



Universidad
Católica de
Valencia
San Vicente Mártir

TFG

TRABAJO FIN DE GRADO

**GRADO EN
VETERINARIA**

Principales virus en alimentos. Revisión sobre su importancia, detección y control.

Alumna: Laura Diestro Estruch

Tutora: María Jesús Domínguez Gómez

5º Veterinaria



Facultad de Veterinaria
y Ciencias Experimentales
Universidad Católica de Valencia
San Vicente Mártir

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 IMPORTANCIA DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA	3
1.2 VIRUS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA.....	4
1.2.1 TAXONOMÍA Y CARACTERÍSTICAS GENERALES	4
1.2.2 SITUACIÓN DE LOS VIRUS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA EN LA UNIÓN EUROPEA	6
2. OBJETIVOS	7
3. MATERIAL Y MÉTODOS	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	9
4.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO	9
4.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA	10
4.2.1 PERSISTENCIA AMBIENTAL	10
4.2.2 FRECUENCIA DE APARICIÓN Y ALIMENTOS IMPLICADOS.....	12
4.2.3 PATOGENIA Y CLÍNICA	16
4.3 MÉTODOS DE DETECCIÓN.....	19
4.3.1 DETECCIÓN DEL GENOMA VIRAL.....	19
4.3.2. MÉTODO ISO/CEN	21
4.4 MÉTODOS DE CONTROL.....	24
4.4.1 TRATAMIENTO TÉRMICO	24
4.4.2 TRATAMIENTO A ALTAS PRESIONES.....	27
4.4.3 DESINFECTANTES.....	30
4.4.4 OTROS TRATAMIENTOS	32
5. CONCLUSIONES	35
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXO	I

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Porcentaje total de brotes, número de casos e incidencia acumulada de patógenos de transmisión alimentaria en la Unión Europea durante el año 2019.	3
Tabla 2: Características generales y taxonómicas de virus implicados en la transmisión alimentaria.....	5
Tabla 3: Total de brotes y prevalencia total obtenidas de los diferentes países de la Unión Europea durante el año 2019.	6
Tabla 4: Resultados de diferentes estudios de evaluación de la prevalencia de NoV y HAV en moluscos.....	13
Tabla 5: Resultados de diferentes estudios sobre la prevalencia de HEV en mariscos.....	14
Tabla 6: Resultados de diferentes estudios sobre varios virus en moluscos.....	15
Tabla 7: Ventajas e inconvenientes de los principales métodos de detección en alimentos..	23
Tabla 8: Efectos del tratamiento térmico en virus en diferentes matrices alimentarias.	25
Tabla 9: Reducción de HAV mediante tratamiento térmico en diferentes matrices alimentarias	26
Tabla 10: Efectividad de las altas presiones en los principales virus en la industria alimentaria.....	28
Tabla 11: Tratamientos con cloro y sus efectos en los virus.	31
Tabla 12: Ventajas y desventajas de las HPP, la luz ultravioleta y la irradiación.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Total de publicaciones empleadas clasificadas por año de publicación	9
Figura 2: Resultados del tratamiento a 400 MPa a 20 °C durante diferentes rangos de tiempo	29
Figura 3: Resultados del tratamiento a 400 MPa a 4 °C durante diferentes rangos de tiempo	30

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AESA: Agencia Europea de Seguridad Alimentaria

AdV: Adenovirus

AstV: Astrovirus

ECDC: Centro europeo para la prevención y el control de enfermedades

ELISA: Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas

FCV: Calcivirus felino

HAV: Virus de la hepatitis A

HEV: Virus de la hepatitis E

HPP: Tratamiento a altas presiones

Log10: Logaritmo en base 10

NoV: Norovirus

Norovirus murino: MNV-1

OMS: Organización mundial de la salud

PAA: Ácido peracético

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

RoV: Rotavirus

RT-qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa

SV: Sapovirus

RESUMEN

Según el Informe sobre zoonosis de la Unión Europea más reciente, los virus son la tercera causa más común de enfermedades transmitidas por los alimentos, solo superados por las bacterias y sus toxinas. Aunque hay un amplio número de virus que pueden transmitirse por los alimentos, actualmente adquieren más relevancia Norovirus humano, el virus de la hepatitis A y el virus de la hepatitis E. Los objetivos del presente trabajo son recopilar e identificar las principales características, técnicas de detección y control de estos virus, mediante la revisión bibliográfica de diferentes artículos de los últimos 20 años.

Los métodos de detección incluyen, principalmente, métodos moleculares mediante PCR, aunque esta no diferencia virus infecciosos de los que no lo son y, por ello, se han empleado otras metodologías, como los métodos integrados mediante PCR y cultivo celular. Respecto a los métodos de control, los más utilizados son aquellos que implican el tratamiento térmico del alimento, aunque actualmente se están investigando tratamientos que no emplean la temperatura. A pesar de esto, no hay metodologías oficiales de detección ni control, ni tampoco límites establecidos respecto a su aparición en los alimentos.

En conclusión, aunque los virus no se replican en los alimentos, son resistentes en el ambiente y pueden infectar diferentes productos, como los mariscos y los productos cárnicos. Para garantizar su salubridad, es necesario un método de detección fiable y preciso, así como un método de control eficaz, que permita inactivar los diferentes virus sin afectar a las características organolépticas del alimento.

Palabras clave: *Virus, alimento, hepatitis A, hepatitis E, norovirus, detección, control*

ABSTRACT

According to the most recent European Union Zoonoses Report, viruses are the third most common cause of foodborne disease, second only to bacteria and their toxins. Although there are a large number of viruses that can be transmitted through food, currently human Norovirus, hepatitis A virus and hepatitis E virus are more relevant. The objectives of this work are to collect and identify the main characteristics, detection techniques and control of these viruses, through a literature review of different articles of the last 20 years.

The detection methods include, mainly, molecular methods by PCR, although this does not differentiate infectious from non-infectious viruses and, therefore, other methodologies have been used, such as integrated methods by PCR and cell culture. Regarding control methods, the most widely used are those involving heat treatment of the food, although treatments that do not use temperature are currently being investigated. In spite of this, there are no official detection or control methodologies, nor are there any established limits regarding their appearance in food.

In conclusion, although viruses do not replicate in food, they are resistant in the environment and can infect different products, such as seafood and meat products. To ensure their safety, a reliable and accurate detection method is needed, as well as an effective control method that allows inactivation of the different viruses without affecting the organoleptic characteristics of the food.

Key words: *Virus, food, hepatitis A, hepatitis E, norovirus, detection, control*

1. INTRODUCCIÓN

1.1 IMPORTANCIA DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA

Los patógenos de transmisión alimentaria representan un riesgo significativo para la salud humana y, además, causan una gran repercusión a nivel socioeconómico, debido a los costes asociados a las medidas que se deben tomar para reducir su impacto en la población (Bosch *et al.*, 2018).

Según el informe sobre zoonosis de la Unión Europea, elaborado por la Agencia Europea de seguridad alimentaria (AESA) y el Centro Europeo para la prevención y control de enfermedades (ECDC), durante 2019 hubo un total de 5.175 brotes de origen alimentario (EFSA, 2021). Los datos obtenidos y comparados con el resto de los agentes causales se detallan en la tabla 1.

Tabla 1: Porcentaje total de brotes, número de casos e incidencia acumulada de patógenos de transmisión alimentaria en la Unión Europea durante el año 2019. Fuente: EFSA, 2021

AGENTE CAUSAL	BROTOS	% TOTAL	TASA X 100.000	NÚM DE CASOS
Bacterias	1.364	26,4	0,27	11.667
Toxinas	997	19,3	0,2	10.555
Virus	554	10,7	0,11	12.227
Parásitos	31	0,6	0,01	747
Otros agentes	155	3	0,03	773
Desconocido	2074	40,1	0,41	13.494
Total	5.175	100	1,02	49.463

Como se puede observar, el total de brotes de origen vírico representa el 10,7% del total, solo superado por las bacterias y sus toxinas. A pesar de estos datos, no hay legislación aplicable con respecto a los límites de detección de los virus en alimentos, ni tampoco metodología oficial para su detección y control.

1.2 VIRUS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA

1.2.1 TAXONOMÍA Y CARACTERÍSTICAS GENERALES

Los virus comúnmente relacionados con las enfermedades de transmisión alimentaria son aquellos que se encuentran en el tracto gastrointestinal, se transmiten por vía fecal-oral y cursan con gastroenteritis. Los alimentos actúan como vehículos en su transmisión, pero estos no se multiplican ni producen toxinas en ellos, aunque por ello no se garantiza su salubridad. Esto es debido a que los virus son parásitos intracelulares obligados, que requieren células del huésped susceptibles a la propagación y a la infección para poder replicarse (EFSA 2011; Bosch *et al.*, 2018).

Las características generales de los virus y las infecciones virales transmitidas por los alimentos y que los diferencia de las infecciones bacterianas son las siguientes (Koopmans y Duizer, 2004):

- La enfermedad se produce con pocas partículas virales.
- Se eliminan un gran número de partículas virales en heces de las personas infectadas.
- Los virus necesitan células vivas específicas para poder replicarse.
- Los virus son resistentes fuera del huésped.

Hay una amplia variedad de virus que pueden encontrarse en el tracto gastrointestinal, aunque las enfermedades víricas transmitidas por alimentos son causadas, principalmente, por Norovirus humano (NoV), el virus de la hepatitis A (HAV) y el virus de la hepatitis E (HEV) (EFSA, 2016). No obstante, se deben tener en consideración otros virus que han sido relacionados con los alimentos entre los que se encuentran Astrovirus (AstV), Adenovirus (AdV) y Sapovirus (SV). Las características generales de estos virus se detallan en la tabla 2.

Tabla 2: Características generales y taxonómicas de virus implicados en la transmisión alimentaria.

Fuente: Bachofen, 2018

NOMBRE COMÚN	GÉNERO	FAMILIA	GENOMA	MORFOLOGÍA
Adenovirus	<i>Mastadenovirus</i>	<i>Adenoviridae</i>	ADN	Icosaédrica
Astrovirus	<i>Mamastrovirus</i>	<i>Astroviridae</i>	ARN	Icosaédrica
Coronavirus humano	<i>Coronavirus</i>	<i>Coronaviridae</i>	ARN	Helicoidal
Norovirus humano	<i>Norovirus</i>	<i>Calciviridae</i>	ARN	Icosaédrica
Sapovirus	<i>Sapovirus</i>	<i>Calciviridae</i>	ARN	Icosaédrica
Hepatitis E	<i>Hepevirus</i>	<i>Hepeviridae</i>	ARN	Icosaédrica
Hepatitis A	<i>Hepatovirus</i>	<i>Picornaviridae</i>	ARN	Icosaédrica
Rotavirus A	<i>Rotavirus</i>	<i>Reoviridae</i>	ARN	Icosaédrica
Poliovirus o Coxsackie	<i>Enterovirus</i>	<i>Picornaviridae</i>	ARN	Icosaédrica
Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas	<i>Flavivirus</i>	<i>Flaviviridae</i>	ARN	Icosaédrica

1.2.2 SITUACIÓN DE LOS VIRUS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA EN LA UNIÓN EUROPEA

Según AESA y ECDC, en Europa, el principal virus causal de brotes de origen alimentario es NoV, seguido de HAV (EFSA,2021). En la tabla 3 se detallan los datos obtenidos por diferentes países de la Unión Europea durante el año 2019.

