24.9/100,000) and the use of health services and absenteeism generated (17.0% and 19.2%, respectively) are substantial, suggesting that further studies on the cause of norovirus outbreaks and means of preventing them are necessary. The high proportion of food-

Table 4
Clinical manifestations presented by child and adult cases of viral gastroenteritis

Symptoms	All Cases; n = 1561 ^a		≥14 Years; n = 1207		<14 Years; n = 354		OR (95%CI)
	Cases	(%)	Cases	(%)	Cases	(%)	
Diarrhoea	1188	(74.2)	978	(81.0)	175	(49.4)	4.40 (3.36–5.67)
Abdominal pain	981	(61.2)	678	(56.2)	269	(78.8)	0.30 (0.20–0.40)
Vomiting	966	(60.3)	680	(56.3)	262	(74.0)	0.46 (0.35–0.61)
Nausea	747	(46.6)	570	(47.2)	160	(45.2)	1.02 (0.79–1.33)
Fever	462	(28.8)	345	(28.6)	112	(31.6)	0.91 (0.70–1.20)
Headache	443	(27.7)	307	(25.4)	126	(35.6)	0.60 (0.46–0.79)
Myalgia	320	(20.0)	279	(23.1)	31	(8.8)	3.20 (2.10–4.80)
Chills	185	(11.5)	158	(13.1)	24	(6.8)	1.55 (0.96–2.50)

^a In 230 cases age was unknown.

Please cite this article in press as: Domínguez A, et al., Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005, J Clin Virol (2008), doi:10.1016/j.jcv.2008.03.016

borne outbreaks affecting people in nursing homes, hospitals and long-term-care facilities highlights the need for health education of food handlers regarding personal hygiene and the need to devise and implement immediate control measures in centres and institutions as soon as a case is suspected (Koopmans, 2005; Mattner et al., 2006; Torner et al., 2008).

Acknowledgements

We are grateful for the collaboration of the physicians reporting outbreaks and the technicians of the Epidemiological Surveillance Units of the Department of Health of the Generalitat of Catalonia and the Public Health Agency of Barcelona.

This work was supported by a grant from the Fondo de Investigaciones Sanitarias Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain (Project no. PI 030877).

References

- Akihara S, Phan TG, Nguyen TA, Hansman G, Okitsu S, Ushijima H. Existence of multiple outbreaks of viral gastroenteritis among infants in a day care center in Japan. *Arch Virol* 2005;150:2061–75.
- Allard A, Albinsson B, Wadell G. Detection of adenoviruses in stools from healthy persons and patients with diarrhea by two-step polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1992;37:149–57.
- Bettelheim KA, nett-Wood V, Lightfoot D, Wright PJ, Marshall JA. Simultaneous isolation of verotoxin-producing strains of *Escherichia coli* O128:H2 and viruses in gastroenteritis outbreaks. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2001;24:135–42.
- Blanton LH, Adams SM, Beard RS, Wei G, Bulens SN, Widdowson MA, et al. Molecular and epidemiologic trends of caliciviruses associated with outbreaks of acute gastroenteritis in the United States, 2000–2004. *J Infect Dis* 2006;193:413–21.
- Cliver DO, Matsui SM, Casteel M. Infections with viruses and prions. In: Riemann HP, Cliver DO, editors. *Foodborne infections, intoxications*. Amsterdam: Elsevier; 2006. p. 367–448.
- Cooper E, Blamey S. A norovirus gastroenteritis epidemic in a long-term-care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:256–8.
- Correia AM, Goncalves G, Saraiva MM. Foodborne outbreaks in northern Portugal, 2002. *Eur Surveill* 2004;9:18–20.
- De Wit MA, Koopmans M, Kortbeek L, Wannet W, Vinje J, van Leusden F, et al. Sensor a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: Incidence and etiology. *Am J Epidemiol* 2001;154:666–74.
- Fankhauser RL, Noel JS, Monroe SS, Ando T, Glass RI. Molecular epidemiology of “Norwalk-like viruses” in outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 1998;178:1571–8.
- Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, Humphrey CD, Breese JS, Parashar UD, et al. Epidemiologic and molecular trends of “Norwalk-like viruses” associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 2002;186:1–7.
- Fretz R, Svoboda P, Luthi TM, Tanner M, Baumgartner A. Outbreaks of gastroenteritis due to infections with Norovirus in Switzerland, 2001–2003. *Epidemiol Infect* 2005;133:429–37.
- Green KY, Belliot G, Taylor JL, Valdesuso J, Lew JF, Kapikian AZ, et al. A predominant role for Norwalk-like viruses as agents of epidemic gastroenteritis in Maryland nursing homes for the elderly. *J Infect Dis* 2002;185:133–46.
- Guix S, Caballero S, Villena C, Bartolome R, Latorre C, Rabella N, et al. Molecular epidemiology of astrovirus infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol* 2002;40:133–9.
- Hall JA, Goulding JS, Bean NH, Tauxe RV, Hedberg CW. Epidemiologic profiling: evaluating foodborne outbreaks for which no pathogen was isolated by routine laboratory testing: United States, 1982–89. *Epidemiol Infect* 2001;127:381–7.
- Hedberg CW, Osterholm MT. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:199–210.
- Kaplan JE, Feldman R, Campbell DS, Lookabaugh C, Gary GW. The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis. *Am J Public Health* 1982;72:1329–32.
- Koek AG, Bovee LP, van den Hoek JA, Bos AJ, Bruisten SM. Additional value of typing Noroviruses in gastroenteritis outbreaks in Amsterdam, The Netherlands. *J Clin Virol* 2006;35:167–72.
- Koopmans M. Outbreaks of viral gastroenteritis: what’s new in 2004? *Curr Opin Infect Dis* 2005;18:295–9.
- Lopman BA, Reacher MH, Van DY, Hanon FX, Brown D, Koopmans M. Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995–2000. *Emerg Infect Dis* 2003a;9:90–6.
- Lopman BA, Reacher M, Gallimore C, Adak GK, Gray JJ, Brown DW. A summertime peak of “winter vomiting disease”: surveillance of noroviruses in England and Wales, 1995 to 2002. *BMC Public Health* 2003b;3:13.
- Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Sarangi J, Brown DW. Clinical manifestation of norovirus gastroenteritis in health care settings. *Clin Infect Dis* 2004a;39:318–24.
- Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Hill D, Perry C, Halladay T, et al. Epidemiology and cost of nosocomial gastroenteritis, Avon, England, 2002–2003. *Emerg Infect Dis* 2004b;10:1827–34.
- Lopman B, Vennema H, Kohli E, Pothier P, Sanchez A, Negro A, et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 2004c;363:682–8.
- Martínez A, Domínguez A, Torner N, Ruiz L, Camps N, Barrabeig I, et al. Epidemiology of foodborne norovirus outbreaks in Catalonia, Spain. *BMC Infect Dis* 2008;8:47.
- Mattner F, Sohr D, Heim A, Gastmeier P, Vennema H, Koopmans M. Risk groups for clinical complications of norovirus infections: an outbreak investigation. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:69–74.
- Maunula L, von Bonsdorff CH. Norovirus genotypes causing gastroenteritis outbreaks in Finland 1998–2002. *J Clin Virol* 2005;34:186–94.
- Maurer AM, Sturchler D. A waterborne outbreak of small round structured virus, *Campylobacter* and *Shigella* co-infections in La Neuveville, Switzerland, 1998. *Epidemiol Infect* 2000;125:325–32.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Breese JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999;5:607–25.
- Morsy El-Senousy W, Guix S, Abid I, Pinto RM, Bosch A. Removal of astrovirus from water and sewage treatment plants, evaluated by a competitive reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:164–7.
- Rockx B, De Wit M, Vennema H, Vinje J, De Bruin E, Van Duynhoven Y, et al. Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2002;35:246–53.
- Treanor JJ, Dolin R. Noroviruses and other caliciviruses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005. p. 2194–201.
- Torner N, Domínguez A, Ruiz L, Martínez A, Bartolomé R, Buesa J, et al. Acute gastroenteritis outbreaks in Catalonia, Spain: Norovirus versus *Salmonella*. *Scan J Gastroenterol* 2008;43:567–73.
- Turcios RM, Widdowson MA, Sulka AC, Mead PS, Glass RI. Reevaluation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus: United States, 1998–2000. *Clin Infect Dis* 2006;42:964–9.
- Villena C, Morsy El-Senousy W, Abad FX, Pintó RM, Bosch A. Group A rotavirus in sewage samples from Barcelona and Cairo: emergence of unusual genotypes. *Appl Environ Microbiol* 2003;69:3919–23.
- Vinje J, Koopmans MP. Molecular detection and epidemiology of small round-structured viruses in outbreaks of gastroenteritis in the Netherlands. *J Infect Dis* 1996;174:610–5.

Please cite this article in press as: Domínguez A, et al., Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005, *J Clin Virol* (2008), doi:10.1016/j.jcv.2008.03.016

JCV-1465; No. of Pages 6

ARTICLE IN PRESS

6

A. Domínguez et al. / Journal of Clinical Virology xxx (2008) xxx–xxx

Wheeler JG, Sethi D, Cowden JM, Wall PG, Rodrigues LC, Tompkins DG, et al. Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. The Infectious Intestinal Disease Study Executive. *BMJ* 1999;318:1046–50.