Tabla 3: Total de brotes y prevalencia total obtenidas de los diferentes países de la Unión Europea durante el año 2019. Fuente: EFSA, 2021

AGENTE CAUSAL	TOTAL DE BROTES	% TOTAL	CASOS HUMANOS
Adenovirus	1	0,18%	8
Flavivirus	3	0,54%	15
Hepatitis A y otros virus de la hepatitis	22	3,97%	135
Hepatitis E	3	0,54%	6
Norovirus	457	82,49%	11.125
Sapovirus	1	0,18%	89
Rotavirus	8	1,44%	85
Otros virus	59	10,64%	764
Subtotal	554	100%	12.227

Como se observa en la tabla, el porcentaje total de brotes y casos de NoV representa casi en su totalidad la prevalencia obtenida, lo que lo convierte en el primer agente causal de enfermedades víricas transmitidas por alimentos y uno de los principales agentes asociados a brotes de origen alimentario en general.

2. OBJETIVOS

- Recopilar las características y sintomatología producida por los principales virus implicados en enfermedades de transmisión alimentaria.
- Identificar las técnicas empleadas para la detección de virus en alimentos o agua y sus limitaciones.
- Determinar el método más efectivo para el control de virus en la industria alimentaria.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente trabajo, Las bases de datos que se utilizaron para la búsqueda de artículos son Pubmed, Google académico, SciELO, Teseo y RIUCV. Los conceptos de búsqueda seleccionados son los siguientes, combinados mediante el uso de marcadores booleanos 'AND', 'OR' y 'NOT':

<i>Foodborne</i>	<i>Virus</i>
<i>Food</i>	<i>Persistence</i>
<i>Control</i>	<i>Detection</i>
<i>Occurrence</i>	<i>Clinic</i>
<i>Outbreak</i>	<i>Norovirus</i>
<i>Hepatitis A</i>	<i>Hepatitis E</i>

Los artículos se seleccionaron por su relevancia y año de publicación, empleándose solo aquellos publicados en los últimos 20 años. Posteriormente, se clasificaron según si trataban el tema de forma general, abordando todos los virus de transmisión alimentaria o todo tipo de técnicas de detección o control; o de forma específica, tratando solo un virus en concreto o una técnica específica. El software empleado para el almacenamiento de estos artículos y la gestión de la bibliografía es Mendeley.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Artículos publicados en los últimos 20 años, desde el 1 de enero de 2001 hasta el 1 de junio de 2021
- Artículos publicados en lengua inglesa o española
- Revistas incluidas en el ranking 'Journal Impact Factor' del año 2020

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Artículos anteriores al año 2001
- Artículos redactados en un idioma diferente al inglés o al español
- Estudios cuyo análisis de muestras sea inferior a 25

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO

En total, los artículos seleccionados han sido 75, de 34 revistas científicas diferentes, 1 tesis doctoral y 1 libro específico sobre el tema, con el fin de completar el estudio. En el anexo se muestran el total de artículos empleados junto con la revista científica correspondiente y el factor de impacto durante el año 2020, además del año de publicación. En la figura 1 se muestran el total de publicaciones empleadas clasificadas por año de publicación.

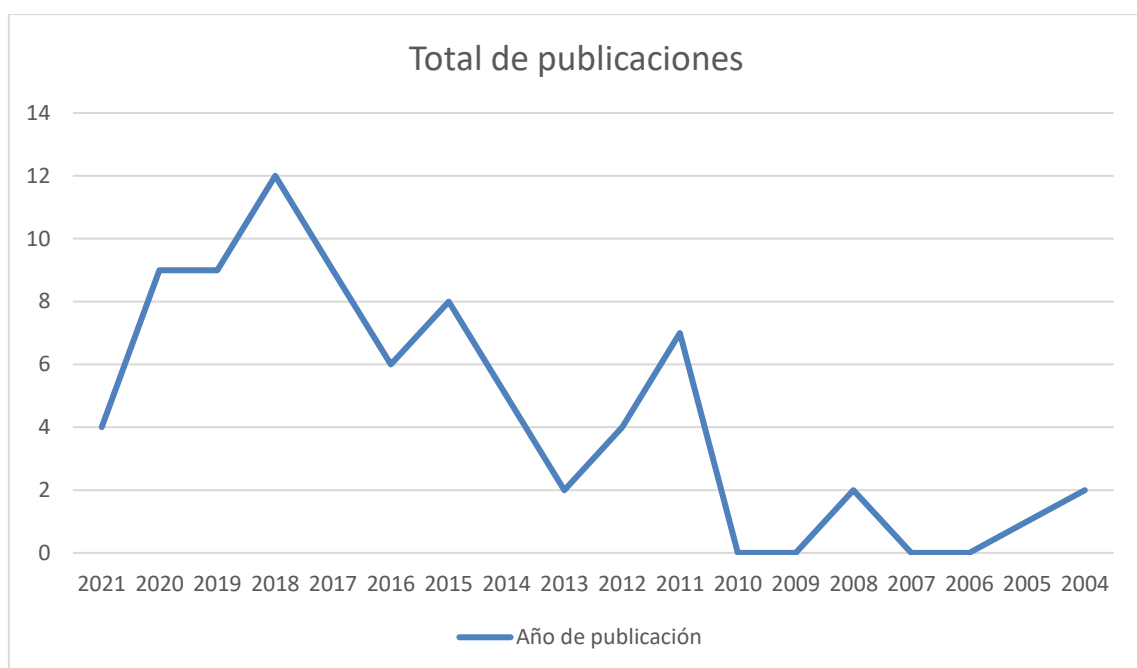


Figura 1: Total de publicaciones empleadas clasificadas por año de publicación.

4.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA

4.2.1 PERSISTENCIA AMBIENTAL

La mayoría de los virus entéricos no tienen envoltura y, además, poseen una cápside proteica que les confiere una alta resistencia ambiental, por lo tanto, pueden permanecer durante meses en el ambiente sin perder su infectividad. Los estudios respecto a las condiciones ambientales en las que los virus se inactivan o mantienen su infectividad son escasos, aunque gran parte de los tratamientos de procesamiento se basan en las modificaciones de parámetros como la temperatura (Bozkurt *et al.*, 2015; Nasheri *et al.*, 2019).

TEMPERATURA

La variación de temperatura es uno de los métodos más aplicados en la industria alimentaria para el control de los virus, ya que es el factor principal que determina la persistencia de los virus en el ambiente (Bozkurt *et al.*, 2015).

Los estudios realizados sobre la persistencia de NoV sugieren que es más estable a temperaturas más bajas. Se investigó la supervivencia de un sustituto de NoV, Norovirus murino (MNV-1) en amplios rangos de temperatura (4,15,25 y 40 °C) y los resultados demostraron que este virus mantenía su capacidad infectiva mejor a 4°C y se inactivó a temperaturas de 40 °C (Shamkhali *et al.*, 2017). Estos resultados concuerdan con los de Kauppinen *et al.* (2017), que estudiaron la persistencia de las diferentes cepas de NoV en aguas residuales a temperaturas ambientales (3, 21 y 36 °C). NoV persistió durante más tiempo a 4 °C que a 21 °C y se inactivó completamente a 36 °C a los 40 días. En otro estudio, MNV-1 se redujo 2 log₁₀ después de 12 días a 24 °C y se inactivó después de 4 días a 37 °C, cuyos resultados son similares a los anteriores estudios (Bertrand *et al.*, 2012).

Respecto a HAV, se considera un virus estable en el ambiente, ya que se ha evidenciado que soporta temperaturas de hasta 60 °C, sobrevive en aguas ambientales a temperaturas inferiores a 25 °C y es resistente a la desecación, aunque, por debajo de los 21 °C, no sobrevive más de 90 días (Cook *et al.*, 2018). Leblanc *et al.* (2019) evaluaron la pérdida de infectividad de HAV a temperaturas de 21 °C y, después de 4 días, no se observó ninguna pérdida. Hay que considerar que la matriz alimentaria empleada en este último estudio son los arándanos, por lo que las condiciones de pH pueden ejercer un efecto protector sobre el virus.

Se dispone de poca información sobre la estabilidad térmica de HEV, debido a que no se disponen de sistemas de cultivo eficaces para evaluar su infectividad. Emerson *et al.* (2005) investigaron su supervivencia a temperaturas similares a las comentadas anteriormente respecto a NoV (4,22 y 37 °C) mediante el uso de un tratamiento con ARNasa para detectar partículas virales intactas. Los resultados de este estudio demostraron que HEV presentaba curvas de inactivación similares a NoV, inactivándose a temperaturas más altas y resistiendo mejor las temperaturas bajas. Estos resultados no concuerdan con Johne *et al.* (2016), quienes realizaron un ensayo de integridad de la cápside que indican que el virus se mantuvo estable a 56 °C durante 1 minuto, aunque se inactivó a temperaturas de 70 °C durante 2 minutos. La comparación de los diferentes resultados de las investigaciones es difícil, ya que estos estudios no emplean las mismas combinaciones de temperatura y tiempo.

En cuanto a temperaturas de congelación, se ha evidenciado que HAV y NoV se mantienen infecciosos de forma indefinida a -20 °C.

Butot *et al.* (2008) realizaron una investigación sobre el efecto de la congelación en Rotavirus (RoV), NoV y HAV en diferentes matrices alimentarias, como las frambuesas y los arándanos, mediante RT-PCR y cultivo celular. Los resultados mostraron que NoV y HAV se mantuvieron estables durante 90 días, a diferencia de RoV, que en arándanos se redujo 1 log₁₀ después de solo dos días de almacenamiento. Otro estudio similar y más actual realizado por Leblanc *et al.* (2019) mostró resultados similares para NoV y HAV, pero no para el sustituto de RoV, rotavirus bovino, el cual mantuvo su infectividad después de 14 días, también en arándanos.

Respecto a la resistencia a temperaturas de congelación de HEV, solo Jones y Muelhauser (2014) almacenaron muestras de heces porcinas con HEV a -20 °C durante 30 días, pudiéndose detectar todavía copias del genoma en las muestras, aunque no se pudo determinar si permanecía infeccioso o no.

PH

En cuanto al pH, hay pocos estudios actuales que evalúen la resistencia de los virus entéricos a condiciones ácidas o básicas.

Anteriormente, se concluyó que HAV es tolerante a pH más bajos (pH 1 hasta 5 horas a temperatura ambiente), mientras que NoV es más estable a pH bajos y neutros (3-7) y se desestabiliza a pH más altos (superior a 8) (White *et al.*, 2017).

Solo un estudio actual evaluó la estabilidad de HEV a diferentes pH, en el que se produjo una disminución mínima de la infectividad después del tratamiento a pH 2 durante 3 horas (0,6 log₁₀) y se desactivó completamente a pH 1. A pH más básicos (10), hubo una disminución de 3 log₁₀, por lo que hay evidencias de que HEV es más resistente a pH ácidos que básicos (Wolff *et al.*, 2020).

4.2.2 FRECUENCIA DE APARICIÓN Y ALIMENTOS IMPLICADOS

La mayoría de las investigaciones en las que se evalúa el riesgo de transmisión de los virus en los alimentos apuntan a la contaminación del agua, pero pocos evalúan el riesgo de los productos alimenticios (Bosch *et al.*, 2018).

Los mariscos representan un vehículo importante de transmisión de patógenos y son los principales transmisores de NoV y HAV, especialmente los moluscos ya que, al ser organismos que se alimentan por filtración, pueden concentrar microorganismos presentes en el agua (La Bella *et al.*, 2017).

EFSA journal publicó una revisión sobre la frecuencia de aparición de NoV y HAV mediante la recolección de diferentes estudios de países de Europa sobre análisis de mariscos recolectados durante diferentes años, con posterioridad al año 2000, con datos de mínimo 25 muestras y mediante el uso de RT-PCR. Esta revisión concluyó que la prevalencia de NoV en mariscos varía de 0% a 79% en áreas comerciales y de 0% a 60% en áreas no comerciales. Respecto a HAV, en áreas comerciales la prevalencia varió del 0 a 43% y del 0 al 49% en áreas no comerciales (EFSA, 2011).

Posteriormente a esta revisión, se han realizado diversos estudios sobre la prevalencia de NoV y HAV en moluscos. El resumen de los resultados se presenta en la tabla 4.

Tabla 4: Resultados de diferentes estudios de evaluación de la prevalencia de NoV y HAV en moluscos.

Fuente: elaboración propia.

NÚMERO DE MUESTRAS	MÉTODO DE DETECCIÓN	ÁREA GEOGRÁFICA	MUESTRAS POSITIVAS		REFERENCIA
			NoV	HAV	
320 (NoV) 150 (HAV)	RT-qPCR	España	39 (12,18%)	71 (47,3%)	Fernández, 2013
352	ISO 15216-1:2017	Italia	----	277 (78,8%)	Suffredini <i>et al.</i> , 2017
120	RT-PCR	Océano báltico	50 (41,6%)	9 (7,5%)	Bigoraj <i>et al.</i> , 2014
253	RT-qPCR	Italia	37 (14,2%)	0	La Bella <i>et al.</i> , 2017
168	ISO 15216-1:2017	España	97 (57,7%)	17 (10,1%)	Polo <i>et al.</i> , 2015

Hay diferencias significativas entre los diferentes estudios, aunque todas las muestras fueron obtenidas durante periodos superiores a 6 meses y en diferentes estaciones del año, tanto cálidas como frías.

El estudio realizado por Suffredini *et al.* (2017), en el que la prevalencia es elevada (78,8%) se realizó en un área de producción durante un periodo en el que los casos de HAV en la población se habían visto incrementados. Los estudios realizados por Fernández (2013) y Polo *et al.* (2015) fueron realizado en zonas costeras catalogadas como B y C, por lo que las muestras estaban expuestas a mayor contaminación fecal. Por lo tanto, la variación de la prevalencia en las muestras puede estar relacionada con un aumento de la prevalencia de HAV en la población.

Respecto a la presencia de HEV en mariscos, EFSA (2011) menciona la falta de estudios sistemáticos sobre su presencia en mariscos. Sin embargo, estudios posteriores sí que confirman la aparición de ADN viral en este producto (tabla 5).

Tabla 5: Resultados de diferentes estudios sobre la prevalencia de HEV en mariscos. Fuente: elaboración propia.

NÚMERO DE MUESTRAS	DETECCIÓN	ÁREA GEOGRÁFICA	MUESTRAS POSITIVAS	REFERENCIA
310	RT-qPCR	Escocia	9 (2,9%)	Hara <i>et al.</i> , 2018
168	RT-qPCR	España	41 (24,4%)	Rivadulla <i>et al.</i> , 2019
384	RT-qPCR	Italia	10 (2,6%)	La Rosa <i>et al.</i> , 2018
81	RT-qPCR	España	12 (14,81%)	Mesquita <i>et al.</i> , 2016
45	PCR	Escocia	41 (97%)	Tardif-Douglin <i>et al.</i> , 2012
289	ISO 15216-1:2017	Italia	0%	Fusco <i>et al.</i> , 2019

Hay discrepancias entre los resultados obtenidos en estos estudios, especialmente el estudio realizado por Tardif-Douglin *et al.* (2012) en el que los moluscos presentaban un 97% de prevalencia en las muestras detectadas, y el estudio realizado por Fusco *et al.* (2019), en el que no se detectaron muestras positivas en un periodo de 3 años. Hay que tener en consideración que en el primer estudio las muestras fueron tomadas en una zona cercana a una planta de preparación de carne, lo cual no puede considerarse el hábitat común y de recolección de los moluscos.

Por otra parte, los estudios realizados por Hara *et al.* (2018), y La Rosa *et al.* (2018), en los que se muestra una prevalencia inferior al 3%, fueron estudiados en moluscos puestos en mercado, los cuales ya han pasado por un proceso de depuración. Por lo tanto, el área geográfica y la proximidad a zonas de depuración puede provocar variabilidad en los resultados.

Además de NoV, HAV y HEV, se ha evidenciado la presencia de otros virus en moluscos, cuya ruta de transmisión es fecal-oral y que cursan, principalmente, con gastroenteritis, como SV y RoV (tabla 6).

Tabla 6: Resultados de diferentes estudios sobre varios virus en moluscos. Fuente: elaboración propia.

VIRUS	NÚMERO DE MUESTRAS	DETECCIÓN	ÁREA GEOGRÁFICA	MUESTRAS POSITIVAS	REFERENCIA
Rotavirus	289	ISO 15:216		26 (9%)	Fusco <i>et al.</i> , 2019
Astrovirus				60 (20,8%)	
Adenovirus				16 (5,5%)	
Sapovirus	168	ISO 15:216	España	30 (17,8%)	Varela <i>et al.</i> , 2016a
Rotavirus	108		Italia	14 (12,96%)	Fusco <i>et al.</i> , 2017
Sapovirus				19 (17,59%)	
Astrovirus				31 (28,7%)	
Sapovirus	80	RT-qPCR	España	30 (37,5%)	Varela, <i>et al.</i> , 2016b

Como se puede observar en la tabla, SV y AstV son los dos virus con prevalencias mayores en moluscos, por detrás de NoV y HAV. Aunque hay diferencias significativas entre los resultados de los diferentes estudios, todas las prevalencias se mantienen por debajo del 50%. Todos estos estudios fueron realizados a lo largo de, mínimo, 1 año, en diferentes estaciones y en áreas geográficas templadas, por lo que la variación de prevalencia entre las diferentes muestras podría explicarse por la situación sanitaria en un momento concreto del año, en el que los resultados pueden incrementarse.

Respecto a la carne y los productos cárnicos, diferentes estudios han evidenciado que el hígado de cerdo y sus derivados se consideran los principales productos de riesgo para la transmisión de HEV, y no hay estudios claros sobre la presencia de NoV y HAV (Cook y Van der Poel, 2015). Se realizó un estudio en el que se analizaron 45 cerdos aparentemente sanos procedentes de 9 mataderos españoles, los cuales suponían más del 50% del mercado nacional. Se tomaron 10 muestras de cada animal y se evaluaron mediante RT-PCR en hígado, heces, riñón, suero y diafragma. Los resultados mostraron unas prevalencias del 15%, 13%, 11%, 6% y 2% respectivamente. También se evaluó costilla, tocino, jamón y lomo, cuyos

resultados fueron todos negativos por lo que, como se ha comentado anteriormente, el músculo y la grasa representan material de bajo riesgo (García *et al.*, 2020).

Otro estudio similar analizó la presencia de ARN de HEV en hígado de cerdo recogida durante el sacrificio en mataderos de diferentes países de Europa y cuya prevalencia varió entre el 1,3% hasta el 13,5%, cuyos resultados coinciden con el estudio anterior (Crotta *et al.*, 2018).

Según Dziedzinska *et al.* (2020), hay evidencias sobre la transmisión de HEV en leche, ya que estudiaron la prevalencia de HEV en leche de pequeños rumiantes obtenida de 290 muestras de granjas diferentes, que resultaron de una prevalencia de un 2,8%. Sin embargo, se realizó un estudio similar en los que se analizaron 504 muestras de leche de vaca de 460 granjas diferentes y todas las muestras fueron negativas, al igual que otro estudio realizado en Alemania con 400 muestras de 400 granjas diferentes, por lo que el riesgo de transmisión de HEV a través de la leche todavía no está claro (Dam *et al.*, 2017; Vercoouter *et al.*, 2018).

Finalmente, respecto a productos frescos, se han reportado brotes y casos causados, principalmente, por NoV y HAV. La organización mundial de la salud (OMS) reportó una lista de alimentos frescos entre los que se incluyen las hortalizas, como la lechuga, y las bayas, como las frambuesas y los arándanos, entre los alimentos de riesgo para la transmisión de estos dos virus, aunque todavía no hay información ni estudios que evalúen su frecuencia de aparición (EFSA, 2011).

4.2.3 PATOGENIA Y CLÍNICA

La mayoría de los virus de transmisión alimentaria cursan con gastroenteritis, entre los que se incluyen NoV, RoV, SV, AstV y AdV, entre otros, aunque también se ha notificado casos de síndromes respiratorios producidos por Coronavirus, y enfermedades neurológicas producidas por Enterovirus, Poliovirus y Encefalitis transmitida por garrapatas, aunque a una frecuencia muy baja (Bozkurt *et al.*, 2015).

Respecto a NoV, el periodo de incubación es bastante breve, de media 1,2 días. Se analizaron 4 brotes en un periodo de 3 años en los cuales los principales síntomas fueron vómitos y diarrea y el 86% de los pacientes tuvo resolución de los síntomas en un periodo de 1 a 3 días. En cuanto a los síntomas extragastrointestinales, en un brote en el que se vieron

implicadas 562 personas, un 0,5% de ellas presentó síntomas respiratorios, los cuales podrían ser clasificados como sintomatología inusual. También se han reportado casos de pacientes con sintomatología neurológica, como por ejemplo encefalopatías, detectándose ARN viral en el líquido cefalorraquídeo. En estos pacientes, la aparición de convulsiones se produce de forma frecuente, en un total de 15 de 173 pacientes afectados por NoV (Robilotti *et al.*, 2015).