Wu HM, Fornek M, Schwab KJ, Chapin AR, Gibson K, Schwab E, et al. A norovirus outbreak at a long-term-care facility: the role of environmental surface contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:802–10.

Please cite this article in press as: Domínguez A, et al., Aetiology and epidemiology of viral gastroenteritis outbreaks in Catalonia (Spain) in 2004–2005, *J Clin Virol* (2008), doi:10.1016/j.jcv.2008.03.016

10.2. Epidemiology of foodborne Norovirus outbreaks in Catalonia, Spain. BMC Infectious Diseases (2008) 8:47

BMC Infectious Diseases



Research article

Open Access

Epidemiology of foodborne Norovirus outbreaks in Catalonia, Spain

Ana Martínez¹, Angela Dominguez*^{2,3,1}, Nuria Torner^{3,1}, Laura Ruiz¹, Neus Camps¹, Irene Barrabeig¹, Cesar Arias¹, Josep Alvarez¹, Pere Godoy^{1,3}, Pilar Jorgina Balaña¹, Analia Pumares¹, Rosa Bartolome⁴, Dolors Ferrer⁵, Unai Perez⁶, Rosa Pinto⁶, Javier Buesa⁷ and The Catalan Viral Gastroenteritis Study Group

Address: ¹Department of Health, Autonomous Government of Catalonia, Barcelona, Spain, ²Department of Public Health, University of Barcelona, Spain, ³CIBER Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Spain, ⁴Department of Microbiology, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain, ⁵Public Health Laboratory, Public Health Agency of Barcelona, Spain, ⁶Enteric Virus Laboratory, University of Barcelona, Spain and ⁷Microbiology Department, University of Valencia, Spain

Email: Ana Martínez - a.martinez@gencat.cat; Angela Dominguez* - angela.dominguez@ub.edu; Nuria Torner - nuria.torner@gencat.cat; Laura Ruiz - laura.ruiz@gencat.cat; Neus Camps - ncamps@gencat.cat; Irene Barrabeig - ibarrabeig@catalut.cat; Cesar Arias - uverc@sapcll.scs.es; Josep Alvarez - jalvarezr@gencat.cat; Pere Godoy - pere.godoy@gencat.cat; Pilar Jorgina Balaña - PILARJ.BALANA@gencat.cat; Analia Pumares - apumares@gencat.cat; Rosa Bartolome - rbartolo@vhebron.net; Dolors Ferrer - dferrer@aspb.cat; Unai Perez - uperez@ub.edu; Rosa Pinto - rpinto@ub.edu; Javier Buesa - javier.buesa@uv.es; The Catalan Viral Gastroenteritis Study Group - angela.dominguez@ub.edu

* Corresponding author

Published: 14 April 2008

Received: 29 October 2007

BMC Infectious Diseases 2008, 8:47 doi:10.1186/1471-2334-8-47

Accepted: 14 April 2008

This article is available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/8/47>

© 2008 Martínez et al; licensee BioMed Central Ltd.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Background: Noroviruses are one of the principal biological agents associated with the consumption of contaminated food. The objective of this study was to analyse the size and epidemiological characteristics of foodborne outbreaks of gastroenteritis in Catalonia, a region in the northeast of Spain.

Methods: In all reported outbreaks of gastroenteritis associated with food consumption, faecal samples of persons affected were analysed for bacteria and viruses and selectively for parasites. Study variables included the setting, the number of people exposed, age, sex, clinical signs and hospital admissions. The study was carried out from October 2004 to October 2005.

Results: Of the 181 outbreaks reported during the study period, 72 were caused by *Salmonella* and 30 by norovirus (NoV); the incidence rates were 14.5 and 9.9 per 100,000 person-years, respectively. In 50% of the NoV outbreaks and 27% of the bacterial outbreaks ($p = 0.03$) the number of persons affected was ≥ 10 ; 66.7% of NoV outbreaks occurred in restaurants; no differences in the attack rates were observed according to the etiology. Hospitalizations were more common ($p = 0.03$) in bacterial outbreaks (8.6%) than in NoV outbreaks (0.15%). Secondary cases accounted for 4% of cases in NoV outbreaks compared with 0.3% of cases in bacterial outbreaks ($p < 0.001$)

Conclusion: Norovirus outbreaks were larger but less frequent than bacterial outbreaks, suggesting that underreporting is greater for NoV outbreaks. Food handlers should receive training on the transmission of infections in diverse situations. Very strict control measures on handwashing and environmental disinfection should be adopted in closed or partially-closed institutions.

Background

Diseases resulting from the consumption of contaminated food cause a considerable disease burden in developed countries [1], and thus it is important to determine their etiology and food vehicles. Although there are difficulties in associating a specific food with the appearance of cases or outbreaks of gastroenteritis [2], reports agree that noroviruses (NoV) (formerly Norwalk-like viruses) are one of the foremost biological agents involved in cases of gastroenteritis associated with food consumption [3].

The stability of NoV in various environmental conditions means that they can remain infectious in frozen and refrigerated food and even in food heated to 60°C for 30 minutes [4], which explains why they can be easily transmitted by foods contaminated by contact with human faecal matter or by unhygienic food handling [5].

The infective dose of NoV is very low: new infections may be produced by person-to-person transmission of very small amounts of virus. Therefore, secondary cases usually appear in foodborne outbreaks caused by a single exposure [6].

The available evidence on foodborne gastroenteritis outbreaks due to NoV is based on national and international public health activities [6,7]. Although most laboratories are equipped to analyse bacterial processes, few are able to make a diagnosis of viral causes of gastroenteritis and, therefore, confirmation of a possible viral cause of gastroenteritis is not always sought [8].

Analysis of the official statistics provided by different health authorities is frequently partial and their interpretation is complex [9].

Studies of the epidemiology of foodborne NoV outbreaks in each community are necessary, even though they represent only a part of the real situation due to clinical and epidemiological underreporting and laboratory difficulties. Knowledge of outbreaks and the distribution of specific strains is also necessary to carry out interventions at a local level that allow the prevention of new outbreaks [6,10].

The objective of this study was to determine the size and epidemiological characteristics of foodborne outbreaks due to NoV in Catalonia between October 2004 and October 2005 and compare them with bacterial outbreaks.

Methods

We carried out a prospective study of foodborne outbreaks occurring between 15 October 2004 and 30 Octo-

ber 2005 in Catalonia, a region in the northeast of Spain, with a population of 6.9 million.

A foodborne outbreak was defined as two or more cases with similar symptoms resulting from the ingestion of a common food when this was confirmed by epidemiological and/or microbiological analysis.

When an outbreak was reported to public health authorities, a routine investigation was carried out to determine the characteristics of the cases and the possible food involved using a standardized questionnaire. Likewise, clinical and food samples were collected for laboratory analysis to identify the causal agent. In addition to standard microbiological tests to rule out bacterial and parasitic causes, enzyme linked immunosorbent assay and RT-PCR techniques were carried out on faecal samples of cases, and of food handlers when the outbreak was not limited to the family setting, to detect viruses.

Stool samples were plated on selective and differential media to study *Salmonella* (MacConkey agar, Salmonella-Shigella agar, Xylose-Lysine-Desoxycholate agar and Selenite enrichment broth), *Shigella* (MacConkey agar and Salmonella-Shigella agar), Shiga toxin-producing strains of O157:H7 *Escherichia coli* (MacConkey agar with sorbitol), *Yersinia* (Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin, CIN agar), *Campylobacter* (Charcoal agar), *Vibrio* (Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose, TCBS agar) and *Aeromonas* spp (Pseudomonas-Aeromonas agar with 100,000 IU per litre of Penicillin G, GSP agar).

In outbreaks where a parasitic infection was suspected, the diagnosis was established by direct microscopic examination or after concentration of preserved stool (Merthiolate-iodine-formalin and 10% formalin) to determine the presence of ova, trophozoites or cysts. *Cryptosporidium* oocysts were examined by stained fecal materials (Auramine and Ziehl-Neelsen stains).

Enzyme immunoassays for NoV genogroups I and II (IDEIA™ NoV, DakoCytomation), rotavirus group A (IDV Rotavirus-96.Izasa), astrovirus (IDEIA™ Astrovirus, DakoCytomation) and adenovirus serotypes 40 and 41 (IDV Adenovirus-96.Izasa) and RT-PCR were performed.

For NoV, RT-PCR primers designed for partial RNA polymerase region (ORF1) were used: NVp110 (5'-ACD ATY TCA TCA TCA CCA TA-3') for RT and JV12 (5'-ATA CCA CTA TGA TGC AGA TTA-3'), and JV13 (5'-TCA TCA TCA CCA TGA AAA GAC-3') for PCR [11]. For rotavirus, the primers used were VP6-3 (5'-GCT TTA AAA CGA AGT CTT CAA C-3') and VP6-4 (5'-GGT AAA TTA CCA ATT CCT CCA G-3') [12]. The primers used for adenovirus were hexAA1885 (5'-GCCGCAGTGGTCTTACATGCA-

CATC-3') and hexAA1913 (5'-CAGCACGCCGCGGATGTCAAAGT-3'), which amplify a 301 bp fragment within the hexon region of the adenovirus genome [13]. For the genogroup A astrovirus, primer set A1 (5'-CCTGCCCCGAGAACAACCAAGC-3') and A2 (5'-GTAAGAT-TCCCAGATTGGTGC-3') from the hypervariable region of the ORF1a of the astrovirus genome was used [14] and for the detection of genogroup B astrovirus, primer set A1bis (5'-CCTGCCCCCGTATAATTAAC-3') and A2bis (5'-ATAGGACTCCCATATAGGTGC-3') [15]. PCR products were detected in a 2% ethidium bromide-stained agarose gel and purified with the QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Hilden, Germany).