Otro de los principales virus productores de gastroenteritis es RoV, cuyo periodo de incubación es similar al anterior (media de 2 días) y la resolución de los síntomas se produce en 5 días. Al igual que NoV, puede cursar con síntomas extragastrointestinales, debido a la afectación de los enterocitos y movilización de enterotoxinas, produciendo síntomas neurológicos en pacientes inmunodeprimidos (Esona y Gautam, 2015).

Respecto a HEV, el periodo de incubación difiere bastante a los anteriores, de 2 a 6 semanas. Ésta cursa de forma autolimitante y se resuelve en pocas semanas. Más del 95% de las infecciones son asintomáticas y en el caso de infecciones sintomáticas los síntomas iniciales son fiebre y náuseas, seguidas de dolor abdominal, anorexia y malestar general. Estos pacientes cursan con hepatomegalia y el 40% de ellos presentan ictericia. Los fallecimientos son comunes en personas embarazadas y en personas con enfermedad hepática crónica (Kamar *et al.*, 2014).

Además de sintomatología relacionada con enfermedad hepática, la infección por HEV con una gran variedad de síntomas extrahepáticos:

- Desórdenes neurológicos: Síndrome de Guillain-Barré (SGB), parálisis del nervio facial, meningitis viral, encefalitis y mielitis.
- Desórdenes hematológicos: trombocitopenia
- Pancreatitis
- Enfermedad renal: glomerulonefritis (Aslan y Balaban, 2020)

Se ha demostrado la presencia de trastornos neurológicos en pacientes infectados por HEV. Un estudio investigó a 1.940 pacientes inmunocompetentes infectados, de los cuales un 30,4% presentaron trastornos neurológicos, entre las que se encontraron la amiotrofia y la mialgia. En otro estudio realizado en Reino Unido, Francia y los Países bajos, se examinaron 264 pacientes con lesión neurológica, de los cuales 11 (2,4%) tenían evidencia de infección por HEV (Ripellino *et al.*, 2020).

Una de las manifestaciones más características es el síndrome de Guillain-Barré (SGB). SGB es un trastorno inmunomediado de inicio agudo del sistema nervioso periférico que causa una parálisis motora simétrica que progresa rápidamente (Fousekis *et al.*, 2020).

Van Den Berg *et al.* (2014) investigaron la prevalencia de HEV en pacientes que habían padecido SGB mediante la detección de anticuerpos anti-HEV con la técnica ELISA. El resultado del estudio fue un 5%, sin establecer relación con el sexo, la edad ni deficiencias neurológicas anteriores a la infección.

No hay muchos estudios con respecto a la patogenia HEV. Se conoce que se replica, al igual que los anteriores, en el tracto gastrointestinal, pero finalmente acaba replicándose en el citoplasma de los hepatocitos produciendo enfermedad hepática y liberándose al torrente sanguíneo, la bilis y las heces (Aslan y Balaban, 2020).

Respecto a HAV, la infección va desde una infección asintomática hasta insuficiencia hepática aguda, pero no progresa a la forma crónica y los síntomas persisten de 2 a 8 semanas. El inicio de la hepatitis A suele ser repentino con fiebre (18% -75%), malestar (52% - 91%), náuseas o vómitos (26% -87%), malestar abdominal (37% -65%) , bilirrubinuria (28% - 94%) e ictericia (40-80%) (Shin y Jeong, 2018).

4.3 MÉTODOS DE DETECCIÓN

La detección de virus en alimentos no es sencilla, ya que presenta ciertas limitaciones debido a las características de estos microorganismos:

- No existe un cultivo celular eficiente para todos los virus.
- Muchos virus crecen de forma muy lenta en cultivos celulares o no producen efecto citopático.
- Estos virus se encuentran a dosis muy bajas en el agua y en los alimentos.
- La contaminación en el alimento no es uniforme (Randazzo *et al.*, 2020).

Por este motivo, cualquier método de detección de virus debe ser muy sensible y específico. A pesar de esto, su detección se ha incrementado los últimos años mediante el uso de técnicas moleculares, principalmente RT-qPCR (Bosch *et al.*, 2011, 2018; Randazzo *et al.*, 2019).

Como se ha comentado anteriormente, los virus a menudo se distribuyen de manera desigual en los alimentos, por lo que es necesario probar réplicas virales u obtener muchas muestras para tener los resultados cualitativos o cuantitativos más fiables. En la actualidad, no existen criterios microbiológicos reglamentarios (por ejemplo, normas, directrices o especificaciones) aplicados en relación con los virus. La mayoría de las empresas y autoridades alimentarias piden principalmente resultados cualitativos como parte de las pruebas de higiene de producción o las investigaciones de brotes (EFSA, 2011).

4.3.1 DETECCIÓN DEL GENOMA VIRAL

La detección de virus en alimentos se basa, generalmente, en la detección de genoma vírico por técnicas de amplificación como PCR o RT-PCR. Como ya se ha mencionado anteriormente, la detección mediante cultivo celular presenta una serie de limitaciones, ya que no todos los virus producen efecto citopático y algunos crecen de forma muy lenta (Bosch *et al.*, 2011).

La PCR convencional y RT-qPCR permiten una detección cuantitativa y cualitativa de los virus en las matrices alimentarias. El método cualitativo está indicado cuando se analizan alimentos cuya probabilidad de contaminación es baja, por lo que éste solo demuestra un

resultado positivo o negativo. En cambio, el método cuantitativo se utiliza cuando es probable que un alimento este contaminado y sea necesario determinar el grado de contaminación. Por otra parte, aunque la detección mediante PCR es un método fiable y preciso, existe la limitación de que no es capaz de diferenciar entre partículas virales infecciosas de aquellas que no lo son (Bosch et al., 2011). Sin embargo, Bhattacharya *et al.* (2004) sostienen que la RT-PCR es válida para discriminar virus infecciosos de los que no lo son, ya que sometieron muestras de alimentos contaminadas con HAV a tratamientos de inactivación por calor, los cuales produjeron una señal de amplificación menor que las de aquellas muestras que no habían sido sometidas a tratamiento, lo cual se relacionó con la pérdida de efectividad del virus.

Una de las opciones estudiadas para la detección de virus infecciosos son los métodos integrados, que consisten en someter a todas aquellas muestras positivas a la detección PCR a un ensayo de cultivo celular y la detección de la presencia de virus en el cultivo sobrenadante por RT-PCR. Hyeon *et al.* (2011) establecen un método de detección de HAV infeccioso mediante la integración de cultivo celular y RT-PCR en lechuga, detectando HAV 2 días después mediante RT-PCR, y cuyo efecto citopático se mostró 7 días después.

Sin embargo, no se ha evidenciado ningún sistema de cultivo celular sea aplicable a todas las cepas de HEV ni NoV, por lo que no se ha demostrado la eficacia de este sistema en la medición de la infectividad de estos y, por ello, es necesario el uso de otros métodos (Bhar y Jones, 2019; Papafragkou y Kulka, 2016). Entre estas estrategias, se encuentran el uso de marcadores de viabilidad para determinar la integridad de las cápsides virales. Estos marcadores celulares se han descrito para la identificación de NoV, HAV, AdV y RoV y consisten el uso de monoazida de etidio (EMA) y monoazida de propidio (PMA) antes del empleo de la PCR, cuyo mecanismo de acción consiste en penetrar solo en las cápsides virales dañadas (Fraisse *et al.*, 2018; Randazzo *et al.*, 2019).

Cook *et al.* (2017) describe el uso de un ensayo de integridad de la cápside de HEV para la detección de partículas virales infecciosas. Después de la extracción del virus, éste se trata con nucleasas antes de la detección por PCR. La PCR solo detecta el ácido nucleico que es protegido por una cápside intacta mientras que, el ácido nucleico del virus inactivo se degrada y no permite su detección.

Por otra parte, además de la PCR, se ha descrito la detección de NoV, HAV y RoV mediante microscopía electrónica y ELISA de antígeno. La microscopía electrónica permite visualizar las características del virus de una forma rápida, pero requiere una muestra muy grande y un laboratorio equipado, por lo que es un método más caro. En cuanto al método

ELISA, presenta una sensibilidad y especificidad más baja comparado con RT-PCR (Widén *et al.*, 2011).

Papafragkou y Kulka (2016) describen el uso de chips de ADN para la detección de virus en alimentos, ya que ofrecen una serie de ventajas, como la detección imparcial y simultánea de muestras que contienen múltiples virus además para la detección, identificación y genotipado de patógenos, aunque este mecanismo ha sido escasamente estudiado en virus entéricos.

Respecto a las nuevas tecnologías, uno de los procedimientos que actualmente está en estudio es la metagenómica, la cual se define como el estudio del material genético y, experimentalmente, el análisis de todos los ácidos nucleicos de una determinada muestra. El protocolo consiste en purificar la muestra y amplificarla para detectar los ácidos nucleicos mediante el uso de tecnología de alta secuenciación. Esta ha demostrado su posible uso en la detección de virus en alimentos en un estudio en el que se aislaron virus de la familia *Reoviridae* y *Picobirnaviridae* de lechuga cultivada en campo, sin embargo, todavía es necesario investigar sobre su posible utilidad en la industria alimentaria (Nieuwenhuijse y Koopmans, 2017; Papafragkou y Kulka, 2016).

4.3.2. MÉTODO ISO/CEN

En 2004, un grupo asesor técnico Europeo (CEN/TC275/WG6/TAG4) inició el proceso de desarrollo de un método estándar para la detección de HAV y NoV en diferentes matrices alimentarias ya que, hasta la fecha, no se había aceptado ninguno para la detección de virus en alimentos, aunque su correcta detección contribuye a disminuir el riesgo de éstos brotes.

En 2013 se publicó una especificación con el objetivo de validar la norma UNE-EN ISO 15216-1:2017, que consiste en la detección de HAV y NoV en siete matrices alimentarias: agua embotellada, superficies de alimentos (pimiento), ostras del Pacífico, mejillón común, frambuesas, lechuga y cebollas verdes, mediante el uso de RT-qPCR (Lowther *et al.*, 2019).

Según esta norma, los virus se concentran y eliminan con diferentes métodos dependiendo de la matriz:

- Frutos rojos, hojas, tallos y verduras bulbos: Paso de elución con agitación e incluye precipitación con polietilenglicol/NaCl;
- Agua embotellada: Adsorción y elución utilizando membranas cargadas positivamente seguidas de concentración por ultrafiltración;
- Moluscos bivalvos: solución de proteína K que desintegra los tejidos e las glándulas digestivas.

El siguiente paso incluye la extracción de ARN, y de acuerdo con la norma, se lleva a cabo mediante lisis viral con tiocyanato de guanidina. Después de purificar el ARN, la detección es llevada a cabo por RT-qPCR (Di Cola *et al.*, 2021).

La norma ISO incluye algunos controles a lo largo del procedimiento, entre los que se incluye el virus de control de procesos para determinar el nivel de recuperación (mengovirus), cuyo uso ha demostrado un buen control externo para la eficiencia de extracción debido a las características estructurales y la ausencia de esta cepa en muestras ambientales (Manso y Romalde, 2013). A pesar de esto y, a raíz de la publicación de la norma, se comparó la eficiencia de mengovirus y MNV-1 como virus de control del proceso, y se estableció que MNV-1 era más apropiado para la detección de NoV GII y HAV en agua embotellada, tomates semisecos y lechuga (Hennechart-Collette *et al.*, 2015).

Finalmente, se exponen las ventajas y desventajas de los principales métodos de detección (tabla 7).

Tabla 7: *Ventajas e inconvenientes de los principales métodos de detección en alimentos. Fuente: Bosch et al., 2018.*

MÉTODO	VENTAJAS	INCONVENIENTES
ISO/CEN	<p>Uso de un método estándar en laboratorios</p> <p>Facilidad en la interpretación</p> <p>Aumento de la fiabilidad gracias a los controles del proceso.</p>	<p>Los controles aumentan los costes</p> <p>No incluye todos los virus y matrices</p> <p>No diferencia entre partículas infecciosas y no infecciosas</p>
PCR y RT-PCR	<p>Sensible y específica</p> <p>Permite cuantificar y cualificar la muestra</p>	<p>No diferencia entre partículas infecciosas y no infecciosas</p>
Método integrado (PCR y cultivo celular)	<p>Diferencia partículas virales infecciosas y no infecciosas</p>	<p>No hay un sistema efectivo para NoV y HEV</p> <p>Aumento de los costes</p>
Metagenómica	<p>Alta sensibilidad y rapidez</p> <p>Amplio rango de detección</p> <p>Información detallada del virus</p> <p>Permite detectar diferentes microorganismos en la muestra con un mismo protocolo</p>	<p>Presencia de secuencias incorrectas o incompletas en las bases de datos</p> <p>No diferencia partículas virales infecciosas y no infecciosas</p>

4.4 MÉTODOS DE CONTROL

Actualmente, existen muchos métodos para controlar las bacterias y los hongos en los alimentos, pero los mecanismos para la inactivación de los virus están escasamente estudiados. Además, mantener las características organolépticas del alimento durante el proceso es un desafío demandado por el consumidor. El principal método de control utilizado en la industria es el tratamiento térmico pero, en los últimos años, están siendo investigados otros procesos no térmicos, como las altas presiones (HPP) y la irradiación (Pexara y Govaris, 2020).

4.4.1 TRATAMIENTO TÉRMICO

Investigar la temperatura de inactivación de los virus supone un gran avance en los métodos de control de estos microorganismos ya que, aunque la inactivación de bacterias es un tema ampliamente estudiado, la inactivación de virus mediante este tratamiento ha sido investigado de forma limitada y no hay una temperatura ni un tiempo específico de inactivación para cada virus (Bosch *et al.*, 2018; Bozkurt *et al.*, 2015).

La eficacia del tratamiento depende de muchos factores, entre los que se incluyen el tiempo de aplicación del tratamiento, la temperatura, el virus y la cepa y la matriz alimentaria, ya que algunos componentes incluidos en los alimentos pueden ejercer efecto protector sobre el virus y reducir su eficacia. Además, a diferencia de las bacterias, la inactivación de estos virus no es constante, por lo que no sigue un modelo de cinética de inactivación térmica lineal y complica el cálculo de valor D en las operaciones de tratamiento térmico, por lo que los resultados se basan comparar diferentes datos sobre la estabilidad térmica de diferentes virus. En la tabla 8 se detallan las diferentes temperaturas estudiadas para diferentes tratamientos térmicos que se emplean en la industria alimentaria (White *et al.*, 2017).

Tabla 8: Efectos del tratamiento térmico en virus en diferentes matrices alimentarias. Fuente: Bosch et al., 2018.

TRATAMIENTO	MATRIZ	VIRUS	REDUCCIÓN LOG10
100 °C 1 min	Agua	Enterovirus, HAV, NoV	>4.0
72 °C 1 min	Agua	MNV, HAV	3,5
71 °C 0,63 min	Leche	HAV	3.0
71 °C 7,09 min	Nata	HAV	3.0
79 °C 0,5 min	Pienso	HAV	>3.0
95 °C 2,5 min	Albahaca	FCV	>4,0
80 °C 1 min	Espinacas	MNV	>2,4
75 °C 0,25 min	Frambuesa	MNV	2,8
80 °C 20 min	Bayas liofilizadas	HAV	<2.0
65,9 °C 20 h	Cebolla	HAV	>3,9
85 °C 1 min	Fresa	HAV	1.0
60 °C 15 min	Heces	Nov	>5.0

Como se muestra en la tabla, el uso de agua hirviendo es un método eficaz para la inactivación de virus, pero, a temperaturas de 70 °C, tanto MNV como HAV mostraron tasas de inactivación más bajas, que coinciden con las temperaturas empleadas durante el proceso de pasteurización. Las temperaturas más eficaces para inactivar HAV fueron 65,9 °C durante tiempos muy prolongados (20 h) en cebolla, y 79 °C durante 0,5 minutos en pienso. En leche y nata, se requirió 0,63 y 7,09 minutos para inactivar 3 log10 de HAV, respectivamente. Por otro lado, NoV y sus sustitutos se inactivaron completamente a temperaturas de 65 °C en heces y 95 °C en albahaca (Bosch et al., 2018).

Las diferentes matrices alimentarias muestran diferentes rangos de inactivación a diferentes temperaturas y tiempos. En la tabla 9 se detalla la eficacia de los diferentes tratamientos térmicos dependiendo de la matriz alimentaria para HAV (White *et al.* 2017).

Tabla 9: Reducción de HAV mediante tratamiento térmico en diferentes matrices alimentarias Fuente: White *et al.*, 2017

TRATAMIENTO	MATRIZ	REDUCCIÓN (LOG10)
70 °C 10 min	Fresas	2,5
70 °C 10 min	Leche	4
80 °C 3 min	Medio	>4,6
90 °C 3 min	Almejas	No se detectó

Se muestran resultados dispares a tratamientos térmicos diferentes, y esto se explica por el tipo y la composición del producto alimenticio. En productos lácteos, la grasa y la caseína ejercen un efecto protector sobre el virus, al igual que la sacarosa y el pH ácido de las fresas, por lo que un tratamiento térmico durante más tiempo no es suficiente para inactivar el virus. En cambio, los productos de la pesca, los cuales representan un riesgo mayor para la transmisión de HAV, el tratamiento térmico a 90 °C durante 3 minutos fue suficiente para inactivar completamente el virus, ya que, en este caso, no hay efecto protector (White *et al.* 2017).

Los resultados obtenidos del resto de virus en diferentes matrices alimentarias no se pueden extrapolar a HEV ya que, en la mayoría de los casos, a excepción de los mariscos, la contaminación del producto es en la superficie, pero, debido a que este virus se replica en los hepatocitos, el hígado muestra contaminación tanto en la superficie como en el interior del producto. Se estudió la resistencia de HEV a 62, 68 y 71 °C, ya que corresponden a las temperaturas de procesamiento industrial. A temperaturas de 71 °C y durante tiempos prolongados (20 minutos), se observó una disminución de casi 3 log10 de carga del genoma viral. No se observaron casi modificaciones en torno a la carga a temperaturas de 62 °C. Para interpretar estos resultados se ha de tener en cuenta que la detección se realizó mediante RT-PCR, y no se puede estimar si la carga viral detectada era infecciosa o no. Para poder conocer esto, se inoculó la carga viral obtenida a cerdos, que no contrajeron infección, por lo que se puede concluir que el tratamiento térmico a 71°C durante 20 minutos es suficiente

para inactivar el virus (Barnaud *et al.*, 2012). Sin embargo, en otro estudio realizado por Johne *et al.* (2016) se expusieron las muestras a 70 °C durante 2 minutos, y se evaluó la presencia del virus mediante cultivo celular e inmunofluorescencia. La reducción fue superior a 3,9 log₁₀, por lo que en comparación al estudio anterior el tiempo de inactivación necesario fue 10 veces menor.

4.4.2 TRATAMIENTO A ALTAS PRESIONES

El uso de altas presiones (HPP) en la industria alimentaria es un procedimiento no térmico cuyo uso está en aumento desde los últimos años. Según los estudios, el mecanismo de acción de este procedimiento consiste en la inactivación de los virus mediante la desnaturalización de la cápside. Actualmente, la industria alimentaria ha utilizado HPP en productos como los bivalvos, vegetales, productos cárnicos, yogur, entre otros, y ha demostrado ser un procedimiento que altera de forma mínima las propiedades organolépticas de estos productos. Esta presión se aplica directamente en los alimentos envasados (Pexara y Govaris, 2020).

La eficacia de las diferentes presiones aplicadas en diferentes matrices se muestra en la tabla 10.

Tabla 10: Efectividad de las altas presiones en los principales virus en la industria alimentaria. Fuente: White et al. (2017).

VIRUS	TRATAMIENTO	PH	MATRIZ	REDUCCIÓN LOG10
Rotavirus	300 MPa, 4 °C, 2 min	7	Medio	4,1
	300 MPa, 4 °C, 2 min	4	Medio	1,9
HAV	400 MPa, T ambiente	NA	Medio	7
	400 MPa, 9 °C 1 min	NA	Fresas	4,3
	400 MPa, 50 °C, 1 min	NA	Medio	4,0
	400 MPa, 50 °C, 1 min 6% NaCL	NA	Medio	0,4
NoV	250 MPa, 4 °C, 2 min	NA	Ostra	0,3
FCV	200 MPa, 20 °C, 4 min	NA	Medio	0,3
	250 MPa, 20 °C, 1 min	6.0	Medio	4,1
	250 MPa, 20 °C, 5 min 12% NaCL	NA	Medio	0,7
	300 MPa, T ambiente, 3 min	NA	Salchichas	2,89

Como se puede observar, la reducción de virus difiere dependiendo del medio y del alimento. Se desconoce el mecanismo por el cual el pH influye en el efecto del tratamiento, pero se ha evidenciado que los carbohidratos, las sales, proteínas y sacarosa producen un efecto bioprotector en los virus frente a HPP. Como se puede observar en la tabla, para HAV, el mismo tratamiento resulta mucho menos efectivo si se aplica un 6% de NaCl (White *et al.*, 2017).

Otro estudio investigó el efecto de HPP en HAV en un medio de cultivo. Este no mostró cambios significativos cuando se aplicó una presión de 300 MPA, pero se inactivó completamente a 460 MPA en 5 minutos, datos similares a los mostrados en la tabla anterior. A este cultivo se le añadió agua del mar, la cual aumentó la salinidad de la muestra en un 2,5% y se observó la reducción de la efectividad del proceso, aumentando los 5 minutos a 15 minutos (Kingsley, 2013).