Norovirus genotyping systems and an automated sequencer (Applied Biosystems) was performed by sequencing the amplicons with the JV12 and JV13 primers using the ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied BiosBI PRISM 3700) [16]. Likewise, foods suspected of being involved in the outbreak were analysed when some remained.

An outbreak was considered as being caused by NoV if one or more samples were PCR positive for NoV or if cases fulfilled Kaplan's criteria [17].

The variables analysed included the agent, setting of the outbreak, date of appearance of the first case, number of people exposed, number of cases, age, sex, symptoms and hospitalization. In non-familial outbreaks, it was determined whether the case was primary or secondary. A secondary case was defined as someone who had not consumed the suspected food and in whom the onset of symptoms occurred after the maximum incubation period of the causal agent.

Statistical Analysis

Differences between medians were compared using the Mann-Whitney U test. Differences between proportions were compared using the χ^2 test or Fisher's exact test. The tests were two-tailed. An alpha level = 0.05 was considered statistically significant. Incidence rates and their 95% confidence intervals (CI) were calculated using the 2005

voter's list, assuming a Poisson distribution. Only outbreaks occurring in a natural year (15 October 2004 – 14 October 2005) were considered for the seasonal distribution and calculation of the incidence rates.

Results

In the study period there were 181 foodborne gastroenteritis outbreaks due to all causes, of which *Salmonella* (72 outbreaks, 40%) and NoV (30 outbreaks, 17%) were the most-frequent (Table 1). Of the 30 foodborne NoV outbreaks, 20 (66.7%) occurred in restaurants, 6 (20%) in families, 2 (6.7%) in residential nursing homes, 1 (3.3%) in a school and 1 in a summer camp (3.3%). The number of samples analyzed was 1 to 3 in 10 outbreaks, 4 to 9 in 11 outbreaks and 10 or more in 8 outbreaks. There was only one NoV outbreak with no samples. NoV was identified as the sole agent in one or more samples from cases in 22 outbreaks and there was a mixed etiology in 3 outbreaks (with adenovirus, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus*, respectively); in the other 5 outbreaks, Kaplan's criteria were fulfilled. The genotype was determined in 10 outbreaks; 8 were genotype GGII.4 (Bristol/1993/UK) and 2 were GGII.2 (Melksham/1994/UK).

A total of 741 people were affected in the 30 NoV outbreaks and 1018 in 86 bacterial outbreaks. The incidence rates per 100,000 person-years of the cases associated with outbreaks were 9.9 (95% CI 9.2–10.7) and 14.5 (95% CI 13.6–15.4), respectively.

Although all cases were primary in most of the non-family outbreaks, in 7 NoV outbreaks a total of 27 secondary cases were recorded (3.8%); in bacterial outbreaks only 2 secondary cases were detected (0.3%), both in the same outbreak (Table 2). The median time from the onset of the outbreaks until reporting of secondary cases was 48–72 hours.

The median age of cases was ≤ 15 years in 10% of NoV outbreaks and 6% of bacterial outbreaks, 16–59 years in 83% and 87%, respectively and ≥ 60 years in 7% in both groups. There were no significant differences between the gender distribution of NoV outbreaks (51.2% male and

Table 1: Distribution of foodborne outbreaks according to etiology. Catalonia, 15 October 2004 – 30 October 2005

Etiology	Number of outbreaks (%)	Number of persons affected (%)
<i>Salmonella</i>	72 (39.8)	605 (29.4)
NoV	30 (16.6)	741 (35.0)
Other bacteria *	14 (7.7)	413 (20.1)
Vegetable toxins	16 (8.8)	57 (2.7)
Other toxic substances	12 (6.6)	39 (1.9)
Unknown	37 (20.5)	263 (12.8)
Total	181 (100.0)	2118 (100.0)

* *Staphylococcus aureus* (6), *Clostridium perfringens* (6), *Campylobacter jejuni* (1), *Streptococcus pyogenes* (1).

Table 2: Distribution of primary and secondary cases in the NoV and bacterial foodborne outbreaks according to setting.* Catalonia, 15 October 2004 – 30 October 2005

Setting	NoV outbreaks			Bacterial outbreaks		
	Primary cases	Secondary cases	Total *	Primary cases	Secondary cases	Total *
Restaurants	499	6	505	298	-	298
Residential nursing homes	7	5	12	7	-	7
Hospitals	-	-	-	25	2	27
Schools	129	14	143	306	-	306
Summer camps	38	2	40	-	-	-
Cake shops	-	-	-	20	-	20
All outbreaks	673	27	700	656	2	658

*Family outbreaks excluded

Table 3: Clinical characteristics of NoV and bacterial outbreaks. Catalonia, 15 October 2004 – 30 October 2005

	NoV outbreaks	Bacterial outbreaks	p value
No. outbreaks	30	86	
No. cases	741	1018	
Size of outbreak (median and range)	8.5 (2–174)	5.0 (2–123)	0.029 ^a
Attack rate (median)	0.66	0.70	0.091 ^a
Abdominal pain (%)	81.5	79.6	0.34 ^b
Vomiting (%)	59.0	39.0	< 0.001 ^b
Diarrhea (%)	68.5	87.0	< 0.001 ^b
Nausea (%)	62.2	41.2	< 0.001 ^b
Fever (%)	42.0	52.4	< 0.001 ^b
Hospitalizations (%)	0.15	8.6	< 0.001 ^b

^a Mann-Whitney U; ^b χ^2

48.8% female) and bacterial outbreaks (52.5% male and 47.5% female). The most frequent symptoms are shown in Table 3.

The size of the outbreaks ranged between 2 and 174 in NoV outbreaks and between 2 and 123 in bacterial outbreaks. In 50% of the NoV outbreaks and 27% of the bacterial outbreaks ($p = 0.03$) the number of cases was ≥ 10 . In 70% of the NoV outbreaks and 74% of the bacterial outbreaks the attack rate was $>50\%$. Hospitalization occurred in one case in the viral outbreaks (0.15%) and in 87 cases in bacterial outbreaks (8.6%), with the difference being statistically significant ($p < 0.001$) (Table 3).

No seasonal pattern was observed in NoV outbreaks, while bacterial outbreaks showed an increase between June and October (Figure 1).

In the 17 NoV outbreaks in which the food vehicle was determined by epidemiological analysis, the most common vehicles were fish, and more specifically, bivalve molluscs (8 outbreaks, 26.7%), pastries (3 outbreaks, 10%) and vegetables (2 outbreaks; 6.6%); in the bacterial outbreaks, these figures were 2.3%, 3.5% and 0%, respectively, with only the differences for fish and vegetables

being statistically significant. Foods purchased in cake shops were more frequently involved in NoV outbreaks (10%) than in bacterial outbreaks (3.5%) although the differences were not statistically significant (Table 4). Laboratory analysis of foods was possible in 9 of the 30 NoV outbreaks, although the virus was not detected in any outbreak; in 11 of the 86 bacterial outbreaks, the causal agent in the food was confirmed.

Stool samples from food handlers were analysed in 23 of 30 NoV outbreaks (76.7%) and one or more samples were positive in 17. The possible involvement of food handlers was detected by investigation in 13 outbreaks (43%) but was confirmed by molecular epidemiology in only one outbreak. Faecal samples from food handlers were analyzed in 30 of 86 bacterial outbreaks (34.9%) and the investigation confirmed the implication of a food handler as the source in 7 outbreaks (8.1%) by microbiology (matching types).

Discussion

The results of this study emphasize the importance of foodborne transmission in gastroenteritis outbreaks due to NoV.

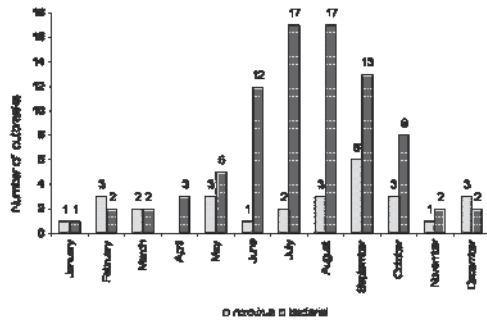


Figure 1
Monthly distribution of foodborne outbreaks. 15 October 2004 – 14 October 2005.

In this study, NoV was the second etiologic agent (30 outbreaks), only preceded by *Salmonella* (72 outbreaks). This is in agreement with other reports [8,18], although some studies have found NoV to be the first cause of foodborne outbreaks [3,19-21]. The incidence rate of the NoV cases associated with outbreaks was 9.9 per 100,000 person-years, less than the 15.6 found by Lindqvist et al in Sweden [21].