La temperatura ejerce un papel en el tratamiento de HPP. Johne *et al.* (2021) estudiaron el efecto del tratamiento en HEV de 100 a 600 MPA a temperatura de 20 y 4 °C. Los resultados se pueden observar en la figura 2 y figura 3.

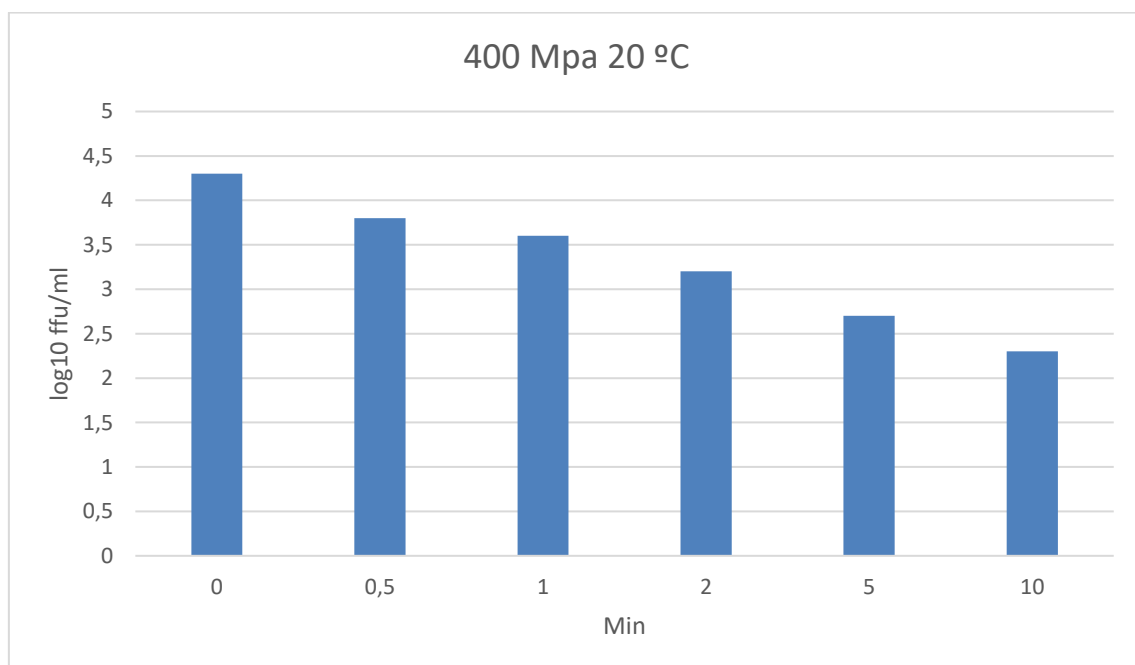


Figura 2: Resultados del tratamiento a 400 MPA a 20 °C durante diferentes rangos de tiempo. Fuente: Johne *et al.*, 2021. Ffu: Unidades formadoras de focos.

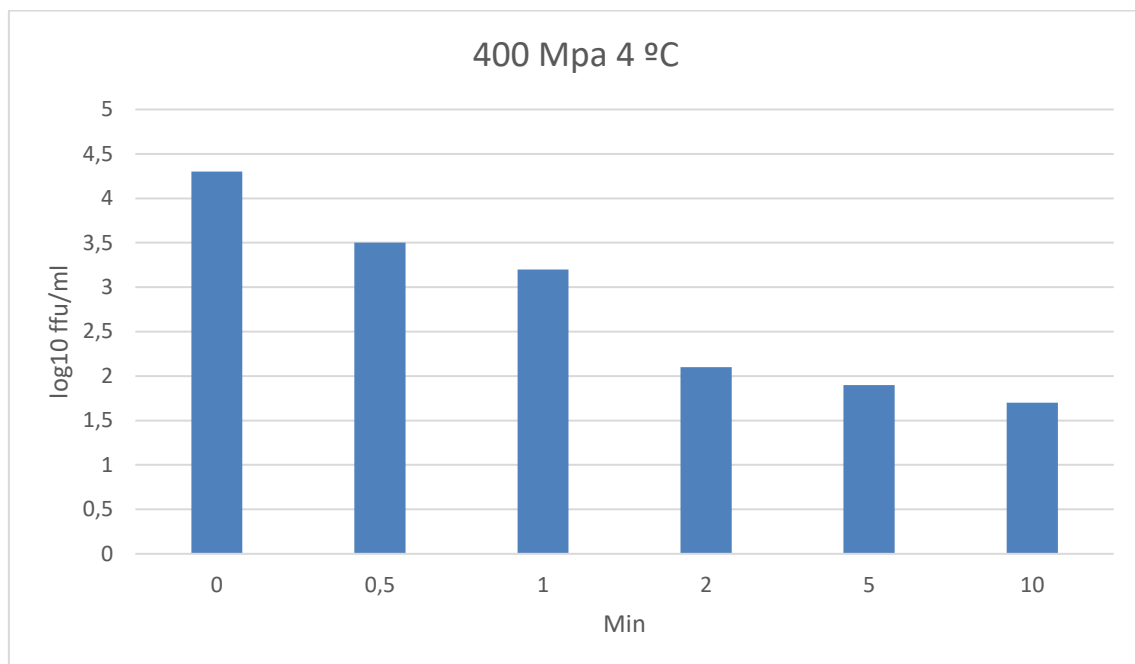


Figura 3: Resultados del tratamiento a 400 MPa a 4 °C durante diferentes rangos de tiempo. Fuente: Johne *et al.*, 2021. Ffu: Unidades formadoras de focos.

Se puede observar una pequeña elevación en el éxito de la inactivación a 4 °C a comparación de 20 °C, por lo tanto, el proceso de uso de altas presiones es más eficaz a bajas temperaturas. Huang *et al.* (2014) estudiaron el efecto de las altas presiones en MNV-1 y concluyeron que era mucho más eficaz a temperaturas de a 0 a 4 °C, en comparación con 20 °C, resultados que concuerdan con el anterior estudio.

4.4.3 DESINFECTANTES

Para el control de los virus en los productos frescos uno de los métodos más sencillos y utilizados en la industria alimentaria y en los hogares es el uso de desinfectantes mediante la inmersión y la pulverización en estos productos, ya que el lavado de estos productos con agua del grifo ha demostrado que como máximo puede reducir 1 log₁₀ la carga viral (EFSA, 2011).

El mecanismo de acción de los desinfectantes es la rotura y desnaturalización de la cápside del virus, seguido del ácido nucleico, debido a la fuerte capacidad oxidativa de estos productos. Actualmente, el desinfectante más empleado es el cloro (tabla 11), el cual puede usarse en forma de hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio (White *et al.*, 2017).

Tabla 11: *Tratamientos con cloro y sus efectos en los virus. Fuente: elaboración propia*

TRATAMIENTO	MATRIZ	VIRUS	REDUCCIÓN LOG10	REFERENCIA
20 ppm cloro libre 5 min	Fresas	HAV	1,2	Casteel <i>et al.</i> , 2008
	Tomate		2,4	
	Lechuga		1,7	
200 ppm cloro libre 2 min	Fresas	MNV-1	1,0	Predmore y Li, 2011
15 ppm cloro activo 2 min	Lechuga	MNV-1	1,4	Fraisse <i>et al.</i> , 2011
		HAV	1,9	
		FCV	2,9	

El resultado y la eficacia del compuesto sobre el virus no solo depende de la concentración del producto y del tipo de virus presente, también depende de la matriz alimentaria, como se puede observar en la tabla, ya que para una misma concentración de cloro libre y en las mismas condiciones, en tomate se desactivan 1,2 log10 más de HAV que en fresas.

Como los desinfectantes pueden presentar limitaciones para penetrar en el alimento según el tipo de matriz alimentaria, combinar desinfectantes como otros tratamientos puede tener efecto beneficioso y aumentar la reducción de los virus. Predmore y Li (2011) describen el uso de surfactantes entre los que se encuentran el dodecilsulfato de sodio y polisorbatos, combinados con cloro en frutas y verduras. El empleo de agua del grifo junto con 200 ppm de cloro resultó en una reducción inferior a 1,2 log10 en todos los productos, mientras que añadir 50 ppm de surfactante en los mismos productos y en las mismas condiciones provocó una reducción de 3 log10 en fresas y 2 log10 en lechuga, aumentando hasta 100 veces la eliminación de estos virus.

En cuanto a las opciones al uso de cloro, una de ellas es el empleo de Ozono (O₃), un compuesto con mayor poder antioxidante que el cloro. Brié *et al.*, (2018) estudiaron la

inactivación de MNV-1 y HAV en frambuesas mediante este método, en el que se consiguió reducir más de 3,3 log₁₀ con la exposición a 3 ppm en 1 minuto, sin alterar la superficie ni la calidad de las frambuesas. Predmore *et al.* (2015) estudiaron el efecto de O₃ gaseoso al 6% en MNV-1 en frambuesas y en lechuga y consiguió reducir la carga viral en 4,1 log₁₀ durante la exposición 10 minutos y la inactivación completa en 40 minutos, sin embargo y, a diferencia del anterior estudio, la dureza, textura, el tamaño y la humedad de los alimentos se vieron afectados, especialmente cuando se exponían 40 minutos al O₃.

Otra de las opciones es el ácido peracético (PAA). Fraisse *et al.* (2018) compararon la efectividad de este ácido con cloro activo en lechuga fresca en dos sustitutos de NoV, MNV-1 y Calcivirus Felino (FCV), y HAV. El uso de cloro activo a 15 ppm redujo FCV (2,9 Log₁₀), HAV y MNV-1 (1,9 y 1,4). Sin embargo, el uso de ácido peroxiacético (100 ppm) inactivó 3,2 de FCV, MNV-1 (2,4) pero no fue efectivo para HAV (0,7). No obstante, Anfruns-Estrada *et al.* (2019) estudiaron la efectividad del hipoclorito de sodio (100 ppm) y PAA (80 ppm), los cuales mostraron eficacias similares para la reducción de NoV en ensaladas mixtas, por lo que no se demostró que PAA fuera más eficaz que el cloro para el tratamiento de productos frescos.

A pesar de la eficacia demostrada de estos tratamientos que, como muestran los estudios anteriores, pueden disminuir hasta 4 log₁₀, no puede descartarse la probabilidad de infección ya que esto depende del nivel de contaminación inicial del producto ya que, como se ha comentado anteriormente, la exposición a los virus requiere muy poca carga viral para la producción de enfermedades (EFSA, 2011).

4.4.4 OTROS TRATAMIENTOS

Aunque los tres mecanismos anteriores son los más empleados en el control de los virus en los alimentos, se han probado otro tipo de mecanismos catalogados como métodos de detección no térmicos.

Uno de ellos es la irradiación, en la que se provoca la destrucción del material genético del virus mediante la formación de radicales libres mediante la exposición de los alimentos, una vez envasados, a rayos X, gamma, entre otros (Pexara y Govaris, 2020).

Molina-Chavarria *et al.* (2020) probaron la inactivación en fresas de NoV mediante este método, y se necesitaron altas dosis de radiación gamma (20 kGy) para una disminución

significativa (1,26 log₁₀), por lo que no fue suficiente para inactivar NoV. Feng *et al.*, 2011 estudiaron MNV-1, también mediante radiación Gamma en productos frescos a dosis más bajas (5,6) en lo que se observó una reducción más elevada, de 1,7 a 2,4 log₁₀, pero no la suficiente para considerarse un tratamiento eficaz.

Estos tratamientos resultan altamente efectivos para inactivar bacterias y hongos, sin embargo, en España, el Real Decreto 348/2001, del 4 de abril, por el que se regula la elaboración, comercialización e importación de productos alimenticios e ingredientes alimentarios tratados con radiaciones ionizantes, solo permite el tratamiento de hierbas aromáticas, especias y condimentos vegetales, aunque si permite la importación de productos tratados con irradiación de otros países comunitarios.

Otro de los tratamientos es la luz ultravioleta, una alternativa al tratamiento térmico ya que el resultado son productos menos procesados y cuyas características se ven mínimamente afectadas por el tratamiento, además de su bajo coste. Se investigó el efecto de la luz ultravioleta a dosis bajas en superficies contaminadas de acero inoxidable, reduciendo hasta 4,4 y 2,6 log₁₀ de MNV-1 y HAV, respectivamente, demostrando que HAV es más resistente que MNV-1, pero que el tratamiento puede ser eficaz (Butot *et al.*, 2018). Otro estudio similar inactivó completamente MNV-1 y HAV (5 log₁₀) en acero inoxidable (White *et al.*, 2017). Sin embargo, Park *et al.* (2015) estudiaron el efecto de la luz sobre fresas y frambuesas de HAV y MNV-1, y la reducción en ambos fue menor a 2 log₁₀. La eficacia mayor en superficies que en productos frescos se explica por las limitaciones de este procedimiento, ya que tiene poca capacidad de penetración y no inactiva aquellos microorganismos que están internalizados dentro del producto.

Dado que estos tres mecanismos ya han sido empleados para la inactivación de otros microorganismos para las bacterias, se conocen las ventajas y desventajas que ofrecen en base a la calidad del producto final, la eficiencia y la respuesta del consumidor (tabla 12).

Tabla 12: *Ventajas y desventajas de las HPP, la luz ultravioleta y la irradiación. Fuente: Pexara y Govaris (2020).*

TRATAMIENTO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
HPP	<p>Efecto sobre la calidad organoléptica del alimento mínima</p> <p>Uniformidad, efectivo en superficie y en el interior del alimento</p> <p>Aceptado por el consumidor</p> <p>Se realiza después del envasado</p> <p>Tratamiento respetuoso con el medio ambiente</p>	<p>El alimento debe tener un porcentaje de humedad elevado</p> <p>Coste elevado</p>
Luz ultravioleta	<p>Efecto sobre la calidad organoléptica del alimento reducida</p> <p>Se realiza después del envasado</p> <p>Coste moderado</p>	<p>Solo efectivo en la superficie del alimento</p>
Irradiación	<p>Uniformidad</p> <p>Se realiza después del envasado</p>	<p>Genera rechazo en el consumidor</p> <p>Coste elevado</p> <p>Afecta a la calidad del alimento</p> <p>No permitido en todos los alimentos</p>

5. CONCLUSIONES

- Hay muy pocos estudios respecto a la resistencia ambiental de estos virus, aunque es importante para poder establecer unas correctas metodologías de control. Los resultados demuestran la alta persistencia ambiental de estos, ya que resisten bajas (NoV y HEV) y altas temperaturas (HAV) y, además, se mantienen infecciosos de forma permanente a temperaturas de congelación, lo que lo convierte en un procedimiento de control poco eficaz.
- Los principales alimentos implicados en los brotes son los mariscos y los productos cárnicos, y la frecuencia de aparición varía respecto a las diferentes zonas de producción estudiadas, relacionándose unas prevalencias más altas con la zona y situación sanitaria de la población en un momento concreto.
- La mayoría de estos virus producen sintomatología gastrointestinal, aunque se han reportado casos más extremos que cursan con signos neurológicos y desórdenes hematológicos, incluso en pacientes inmunocompetentes.
- Los principales métodos de detección empleados son la PCR y RT-PCR, aunque estas técnicas no permiten diferenciar a los virus infecciosos de los que no lo son. Esta situación puede dar lugar a falsos positivos, por lo que se necesita un método fiable, preciso y eficaz para la detección de todos los virus, incluidos aquellos que no crecen en cultivos celulares.
- La mayoría de los procesos de control empleados permiten una reducción elevada de la cantidad de virus presentes en el alimento, pero no en su totalidad por lo que, sumado a la baja carga viral necesaria para producir enfermedades, hace necesario el estudio de un método eficaz y que no produzca cambios organolépticos en el producto final.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anfruns-Estrada, E., Bottaro, M., Pintó, R. M., Guix, S., y Bosch, A. (2019). Effectiveness of consumers washing with sanitizers to reduce human norovirus on mixed salad. *Foods*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/foods8120637>
2. Aslan, A. T., y Balaban, H. Y. (2020). Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. *World Journal of Gastroenterology*, 26(37), 5543–5560. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i37.5543>
3. Bachofen, C. (2018). Selected Viruses Detected on and in our Food. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5(2), 143–153. <https://doi.org/10.1007/s40588-018-0087-9>
4. Barnaud, E., Rogée, S., Garry, P., Rose, N., y Pavio, N. (2012). Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5153–5159. <https://doi.org/10.1128/AEM.00436-12>
5. Bertrand, I., Schijven, J. F., Sánchez, G., Wyn-Jones, P., Ottoson, J., Morin, T., Muscillo, M., Verani, M., Nasser, A., de Roda Husman, A. M., Myrmel, M., Sellwood, J., Cook, N., y Gantzer, C. (2012). The impact of temperature on the inactivation of enteric viruses in food and water: A review. *Journal of Applied Microbiology*, 112(6), 1059–1074. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05267.x>
6. Bhar, S., y Jones, M. K. (2019). In vitro replication of human norovirus. *Viruses*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/v11060547>
7. Bhattacharya, S. S., Kulka, M., Lampel, K. A., Cebula, T. A., y Goswami, B. B. (2004). Use of reverse transcription and PCR to discriminate between infectious and non-infectious hepatitis A virus. *Journal of Virological Methods*, 116(2), 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2003.11.008>

8. Bigoraj, E., Kwit, E., Chrobocińska, M., y Rzeżutka, A. (2014). Occurrence of Norovirus and Hepatitis A Virus in Wild Mussels Collected from the Baltic Sea. *Food and Environmental Virology*, 6(3), 207–212. <https://doi.org/10.1007/s12560-014-9153-5>
9. Bosch, A., Gkogka, E., Le Guyader, F. S., Loisy-Hamon, F., Lee, A., van Lieshout, L., Marthi, B., Myrmel, M., Sansom, A., Schultz, A. C., Winkler, A., Zuber, S., y Phister, T. (2018). Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 285(April 2017), 110–128. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.001>
10. Bosch, A., Sánchez, G., Abbaszadegan, M., Carducci, A., Guix, S., Le Guyader, F. S., Netshikweta, R., Pintó, R. M., van der Poel, W. H. M., Rutjes, S., Sano, D., Taylor, M. B., van Zyl, W. B., Rodríguez-Lázaro, D., Kovač, K., y Sellwood, J. (2011). *Analytical Methods for Virus Detection in Water and Food*. *Food Analytical Methods*, 4(1), 4–12. <https://doi.org/10.1007/s12161-010-9161-5>
11. Bozkurt, H., D'Souza, D. H., y Davidson, P. M. (2015). Thermal inactivation of foodborne enteric viruses and their viral surrogates in foods. *Journal of Food Protection*, 78(8), 1597–1617. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-487>
12. Brié, A., Boudaud, N., Mssihid, A., Loutreul, J., Bertrand, I., y Gantzer, C. (2018). Inactivation of murine norovirus and hepatitis A virus on fresh raspberries by gaseous ozone treatment. *Food Microbiology*, 70, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.08.010>
13. Butot, S., Putallaz, T., y Sánchez, G. (2008). Effects of sanitation, freezing and frozen storage on enteric viruses in berries and herbs. *International Journal of Food Microbiology*, 126(1–2), 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.033>
14. Butot, S., Cantergiani, F., Moser, M., Jean, J., Lima, A., Michot, L., Putallaz, T., Stroheker, T., y Zuber, S. (2018). UV-C inactivation of foodborne bacterial and viral pathogens and surrogates on fresh and frozen berries. *International Journal of Food Microbiology*, 275(February), 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.016>

15. Fernández, C. (2013). Detección De Norovirus Y Virus De La Hepatitis a En Moluscos Y Muestras Clínicas. Genotipado Y Estudio Poblacional. [Tesis de doctorado]. Universidad de Santiago de Compostela.
16. Casteel, M. J., Schmidt, C. E., y Sobsey, M. D. (2008). Chlorine disinfection of produce to inactivate hepatitis A virus and coliphage MS2. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.015>
17. Cook, N., Bertrand, I., Gantzer, C., Pinto, R. M., y Bosch, A. (2018). Persistence of Hepatitis A Virus in Fresh Produce and Production Environments, and the Effect of Disinfection Procedures: A Review. *Food and Environmental Virology*, 10(3), 253–262. <https://doi.org/10.1007/s12560-018-9349-1>
18. Cook, N., D'Agostino, M., y Johne, R. (2017). Potential Approaches to Assess the Infectivity of Hepatitis E Virus in Pork Products: A Review. *Food and Environmental Virology*, 9(3), 243–255. <https://doi.org/10.1007/s12560-017-9303-7>
19. Cook, N., y Van der Poel, W. H. M. (2015). Survival and Elimination of Hepatitis E Virus: A Review. *Food and Environmental Virology*, 7(3), 189–194. <https://doi.org/10.1007/s12560-015-9196-2>
20. Crotta, M., Lavazza, A., Mateus, A., y Guitian, J. (2018). Quantitative risk assessment of hepatitis E virus: Modelling the occurrence of viraemic pigs and the presence of the virus in organs of food safety interest. *Microbial Risk Analysis*, 9(February), 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2018.02.001>
21. Dam, G., Vilstrup, H., Watson, H., y Jepsen, P. (2017). No evidence for zoonotic hepatitis E virus infection through dairy milk in Germany. *Hepatology*, 65(1), 393–394. <https://doi.org/10.1002/hep.28857>
22. Di Cola, G., Fantilli, A. C., Pisano, M. B., y Ré, V. E. (2021). Foodborne transmission of hepatitis A and hepatitis E viruses: A literature review. *International Journal of Food Microbiology*, 338(November). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108986>