Widdowson et al [18] found that 25% of bacteria-negative outbreaks were not analyzed to detect viral causes, but this type of information is not normally available. In this study, all reported foodborne outbreaks were studied, searching first for bacteria and selectively for parasites and, if these were negative, for viruses. NoV outbreaks involved more cases, but less febrile cases and hospitalizations, showing that NoV outbreaks were less severe than bacterial outbreaks.

Although reported viral outbreaks were larger than bacterial outbreaks, the attack rates were similar, suggesting that smaller viral outbreaks are not reported. Cowden et al [22] in England found that underreporting of NoV was one hundred times greater than for *Salmonella* and 30 times greater than for *Campylobacter*.

In contrast with bacterial outbreaks, no seasonality was observed in NoV outbreaks. Some reports have found no seasonality in regard to NoV infection [22,23], while others have found an increase in winter in outbreaks involving person-to-person transmission [10], but not in foodborne outbreaks [24].

In this study, the food implicated was identified in only 57% of NoV outbreaks compared with 80% of bacterial outbreaks. In the United States, a 2002 study found levels of 47% and 76%, respectively [19], but other studies show results similar to ours [18]. With the exception of bivalve molluscs, laboratory techniques to detect NoV in foods still have a very low sensitivity [20,25].

The involvement of a food handler was suspected in 43% of NoV outbreaks, although the involvement was identified by molecular epidemiology in only one outbreak. Faecal samples should be routinely collected from patients and food handlers involved in the preparation of the foods consumed in order to demonstrate their involvement.

In our study, 27 of the 715 (3.8%) people affected by NoV in non-family outbreaks were secondary cases, a ten-fold greater proportion than in bacterial outbreaks. Some reports of foodborne NoV outbreaks mention secondary cases [25-27], but their frequency is not clear [6,27,28]. As the incubation period of NoV infections is very short, cases may occur from contact with an infected person rather than from consumption of the food and, therefore, the number of secondary cases detected should be considered inferior to the real number. Research into whether cases in foodborne outbreaks are primary or secondary should be enhanced.

Most secondary cases detected corresponded to residential nursing homes (45%) and schools (10%), where close contact is the norm. It is established that up to 30% of infected people continue to shed the virus for three weeks [29]. Therefore, when a gastroenteritis outbreak of viral etiology is suspected, strict measures with respect to hand-washing and disinfection of surfaces should immediately be adopted and compliance checked [30-32].

The main limitations of this study were the small number of samples available to diagnose the outbreaks and the passive nature of the reporting on which the study was based.

Although the means for laboratory diagnosis are available, it is not always possible to obtain the minimum four positive samples necessary to attribute the outbreak to NoV [31,33,34]. In this study we considered that one sample positive for NoV was sufficient if tests for bacteria and parasites were negative and the clinical signs and epidemiology were compatible [17]. A recent study [35] shows that the number of samples is less important for NoV outbreak diagnosis when RT-PCR techniques are used (as in the present study) than when only ELISA techniques are used.

Table 4: Distribution of foods involved in NoV and bacterial outbreaks. Catalonia, 15 October 2004 – 30 October 2005

	NoV outbreaks	Bacterial outbreaks	p value *
Mayonnaise and similar	0	27 (31.4)	0.005
Other products containing egg	2 (6.7)	19 (22.1)	0.51
Fish and seafood	8 (26.7)	2 (2.3)	< 0.0001
Meat/sausage	1 (3.3)	6 (7.0)	1.0
Vegetables	2 (6.6)	0	0.04
Fowl	0	3 (3.5)	1.0
Cake shops	3 (10.0)	3 (3.5)	0.06
Others	1 (3.3)	9 (10.5)	0.67
Unknown	13 (43.3)	17 (19.8)	0.003

*Fisher test calculated comparing each food with respect to all foods involved

The passive surveillance system used during the study period may have resulted in less outbreaks being studied than really occurred. However, it is unlikely that this influenced the comparison between viral and bacterial outbreaks since, once the reports were received, the activities carried out were the same.

Conclusion

In this study, NoV was the second causal agent of foodborne outbreaks after *Salmonella* and NoV outbreaks were larger than bacterial outbreaks, suggesting greater under-reporting and, consequently, draw-backs in the investigation of NoV outbreaks. Given that the NoV has a human reservoir, a very low infective dose and prolonged persistence in the environment, food handlers should be aware of how they can transmit the infection in different situations and receive appropriate preventive training [5]. In order to avoid secondary cases, when a foodborne outbreak of viral gastroenteritis in closed or partially-closed institutions is suspected, rapid control measures should be adopted, with an emphasis on handwashing and correct disinfection of environmental surfaces [32].

Abbreviations

NoV: Norovirus

RT-PCR: Reverse transcription polymerase chain reaction

CI: Confidence Interval

Competing interests

The author(s) declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

AD and AM designed the study and drafted the manuscript. NT participated in the design and coordination and helped to draft the manuscript. LR performed the statistical analysis. RB, UP, RP, DF, and JB performed the microbiological analysis, IB, NC, JA, CA, PG, JPB, AP

participated in the acquisition of outbreak data. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

We are grateful for the collaboration of the physicians reporting outbreaks and the technicians of the Epidemiological Surveillance Units of the Department of Health of the Generalitat of Catalonia and the Public Health Agency of Barcelona. This work was supported by a grant from the Fondo de Investigaciones Sanitarias (Project n° PI 030877) Instituto Carlos III, Madrid, Spain.

The other members of the Catalan Viral Gastroenteritis Study Group

are Glòria Carmona, Neus Cardeñosa (Department of Health, Barcelona, Spain), Maria Rosa Sala, Ariadna Rovira, Ignasi Parrón and Caritat Planas (Department of Health, Territorial Services of Barcelona, Spain), Nuria Follia and Maria Asunción Company (Department of Health, Territorial Service of Girona, Spain), Miquel Alsedà, Joan Torres and Antoni Artigues (Department of Health, Territorial Service of Lleida, Spain), Sofia Minguell (Department of Health, Territorial Service of Tarragona, Spain), Mercedes de Simón (Laboratory of the Public Health Agency of Barcelona, Spain), Albert Bosch (Enteric Virus Laboratory, University of Barcelona, Spain), Gemma Codina (Microbiology Service, Vall d'Hebron Hospital, Barcelona Spain), Jesús Rodríguez and Rebeca Montava (Microbiology Department, University of Valencia, Spain).

References

1. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV: **Food-related illness and death in the United States.** *Emerg Infect Dis* 1999, **5**:607-625.
2. Batz MB, Doyle MP, Morris G Jr., Painter J, Singh R, Tauxe RV, Taylor MR, Lo Fo Wong DM: **Attributing illness to food.** *Emerg Infect Dis* 2005, **11**:993-999.
3. Hedberg CW, Smith SJ, Kirkland E, Radke V, Jones TF, Selman CA: **Systematic environmental evaluations to identify food safety differences between outbreak and nonoutbreak restaurants.** *J Food Prot* 2006, **69**:2697-2702.
4. Cliver DO, Matsui SM, Casteel M: **Infections with viruses and prions.** In *Foodborne Infections and Intoxications* 3rd edition. Edited by: Riemann HP and Cliver DO. Amsterdam, Elsevier; 2006:367-448.
5. de Wit MA, Widdowson MA, Vennema H, de BE, Fernandes T, Koopmans M: **Large outbreak of norovirus: the baker who should have known better.** *J Infect* 2007, **55**:188-193.
6. Koopmans M, Vennema H, Heersma H, van Strien E, van Duynhoven Y, Brown D, Reacher M, Lopman B: **Early identification of common-source foodborne virus outbreaks in Europe.** *Emerg Infect Dis* 2003, **9**:1136-1142.
7. Sanchez-Fauquier A, Wilhelmi I, Roman E, Colomina J, Montero V, Negro A: **Surveillance of human calicivirus in Spain.** *Emerg Infect Dis* 2005, **11**:1327-1329.

8. Jones TF, Imhoff B, Samuel M, Mshar P, McCombs KG, Hawkins M, Deneen V, Cambridge M, Olsen SJ: **Limitations to successful investigation and reporting of foodborne outbreaks: an analysis of foodborne disease outbreaks in FoodNet catchment areas, 1998-1999.** *Clin Infect Dis* 2004, **38** Suppl 3:S297-S302.
9. Lopman B, van Duynhoven Y, Hanon FX, Reacher M, Koopmans M, Brown D: **Laboratory capability in Europe for foodborne viruses.** *Euro Surveill* 2002, **7**:61-65.
10. Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW: **Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000.** *Emerg Infect Dis* 2003, **9**:71-77.
11. Vinje J, Koopmans MP: **Molecular detection and epidemiology of small round-structured viruses in outbreaks of gastroenteritis in the Netherlands.** *J Infect Dis* 1996, **174**:610-615.
12. Villena C, El-Senousy WM, Abad FX, Pinto RM, Bosch A: **Group A rotavirus in sewage samples from Barcelona and Cairo: emergence of unusual genotypes.** *Appl Environ Microbiol* 2003, **69**:3919-3923.
13. Allard A, Albinsson B, Wadell G: **Detection of adenoviruses in stools from healthy persons and patients with diarrhea by two-step polymerase chain reaction.** *J Med Virol* 1992, **37**:149-157.
14. Guix S, Caballero S, Villena C, Bartolome R, Latorre C, Rabella N, Simo M, Bosch A, Pinto RM: **Molecular epidemiology of astrovirus infection in Barcelona, Spain.** *J Clin Microbiol* 2002, **40**:133-139.
15. Morsy El-Senousy W, Guix S, Abid I, Pinto RM, Bosch A: **Removal of astrovirus from water and sewage treatment plants, evaluated by a competitive reverse transcription-PCR.** *Appl Environ Microbiol* 2007, **73**:164-167.
16. Buesa J, Collado B, Lopez-Andujar P, Abu-Mallouh R, Rodriguez DJ, Garcia DA, Prat J, Guix S, Llovet T, Prats G, Bosch A: **Molecular epidemiology of caliciviruses causing outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis in Spain.** *J Clin Microbiol* 2002, **40**:2854-2859.
17. Kaplan JE, Feldman R, Campbell DS, Lookabaugh C, Gary GW: **The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis.** *Am J Public Health* 1982, **72**:1329-1332.
18. Widdowson MA, Sulka A, Bulens SN, Beard RS, Chaves SS, Hammond R, Salehi ED, Swanson E, Totaro J, Woron R, Mead PS, Bresee JS, Monroe SS, Glass RI: **Norovirus and foodborne disease, United States, 1991-2000.** *Emerg Infect Dis* 2005, **11**:95-102.
19. Lynch M, Painter J, Woodruff R, Braden C: **Surveillance for foodborne-disease outbreaks--United States, 1998-2002.** *MMWR Surveill Summ* 2006, **55**:1-42.
20. van Duynhoven YT, de Jager CM, Kortbeek LM, Vennema H, Koopmans MP, van Leusden F, van der Poel WH, van den Broek MJ: **A one-year intensified study of outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands.** *Epidemiol Infect* 2005, **133**:9-21.
21. Lindqvist R, Andersson Y, Lindback J, Wegscheider M, Eriksson Y, Tidestrom L, Lagerqvist-Widh A, Hedlund KO, Lofdahl S, Svensson L, Norinder A: **A one-year study of foodborne illnesses in the municipality of Uppsala, Sweden.** *Emerg Infect Dis* 2001, **7**:588-592.
22. Cowden JM: **Winter vomiting.** *BMJ* 2002, **324**:249-250.
23. Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, Humphrey CD, Bresee JS, Parashar UD, Ando T, Glass RI: **Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States.** *J Infect Dis* 2002, **186**:1-7.
24. Hedlund KO, Rubilar-Abreu E, Svensson L: **Epidemiology of calicivirus infections in Sweden, 1994-1998.** *J Infect Dis* 2000, **181** Suppl 2:S275-S280.
25. Anderson AD, Garrett VD, Sobel J, Monroe SS, Fankhauser RL, Schwab KJ, Bresee JS, Mead PS, Higgins C, Campana J, Glass RI: **Multi-state outbreak of Norwalk-like virus gastroenteritis associated with a common caterer.** *Am J Epidemiol* 2001, **154**:1013-1019.
26. Gross TP, Conde JG, Gary GW, Harting D, Goeller D, Israel E: **An outbreak of acute infectious nonbacterial gastroenteritis in a high school in Maryland.** *Public Health Rep* 1989, **104**:164-169.
27. Gotz H, de Jong B, Lindback J, Parment PA, Hedlund KO, Torven M, Ekdahl K: **Epidemiological investigation of a food-borne gastroenteritis outbreak caused by Norwalk-like virus in 30 day-care centres.** *Scand J Infect Dis* 2002, **34**:115-121.
28. Dedman D, Laurichesse H, Caul EO, Wall PG: **Surveillance of small round structured virus (SRSV) infection in England and Wales, 1990-5.** *Epidemiol Infect* 1998, **121**:139-149.
29. Koopmans M, Duizer E: **Foodborne viruses: an emerging problem.** *Int J Food Microbiol* 2004, **90**:23-41.
30. de Wit MA, Koopmans MP, van Duynhoven YT: **Risk factors for norovirus, Sapporo-like virus, and group A rotavirus gastroenteritis.** *Emerg Infect Dis* 2003, **9**:1563-1570.
31. Koopmans M, Vinje J, de Wit M, Leenen I, van der Poel WC, van Duynhoven Y: **Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands.** *J Infect Dis* 2000, **181** Suppl 2:S262-S269.
32. Barker J, Vipond IB, Bloomfield SF: **Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus contamination via environmental surfaces.** *J Hosp Infect* 2004, **58**:42-49.
33. Maunula L, von Bonsdorff CH: **Norovirus genotypes causing gastroenteritis outbreaks in Finland 1998-2002.** *J Clin Virol* 2005, **34**:186-194.
34. Blanton LH, Adams SM, Beard RS, Wei G, Bulens SN, Widdowson MA, Glass RI, Monroe SS: **Molecular and epidemiologic trends of caliciviruses associated with outbreaks of acute gastroenteritis in the United States, 2000-2004.** *J Infect Dis* 2006, **193**:413-421.
35. Duizer E, Pielaat A, Vennema H, Kroneman A, Koopmans M: **Probabilities in norovirus outbreak diagnosis.** *J Clin Virol* 2007, **40**:38-42.

Pre-publication history

The pre-publication history for this paper can be accessed here:

<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/8/47/prepub>

Publish with **BioMed Central** and every scientist can read your work free of charge

"BioMed Central will be the most significant development for disseminating the results of biomedical research in our lifetime."

Sir Paul Nurse, Cancer Research UK

Your research papers will be:

- available free of charge to the entire biomedical community
- peer reviewed and published immediately upon acceptance
- cited in PubMed and archived on PubMed Central
- yours — you keep the copyright

Submit your manuscript here:
http://www.biomedcentral.com/info/publishing_adv.asp



10.3. Acute gastroenteritis outbreaks in Catalonia, Spain: Norovirus versus Salmonella. Scand J Gastroenterol 2008;43:567-573

Scandinavian Journal of Gastroenterology, 2008; 43: 567–573

informa
healthcare

ORIGINAL ARTICLE

Acute gastroenteritis outbreaks in Catalonia, Spain: Norovirus versus SalmonellaNÚRIA TORNER^{1,2}, ANGELA DOMÍNGUEZ^{3,1}, LAURA RUÍZ², ANNA MARTINEZ², ROSA BARTOLOMÉ⁴, JAVIER BUESA⁵, M. DOLORS FERRER⁶ & THE CATALAN VIRAL GASTROENTERITIS STUDY GROUP¹CIBER Epidemiology and Public Health, Barcelona, Spain, ²Department of Health, Autonomous Government of Catalonia, Barcelona, Spain, ³Department of Public Health, University of Barcelona, Spain, ⁴Microbiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain, ⁵Microbiology Department, University of Valencia, Spain, and ⁶Laboratory of the Public Health Agency of Barcelona, Spain**Abstract**

Objective. To describe the epidemiology of norovirus (NV) and *Salmonella* gastroenteritis outbreaks in Catalonia between 15 October 2004 and 30 October 2005. **Material and methods.** Epidemiological data were obtained from outbreak reports. The aetiologic agent was investigated by culture for enteric bacteria, enzyme immunoanalyses, reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and molecular epidemiology genotyping for NV. The χ^2 test was used to compare proportions. Incidence rates and their confidence intervals (CI) were calculated assuming a Poisson distribution. **Results.** A total of 225 acute gastroenteritis (AG) outbreaks were reported, with 3436 persons affected and 115 hospitalized. Sixty outbreaks (27%) accounting for 1791 cases (52%) were caused by NV, with an attack rate (AR) of 34.7% and a hospitalization rate (HR) of 0.2%. Seventy-four outbreaks (33%) were caused by *Salmonella* spp., affecting 646 persons (18.8% (AR 45.6% and HR 13.7%)). The difference in AR between *Salmonella* spp. and NV was statistically significant (odds ratio (OR) 1.57; 95% CI: 1.39–1.78; $p < 0.001$). The median number of affected persons per outbreak was 3-fold higher for NV (15 (2–174)) than for *Salmonella* (5 (2–44)). The incidence rate of AG cases associated with NV outbreaks was significantly higher (24.9 per 100,000 persons/year (95% CI: 23.7–26.1)) than for those associated with *Salmonella* (5 (2–44)) outbreaks (9.2 per 100,000 persons/year (95% CI: 8.5–9.9)). **Conclusions.** The disease burden and impact of NV highlight the importance of timely notification and investigation of outbreaks and the development and implementation of preventive measures, such as health and safety education for caregivers and food handlers in order to reduce the incidence of infections.

Key Words: Acute gastroenteritis, attack rate, incidence rate, norovirus, Salmonella**Introduction**

Acute gastroenteritis (AG) is one of the most common diseases world-wide, both in developed countries, where morbidity rates are high, and in developing countries, where it is one of the main causes of infant mortality [1].

The major causes of diarrhoeal disease in developing and developed countries differ significantly because of the wide disparity in the availability of pure food and water and the general nutritional and health status. Improvements in sanitation, hygiene and medical care over the past century have led to a

considerable decline in the infectious causes of AG, but today this disease still poses a considerable burden on health-care systems and the general population. An English community-cohort study carried out from 1993 to 1996 reported a rate of intestinal infectious disease of 0.2 episodes per person/year [2], while a Dutch study reported a rate of AG of 0.45 episodes per person/year in 1991 [3]. Infectious AG may be caused by many pathogens, and clinical cases of AG are frequently classified as “presumed infections” with no isolation or identification of the pathogen involved.

Correspondence: Núria Torner, MS, CIBER Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Dr Aiguader 88, ES-08003 Barcelona, Spain. Tel: +34 93 5513 686. Fax: +34 93 5517 506. E-mail: nuria.torner@gencat.net

(Received 5 October 2007; accepted 9 November 2007)

ISSN 0036-5521 print/ISSN 1502-7708 online © 2008 Taylor & Francis
DOI: 10.1080/00365520701798841

568 N. Torner *et al.*

Salmonella enterica is a common cause of human gastroenteritis and bacteraemia world-wide, with a wide variety of animals, particularly food animals, being identified as reservoirs for non-typhoidal *Salmonella* spp. [1–3]. Human infections deriving from non-typhoidal *Salmonella* are commonly caused by ingestion of food contaminated by animal faeces [3]. Although >2500 serovars of *S. enterica* have been identified, most human infections are caused by a limited number of serovars, of which *S.* serovar Enteritidis and Typhimurium are the most common [4]. Shifts in the prevalence of strains and serovars may be a consequence of the globalization of food products and animals and can be used as epidemiological markers [5].

Emerging infectious organisms often encounter a host with no prior exposure and thus represent a novel challenge to the host's immune system. Ecological changes, human demographics and behaviour, international travel, technology and industry, microbial adaptation and change, and breakdowns in public health measures have been identified as general factors in the emergence of infectious disease [6,7]. Numerous pathogens that were unknown a few decades ago are now considered frequent, including *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* spp. and norovirus (NV), the last-mentioned being recognized as the most common cause of AG in the United States and Europe [1,8–13]. In 1982, Kaplan *et al.* [14] developed criteria to distinguish outbreaks caused by NV from those of bacterial aetiology. Later, these criteria were evaluated by Turcios *et al.* in order to assess the magnitude of outbreaks of unknown origin [15].

Until the last decade, when diagnostic tools for the detection of diarrhoea-causing viruses were improved, the aetiological agent could only be detected in a limited proportion of persons with gastroenteritis. AG outbreaks of non-bacterial or unknown origin were recognized to be of great public health concern and this encouraged the development of diagnostic tools such as immunologic assays [16], but the most effective tool for identifying agents causing viral AG did not become available until the last decade of the 20th century, when new molecular diagnostic methods were developed [17] which are progressively being introduced into public health laboratories but are not yet readily available to most clinical laboratories. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is a suitable alternative to preliminary screening by electron microscopy for investigating outbreaks of gastroenteritis presumably caused by viruses. ELISA-negative outbreaks should be examined by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) to detect non-reactive strains in the assay, and virus strains from representative ELISA-

positive outbreaks should be fully characterized to allow the genetic diversity of NV co-circulating in the population to be described. Therefore, ELISA kits can be useful for preliminary screening, provided that ELISA-negative outbreaks are re-tested by RT-PCR [18,19].

In Catalonia, an autonomous region in the northeast of Spain with nearly 7 million inhabitants, epidemic outbreaks of AG are reported on a statutory basis by the attending physician to the public health officers responsible for epidemiologic surveillance. The aim of this study was to compare the epidemiologic characteristics of NV and *Salmonella* spp. AG outbreaks in order to assess their magnitude and to determine how the prevention of these infections in Catalonia could be improved.

Material and methods

In Catalonia, outbreaks of AG, defined as two or more persons with similar clinical signs and symptoms and the same exposure or who are epidemiologically linked, must be reported to the Department of Health. Epidemiological data were obtained from reports derived from outbreak investigations carried out by regional surveillance units during the study period (15 October 2004 to 30 October 2005). The aetiological agent was investigated by culture for the isolation and identification of enteric bacteria. Stool samples were plated on selective and differential media to study *Salmonella* (MacConkey agar, *Salmonella-Shigella* agar, xylose-lysine-desoxycholate agar and selenite enrichment broth).

Enzyme immunoassay for NV genogroups I and II (IDEIA norovirus; DakoCytomation, Glostrup, DK.) detection was used. Additionally, RT-PCR was performed for NV, while NV genotyping was done by sequencing the amplicons with the JV12 and JV13 primers using the ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and an automated sequencer (ABI PRISM 3700; Applied Biosystems).

NV and *Salmonella* spp. outbreak attack rates and incidence rates of the cases associated with the outbreaks studied, were investigated. The χ^2 test was used to compare the different proportions. Incidence rates were calculated using the estimated population of Catalonia for 2005. Confidence intervals (CI) were calculated assuming a Poisson distribution. Outbreak data referred to a natural year (15 October 2004 to 14 October 2005) were used for incidence rates and seasonality.

Results

A total of 225 AG outbreaks, affecting 3436 persons, 115 of whom required hospitalization, were reported. Sixty outbreaks (26.7%), affecting 1791 persons (52.1%) were caused by NV (3 in co-infection with adenovirus, *S. Typhimurium* and *Vibrio parahaemolyticus*), with an attack rate of 34.7% (1791/5158) and a hospitalization rate of 0.2% (4/1791). NV genotyping was done in 31 outbreaks: 25 (41.7%) were genotype II.4 Lorsdale. Genotype GGII.4 had a higher mean attack rate (AR) (48%) and was more prevalent in hospitals, long-term care units and nursing homes (52% (13/25)). Mode of transmission of NV outbreaks was 50% (30/60) foodborne, 43.3% (26/60) person-to-person and 6.7% (4/60) waterborne.

Salmonella spp. accounted for 32.9% of outbreaks (74/225), affecting 646/3436 (18.8%) persons, with an AR of 45.6% and a hospitalization rate (HR) of 13.7% (86/646). *S. Enterica* serovar Enteritidis accounted for 73% (54/74) of *Salmonella* outbreaks. Foodborne transmission accounted for 97.3% of *Salmonella* outbreaks.

Forty-six outbreaks were caused by other infectious agents (18/225 outbreaks, 8.0%), including toxic substances of vegetable origin (mainly toxic mushrooms) (16/225 outbreaks, 7.1%) and toxic substances of animal (scombroid) or chemical (nitrates) origin (12/225 outbreaks, 5.3%). The remaining 45 outbreaks (20.0%) were classified as of unknown aetiology. The distribution of affected persons according to aetiological agent is presented in Table I.

The AR was 34.7% for NV outbreaks, and 45.6% for *Salmonella* spp. outbreaks, the difference being

AG outbreaks: Norovirus versus Salmonella 569

statistically significant (odds ratio (OR) 1.57; 95% CI: 1.39–1.78; $p < 0.001$). The difference in the proportion of affected persons in foodborne and person-to-person outbreaks was statistically significant for NV (741/897) versus *Salmonella* (646/41) (OR 0.07; 95% CI: 0.05–0.10; $p < 0.001$). No statistically significant difference was observed when considering only people affected by foodborne outbreaks (OR 1.06; 95% CI: 0.92–1.23; $p = 0.46$). The association in person-to-person outbreaks was not estimated as there were only two *Salmonella* outbreaks by this route and the number of exposed persons was known in only one.

The median of affected persons was 3-fold higher for NV (median 15, range 2–174) than for *Salmonella* (median 5, range 2–44) outbreaks. The number of outbreaks occurring within families showed a significant association (OR 0.24; 95% CI: 0.11–0.50; $p < 0.001$) being higher for *Salmonella* spp. (40/225) outbreaks than for NV (11/225) outbreaks.

The distributions according to aetiology, setting and mode of transmission of AG outbreaks are reported in Table II.

The incidence rate for the outbreak associated cases was 24.9 per 100,000 persons/year (95% CI: 23.7–26.1) for NV outbreaks and 9.2 per 100,000 persons/year (95% CI: 8.5–9.9) for *Salmonella* outbreaks. In foodborne outbreaks, the incidence rate for NV was 9.9 per 100,000 persons/year (95% CI: 9.2–10.7) and 8.6 per 100,000 persons/year (95% CI: 7.9–9.3%) for *Salmonella*; for person-to-person transmission the incidence rates were 12.8 per 100,000 persons/year (95% CI: 12.0–13.7) and 0.60 per 100,000 persons/year (95% CI: 0.41–0.82), respectively.

Table I. Distribution of outbreaks and persons affected according to aetiological agent. Catalonia, 15 October 2004–30 October 2005.

Aetiology	Number of outbreaks (%)	Number of persons affected (%)
Norovirus		
Genotype GG II.4 Lorsdale [25]	60 (26.7)	1791 (52.1)
Other genogroups (2 GGII.2 Melksham, 1 GGI.1-Norwalk, 1 GGI.6 Sindleshm, 1 GGIIb)	74 (32.9)	646 (18.8)
<i>Salmonella</i>		
<i>Salmonella</i> spp.	20	}
<i>Salmonella enterica</i> serovar Enteritidis	54	
Other bacterial agents		
<i>Campylobacter jejuni</i>	2	}
<i>Clostridium perfringens</i>	6	
<i>E. coli</i> O157:H7	1	
<i>Shigella sonnei</i>	2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	
Toxic substances (scombroid, nitrates)	12 (5.3)	39 (1.1)
Vegetable toxic substances (mushrooms, cannabis)	16 (7.1)	57 (1.7)
Unknown	45 (20.0)	409 (11.9)
Total	225 (100.0)	3436 (100.0)

570 N. Torner et al.

Table II. Epidemiologic features of AG outbreaks caused by norovirus and *Salmonella*. Catalonia, 15 October 2004–30 October 2005.

Setting	Number of outbreaks (%)		Mode of transmission				Median persons affected (range)	
	NV		Foodborne		Person-to-person		Waterborne	
	NV	<i>Salmonella</i>	NV	<i>Salmonella</i>	NV	<i>Salmonella</i>	NV	<i>Salmonella</i>
Household	11 (18.3)	40 (54.1)	6/31	40/224	5/27	—	4 (2–15)	5 (2–21)
Collective catering	22 (6.7)	28 (37.8)	20/505	27/234	2/106	1/4	14 (2–174)	5 (2–30)
School	2 (3.3)	3 (4.1)	1/143	2/85	—	1/37	1/125	134 (125–143)
Nursing homes, retirement centres	11 (18.3)	2 (2.7)	2/12	1/7	9/370	—	—	33 (5–92)
Holiday camp	6 (10.0)	—	1/40	—	2/33	—	3/28	11 (7–40)
Hospital/long-term-care facilities	6 (10.0)	—	—	1/25	6/298	—	—	26 (12–163)
Other	2 ^a (3.3)	1 ^b (1.4)	—	1/30	2/61	—	—	32 (17–46)
Total outbreaks	60 (26.7%)	74 (32.9%)	30/741	72/605	26/897	2/41	4/153	15 (2–174)

Abbreviations: AG = acute gastroenteritis; NV = norovirus.

^aRecreational facility for children; ^btherapeutic rehabilitation centre.

In foodborne NV outbreaks, a wide range of suspected foods were implicated including shellfish, sandwiches, cakes, custards, lentils, vegetable purée and roasted veal; in contrast, 66.6% (49/74) of *Salmonella* spp. outbreaks were related to the use of raw shell eggs, mostly in households (34/49: 69%) and restaurants (10/26: 38.5%).

Considering April to September as the warmer months and October to March as the colder months, there was a statistically significant lack of seasonality for NV outbreaks (28/57 (49.1%) versus 29/57 (50.9%)) compared with *Salmonella* (59/73 (80.8%) versus 14/73 (19.2%)) outbreaks, which occurred mainly in the warmer months (OR 0.19; 95% CI: 0.08–0.43); $p < 0.001$). The monthly distribution of outbreaks showed an increased frequency of *Salmonella* outbreaks in the warmer months while NV outbreaks were distributed more evenly throughout the year (Figure 1).

Discussion

We described the epidemiology of NV and *Salmonella* gastroenteritis outbreaks in Catalonia between 15 October 2004 and 30 October 2005. There are many similarities between NV and *Salmonella*: both have many types, they can be found in many foods and surfaces, contamination of food or water can lead to rapid spread and both have prolonged asymptomatic shedding. The infectious dose is as small as 10 particles for NV; for *Salmonella* the dose is usually larger, but can also be as small as that for NV when contributing factors such as lack of refrigeration, undercooked foodstuffs or poor food-handling hygiene are involved, because, in most instances, the substrate provides a suitable site for bacterial replication [20]. Investigations of NV outbreaks focus on the sources of infection involved. However, methods of detection in foods and environmental water are still being refined. The properties of NV are similar to those of *Salmonella* spp., a framework that may be

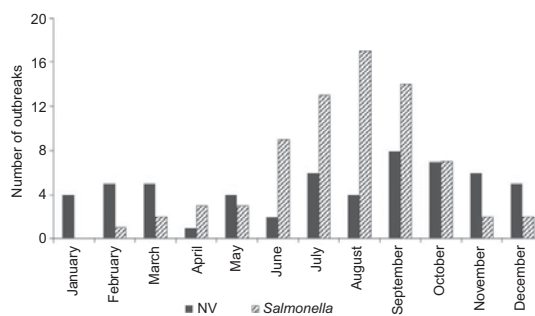


Figure 1. Monthly distribution of outbreaks: Catalonia, 15 October 2004–14 October 2005.

useful in predicting which interventions may aid the prevention and control of NV infection.

Our results are similar to those reported from other European countries. The European Centre for Disease Control Report [21] found an overall decreasing trend in salmonellosis in the past 10 years in the EU, continued during 2005, and also that NV has become a leading cause of AG in European countries such as The Netherlands [22] as well as in the United States [23]. Bacterial pathogens are targeted in an effort to prevent foodborne illness, yet NV is suspected to be the most common cause of gastroenteritis. In Catalonia, as well as in the rest of Spain and other countries, raw eggs are still the principal risk factor for *S. enteritidis* infection, especially in households and during the warmer months [22,24,25]. However, efforts to reduce the presence of *S. Enteritidis* in poultry products and eggs have a positive side effect, since not only *S. Enteritidis* but also other serotypes of *Salmonella* present in these products will be reduced, resulting in an even lower burden of salmonellosis [26].

New molecular assays permit improved estimation of the role of NV in foodborne and person-to-person infections. The proportion of confirmed NV outbreaks in Catalonia increased from 1.7% in 2001 to 14.7% in 2005, showing an increasing trend in NV-caused outbreaks versus *Salmonella* outbreaks. During the study period, NV accounted for nearly 50% of persons affected by foodborne outbreaks. NV outbreaks were larger than *Salmonella* outbreaks (median affected: 15 versus 5), accounting for 52% of persons affected by AG outbreaks, although only 0.2% were hospitalized in comparison with the 13.7% HR observed in *Salmonella* outbreaks. Our results are also consistent with a UK study, which found a median number of NV outbreaks of 21 persons and an HR of 0.3% [27]. The very low infective dose of NV, which allows for extensive foodborne and person-to-person spread [28], and the high proportion of NV GGII strains with a higher AR mean that an effort is required to increase the capacity to investigate outbreaks, irrespective of the suspected cause, by means of improved specimen collection and more widespread testing for viruses. The overall dominance of GGII.4 found in Catalonia, Spain and other European countries such as The Netherlands, Sweden and Germany suggests that this genotype is more transmissible than others in health-care settings, where close contact between many people is conducive to person-to-person transmission and could also be a result of increased levels of shedding in comparison with other genotypes [21,23,29–32]. Sensitive RT-PCR assays should be made available for widespread use and

AG outbreaks: Norovirus versus Salmonella 571

NV outbreaks should be monitored so that laboratory information can be used to ascertain the spread of the outbreak [33]. Evaluation of epidemiologic criteria is needed to assess how best they can be used to guide testing strategies when laboratory resources are limited. Better appreciation of the exact causes of the large number of outbreaks of undetermined aetiology will help to improve the targeting of measures to prevent gastrointestinal disease. Epidemiological and sequence data from outbreaks, as developed in Europe [34,35] and the United States, may provide insights into the epidemiology of NV and allow the identification of common risk factors (such as foods contaminated at source) and the implementation of control measures [36,37]. As shown by Collins in 1997, the risk of foodborne illness has increased because of societal changes that affect the purchasing and preparation of meals, including the fact that more women are in the workforce and thus have less time for food preparation [38]. Collective catering facilities play an important role in today's lifestyle and thus the training of food handlers is of utmost importance in preventing AG outbreaks [39]. NV is transmitted primarily by the faecal-oral route, but droplet, airborne and fomite transmission can occur. Furthermore, the low infectious dose, prolonged asymptomatic shedding and environmental stability (survives freezing, drying, heating up to 60°C as well as ≤ 10 ppm chlorine in water) [40] make the containment of NV outbreaks a true challenge for public health authorities.

Underreporting occurs because NV AG is not an especially remarkable condition and results from common exposure that goes undetected, as shown by the fact that, during the study period, only 11 household NV outbreaks were detected in comparison with 40 caused by *Salmonella*. Outbreaks of NV are readily recognized in closed populations such as nursing homes and hospitals and in collective catering, where shared exposure and abrupt outbreak onset are more evident and the outbreaks are larger.

Good food preparation and strict adherence to good hygienic practices remain the key strategies for the prevention of foodborne and person-to-person NV outbreaks. However, the primary prevention of all outbreaks may not yet be possible, underlining the importance of case management once an outbreak occurs, in order to limit the spread of infection [41]. The high disease impact of NV outbreaks in Catalonia found in this study should trigger the development and implementation of strict preventive measures, including health education to caregivers and food handlers, in order to prevent AG outbreaks

572 N. Torner et al.

in collective settings and households and to foster general awareness of NV as a leading cause of AG.

Acknowledgements

We thank the reporting physicians and technicians of the Epidemiological Surveillance Units of the Department of Health of the Generalitat of Catalonia and the Public Health Agency of Barcelona. This work was partly supported by a grant from the Fondo de Investigaciones Sanitarias (Project PI 030877).

Other members of The Catalan Viral Gastroenteritis Study Group:

Glòria Carmona, Neus Cardenosa (Department of Health, Barcelona, Spain); Maria Rosa Sala, Josep Álvarez, Irene Barrabeig, Ariadna Rovira, Ignasi Parrón, Caritat Planas and Cesar Arias (Department of Health, Territorial Service of Barcelona, Barcelona, Spain); Neus Camps, Nuria Fullia and Maria Asunción Company (Department of Health, Territorial Service of Girona, Girona, Spain); Pere Godoy, Miquel Alsedà, Joan Torres and Antoni Artigues (Department of Health, Territorial Service of Lleida, Lleida, Spain); Sofia Minguell and Pilar Jorgina Balaña (Department of Health, Territorial Service of Tarragona, Tarragona, Spain); Analía Pumarés (Department of Health, Territorial Service of Terres de l'Ebre, Tarragona, Spain); Mercedes de Simón (Laboratory of the Public Health Agency, Barcelona, Spain); Rosa Maria Pintó and Alberto Bosch (Enteric Virus Laboratory, University of Barcelona, Barcelona, Spain); Gemma Codina (Microbiology Service, Vall d'Hebron Hospital, Barcelona, Spain); Jesús Rodríguez and Rebeca Montava (Microbiology Department, University of Valencia, Valencia, Spain).

Conflict of interests

The authors declare that they have no competing interests.

References

- [1] Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ* 2003; 81:197–204.
- [2] Wheeler JG, Sethi D, Cowden JM, Wall PG, Rodriguez LC, Tompkins DS, et al. Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. The Infectious Intestinal Disease Study Executive. *Br Med J* 1999; 318:1046–50.
- [3] de Wit MA, Koopmans MP, Kortbeek LM, Wannet WJ, Vinje J, Van Leusden F, et al. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am J Epidemiol* 2001;154:666–74.
- [4] Humphrey TJ. Public health aspects of *Salmonella* infections. In: Wray C, Wray A, editors. *Salmonella* in domestic animals. Wallingford, England: CABI Publishing; 2000.
- [5] Aarestrup FM. International spread of multidrug-resistant *Salmonella* Schwarzengrund in food products. *Emerg Infect Dis* 2007;13:726–31.
- [6] Ecker DJ, Sampath R, Willett P, Wyatt JR, Samant V, Massire C, et al. The microbial Rosetta stone database: a compilation of global and emerging infectious microorganisms and bioterrorist threat agents. *BMC Microbiol* 2005;5: 19.
- [7] Morse SS. The public health threat of emerging viral disease. *J Nutr* 1997;127 Suppl5:951S–7S.
- [8] Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999;5:607–25.
- [9] Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, Humphrey CD, Bresee JS, Parashar D, et al. Epidemiologic and molecular trends of “Norwalk-like viruses” associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 2002;186:1–7.
- [10] Turcios RM, Curns AT, Holman RC, Pandya-Smith I, LaMonte A, Bresee JS, et al. Temporal and geographic trends of rotavirus activity in the United States, 1997–2004. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:451–4.
- [11] Koopmans M, Vinje J, Duizer E, de WM, van Duynhoven Y. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands. *Novartis Found Symp* 2001;238:197–214.
- [12] Vinje J, Vennema H, Maunula L, von Bonsdorff CH, Hoehne M, Schreier E, et al. International collaborative study to compare reverse transcriptase PCR assays for detection and genotyping of noroviruses. *J Clin Microbiol* 2003;41:1423–33.
- [13] Lopman BA, Reacher MH, van DY, Hanon FX, Brown D, Koopmans M. Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995–2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9:90–6.
- [14] Kaplan JE, Schonberger LB, Varano G, Jackman N, Bied J, Gary GW. An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home. Demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982;116:940–8.
- [15] Turcios RM, Widdowson MA, Sulka AC, Mead PS, Glass RI. Reevaluation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus: United States, 1998–2000. *Clin Infect Dis* 2006;42:964–9.
- [16] Herrmann JE, Nowak NA, Blacklow NR. Detection of Norwalk virus in stools by enzyme immunoassay. *J Med Virol* 1985;17:127–33.
- [17] Glass RI, Noel J, Ando T, Fankhauser R, Belliot G, Mounts A, et al. The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 2:S254–61.
- [18] Richards AF, Lopman B, Gunn A, Curry A, Ellis D, Cotterill H, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* 2003;26:109–15.
- [19] de Bruin E, Duizer E, Vennema H, Koopmans MP. Diagnosis of Norovirus outbreaks by commercial ELISA or RT-PCR. *J Virol Methods* 2006;137:259–64.
- [20] Matson DO, Szucs G. Calicivirus infections in children. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:241–6.
- [21] European Center for Disease Control. Epidemiological situation of communicable diseases in Europe. In: Amato-Gauci A, Ammon A, editors. *The first European commu-*

- nicable disease epidemiological report. Stockholm: European Center for Disease Control; 2007. pp 227–34.
- [22] van Duynhoven YT, de Jager CM, Kortbeek LM, Vennema H, Koopmans MP, van Leusden F, et al. A one-year intensified study of outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *Epidemiol Infect* 2005;133:9–21.
- [23] Bresee JS, Widdowson MA, Monroe SS, Glass RI. Foodborne viral gastroenteritis: challenges and opportunities. *Clin Infect Dis* 2002;35:748–53.
- [24] Dominguez A, Torner N, Ruiz L, Martinez A, Bartolome R, Sulleiro E, et al. Foodborne *Salmonella*-caused outbreaks in Catalonia (Spain), 1990 to 2003. *J Food Prot* 2007;70:209–13.
- [25] Cevallos C, Hernandez-Pezzi G, Torres A, Ordoñez P, Vilarrubia S, Bleda MJ. Foodborne disease outbreaks. Spain 2003 (waterborne disease outbreaks excluded). *Boletín Epidemiol Sem (BES)* 2005;13:25–36.
- [26] de Jong B, Ekdahl K. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. *BMC Public Health* 2006;6:4.
- [27] Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992–2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9:71–7.
- [28] Green KY, Chanock RM, Kapikian AZ. Human caliciviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. pp 841–74.
- [29] Sanchez-Fauquier A, Wilhelmi I, Roman E, Colomina J, Montero V, Negrodo A. Surveillance of human calicivirus in Spain. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1327–9.
- [30] Siebenga JJ, Vennema H, Duizer E, Koopmans MP. Gastroenteritis caused by norovirus GGII.4, The Netherlands, 1994–2005. *Emerg Infect Dis* 2007;13:144–6.
- [31] Johansson PJ, Bergentoft K, Larsson PA, Magnusson G, Widell A, Thorhagen M, et al. A nosocomial sapovirus-associated outbreak of gastroenteritis in adults. *Scand J Infect Dis* 2005;37:200–4.
- [32] Hohne M, Schreier E. Detection and characterization of norovirus outbreaks in Germany: application of a one-tube RT-PCR using a fluorogenic real-time detection system. *J Med Virol* 2004;72:312–9.
- [33] O'Neill HJ, McCaughey C, Wyatt DE, Mitchell F, Coyle PV. Gastroenteritis outbreaks associated with Norwalk-like viruses and their investigation by nested RT-PCR. *BMC Microbiol* 2001;1:14.
- [34] Koopmans M, Vennema H, Heersma H, van Strien E, Van Duynhoven Y, Brown D, et al. Early identification of common-source foodborne virus outbreaks in Europe. *Emerg Infect Dis* 2003;9:1136–42.
- [35] Sartorius B, Andersson Y, Velicko I, de Jong B, Lofdahl M, Hedlund KO, et al. Outbreak of norovirus in Vastra Gotaland associated with recreational activities at two lakes during August 2004. *Scand J Infect Dis* 2007;39:323–31.
- [36] Hedberg CW, Palazzi-Churas KL, Radke VJ, Selman CA, Tauxe RV. The use of clinical profiles in the investigation of foodborne outbreaks in restaurants: United States, 1982–97. *Epidemiol Infect* 2007;5:1–8.
- [37] Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, Bresee JS, Beard RS, Bulens SN, et al. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus: United States, 2002. *J Infect Dis* 2004;190:27–36.
- [38] Collins JE. Impact of changing consumer lifestyles on the emergence/reemergence of foodborne pathogens. *Emerg Infect Dis* 1997;3:471–9.
- [39] Kassa H. An outbreak of Norwalk-like viral gastroenteritis in a frequently penalized food service operation: a case for mandatory training of food handlers in safety and hygiene. *J Environ Health* 2001;64:9–12.
- [40] Simon A, Schildgen O, Maria Eis-Hubinger A, Hasan C, Bode U, Buderus S, et al. Norovirus outbreak in a pediatric oncology unit. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:693–9.
- [41] Gotz H, de Jong B, Lindback J, Parment PA, Hedlund KO, Torven M, et al. Epidemiological investigation of a foodborne gastroenteritis outbreak caused by Norwalk-like virus in 30 day-care centres. *Scand J Infect Dis* 2002;34:115–21.

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LOS BROTES DE GASTROENTERITIS AGUDA DE ETIOLOGÍA VÍRICA EN CATALUÑA

Memoria presentada por **Núria Torner Gràcia** para optar al título de doctor, bajo la dirección de la **Dra Ángela Domínguez** profesora de Medicina Preventiva y Salud Pública del Departamento de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Barcelona, 2008