23. Dziedzinska, R., Krzyzankova, M., Bena, M., y Vasickova, P. (2020). Evidence of hepatitis E virus in goat and sheep milk. *Viruses*, 12(12), 18–23. <https://doi.org/10.3390/v12121429>
24. EFSA. (2011). Scientific Opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses. *EFSA Journal*, 9(7), 1–96. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2190>
25. EFSA (2016). Summary Report of Joint Scientific Workshop on Foodborne Viruses. *EFSA Journal*, 13(10). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2016.en-1103>
26. EFSA. (2021). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>
27. Emerson, S. U., Arankalle, V. A., y Purcell, R. H. (2005). Thermal stability of hepatitis E virus. *Journal of Infectious Diseases*, 192(5), 930–933. <https://doi.org/10.1086/432488>
28. Esona, M. D., y Gautam, R. (2015). Rotavirus. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(2), 363–391. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.012>
29. Feng, K., Divers, E., Ma, Y., y Li, J. (2011). Inactivation of a human norovirus surrogate, human norovirus virus-like particles, and vesicular stomatitis virus by Gamma irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(10), 3507–3517. <https://doi.org/10.1128/AEM.00081-11>
30. Fousekis, F. S., Mitselos, I. V., y Christodoulou, D. K. (2020). Extrahepatic manifestations of hepatitis E virus: An overview. *Clinical and Molecular Hepatology*, 26(1), 16–23. <https://doi.org/10.3350/cmh.2019.0082>
31. Fraisse, A., Niveau, F., Hennechart-Collette, C., Coudray-Meunier, C., Martin-Latil, S., y Perelle, S. (2018). Discrimination of infectious and heat-treated norovirus by combining platinum compounds and real-time RT-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 269(August 2017), 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.015>

32. Fraisse, A., Temmam, S., Deboosere, N., Guillier, L., Delobel, A., Maris, P., Vialette, M., Morin, T., y Perelle, S. (2011). Comparison of chlorine and peroxyacetic-based disinfectant to inactivate Feline calicivirus, Murine norovirus and Hepatitis A virus on lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 151(1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.011>
33. Fusco, G., Anastasio, A., Kingsley, D. H., Amoroso, M. G., Pepe, T., Fratamico, P. M., Cioffi, B., Rossi, R., Rosa, G. La, y Boccia, F. (2019). Detection of hepatitis a virus and other enteric viruses in shellfish collected in the gulf of naples, italy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(14). <https://doi.org/10.3390/ijerph16142588>
34. Fusco, G., Di Bartolo, I., Cioffi, B., Ianiro, G., Palermo, P., Monini, M., y Amoroso, M. G. (2017). Prevalence of Foodborne Viruses in Mussels in Southern Italy. *Food and Environmental Virology*, 9(2), 187–194. <https://doi.org/10.1007/s12560-016-9277-x>
35. García, N., Hernández, M., Gutierrez-Boada, M., Valero, A., Navarro, A., Muñoz-Chimeno, M., Fernández-Manzano, A., Escobar, F. M., Martínez, I., Bárcena, C., González, S., Avellón, A., Eiros, J. M., Fongaro, G., Domínguez, L., Goyache, J., y Rodríguez-Lázaro, D. (2020). Occurrence of Hepatitis E Virus in Pigs and Pork Cuts and Organs at the Time of Slaughter, Spain, 2017. *Frontiers in Microbiology*, 10(January), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02990>
36. Hara, Z. O., Crossan, C., Craft, J., y Scobie, L. (2018). First Report of the Presence of Hepatitis E Virus in Scottish - Harvested Shellfish Purchased at Retail Level. *Food and Environmental Virology*, 10(2), 217–221. <https://doi.org/10.1007/s12560-018-9337-5>
37. Hennechart-Collette, C., Martin-Latil, S., Guillier, L., y Perelle, S. (2015). Determination of which virus to use as a process control when testing for the presence of hepatitis A virus and norovirus in food and water. *International Journal of Food Microbiology*, 202, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.029>

38. Huang, R., Li, X., Huang, Y., y Chen, H. (2014). Strategies to enhance high pressure inactivation of murine norovirus in strawberry puree and on strawberries. *International Journal of Food Microbiology*, 185, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.05.007>
39. Hyeon, J. Y., Chon, J. W., Park, C., Lee, J. B., Choi, I. S., Kim, M. S., y Seo, K. H. (2011). Rapid detection method for hepatitis a virus from lettuce by a combination of filtration and integrated cell culture-real-time reverse transcription PCR. *Journal of Food Protection*, 74(10), 1756–1761. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-155>
40. Johne, R., Wolff, A., Gadicherla, A. K., Filter, M., y Schlüter, O. (2021). Stability of hepatitis E virus at high hydrostatic pressure processing. *International Journal of Food Microbiology*, 339(September 2020), 109013. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.109013>
41. Johne, Reimar, Trojnar, E., Filter, M., y Hofmann, J. (2016). Thermal stability of Hepatitis E Virus as estimated by a cell culture method. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(14), 4225–4231. <https://doi.org/10.1128/AEM.00951-16>
42. Jones, T. H., y Muehlhauser, V. (2014). Effect of handling and storage conditions and stabilizing agent on the recovery of viral RNA from oral fluid of pigs. *Journal of Virological Methods*, 198, 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.12.011>
43. Kamar, N., Dalton, H. R., Abravanel, F., y Izopet, J. (2014). Hepatitis E virus infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(1), 116–138. <https://doi.org/10.1128/CMR.00057-13>
44. Kauppinen, A., y Miettinen, I. T. (2017). Persistence of norovirus GII genome in drinking water and wastewater at different temperatures. *Pathogens*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/pathogens6040048>
45. Kingsley, D. H. (2013). High Pressure Processing and its Application to the Challenge of Virus-Contaminated Foods. *Food and Environmental Virology*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s12560-012-9094-9>

46. Koopmans, M., y Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: An emerging problem. *International Journal of Food Microbiology*, 90(1), 23–41. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00169-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00169-7)
47. La Bella, G., Martella, V., Basanisi, M. G., Nobili, G., Terio, V., y La Salandra, G. (2017). Food-Borne Viruses in Shellfish: Investigation on Norovirus and HAV Presence in Apulia (SE Italy). *Food and Environmental Virology*, 9(2), 179–186. <https://doi.org/10.1007/s12560-016-9273-1>
48. La Rosa, G., Proroga, Y. T. R., De Medici, D., Capuano, F., Iaconelli, M., Della Libera, S., y Suffredini, E. (2018). First Detection of Hepatitis E Virus in Shellfish and in Seawater from Production Areas in Southern Italy. *Food and Environmental Virology*, 10(1), 127–131. <https://doi.org/10.1007/s12560-017-9319-z>
49. Leblanc, D., Gagné, M. J., Poitras, É., y Brassard, J. (2019). Persistence of murine norovirus, bovine rotavirus, and hepatitis A virus on stainless steel surfaces, in spring water, and on blueberries. *Food Microbiology*, 84(June), 103257. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103257>
50. Lowther, J. A., Bosch, A., Butot, S., Ollivier, J., Mäde, D., Rutjes, S. A., Hardouin, G., Lombard, B., in't Veld, P., y Leclercq, A. (2019). Validation of EN ISO method 15216 - Part 1 – Quantification of hepatitis A virus and norovirus in food matrices. *International Journal of Food Microbiology*, 288(April), 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.014>
51. Manso, C. F., y Romalde, J. L. (2013). Detection and Characterization of Hepatitis A Virus and Norovirus in Mussels from Galicia (NW Spain). *Food and Environmental Virology*, 5(2), 110–118. <https://doi.org/10.1007/s12560-013-9108-2>
52. Mesquita, J. R., Oliveira, D., Rivadulla, E., Abreu-Silva, J., Varela, M. F., Romalde, J. L., y Nascimento, M. S. J. (2016). Hepatitis E virus genotype 3 in mussels (*Mytilus galloprovincialis*), Spain. *Food Microbiology*, 58, 13–15. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.03.009>

53. Molina-Chavarria, A., Félix-Valenzuela, L., Silva-Campa, E., y Mata-Haro, V. (2020). Evaluation of gamma irradiation for human norovirus inactivation and its effect on strawberry cells. *International Journal of Food Microbiology*, 330(October 2019), 108695. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108695>
54. Naseri, N., Vester, A., y Petronella, N. (2019). Foodborne viral outbreaks associated with frozen produce. *Epidemiology and Infection*, 147, e291. <https://doi.org/10.1017/S0950268819001791>
55. Nieuwenhuijse, D. F., y Koopmans, M. P. G. (2017). Metagenomic sequencing for surveillance of food- and waterborne viral diseases. *Frontiers in Microbiology*, 8(FEB), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00230>
56. Papafragkou, E., y Kulka, M. (2016). Review: Approaches to the viral extraction, detection, and identification of hepatitis viruses, HAV and HEV, in foods. *Journal of AOAC International*, 99(1), 130–142. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.15-0164>
57. Park, S. Y., Kim, A. N., Lee, K. H., y Ha, S. Do. (2015). Ultraviolet-C efficacy against a norovirus surrogate and hepatitis A virus on a stainless steel surface. *International Journal of Food Microbiology*, 211, 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.006>
58. White, P. A., Netzler, N. E., y Hansman, G. S. (2017). *Foodborne Viral Pathogens*. Amsterdam University Press.
59. Pexara, A., y Govaris, A. (2020). Foodborne Viruses and Innovative Non-Thermal Food-Processing Technologies. *Foods*. 1–17. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33113926/>
60. Polo, D., Varela, M. F., y Romalde, J. L. (2015). Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *International Journal of Food Microbiology*, 193, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.007>

61. Predmore, A., y Li, J. (2011). Enhanced removal of a human norovirus surrogate from fresh vegetables and fruits by a combination of surfactants and sanitizers. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(14), 4829–4838. <https://doi.org/10.1128/AEM.00174-11>
62. Predmore, A., Sanglay, G., Li, J., y Lee, K. (2015). Control of human norovirus surrogates in fresh foods by gaseous ozone and a proposed mechanism of inactivation. *Food Microbiology*, 50, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.004>
63. Randazzo, W., Falcó, I., Pérez-Cataluña, A., y Sánchez, G. (2020). Virus entéricos humanos en alimentos: detección y métodos de inactivación. *Arbor*, 196(795), 539. <https://doi.org/10.3989/arbor.2020.795n1003>
64. Randazzo, W., Piqueras, J., Evtoski, Z., Sastre, G., Sancho, R., Gonzalez, C., y Sánchez, G. (2019). Interlaboratory Comparative Study to Detect Potentially Infectious Human Enteric Viruses in Influent and Effluent Waters. *Food and Environmental Virology*, 11(4), 350–363. <https://doi.org/10.1007/s12560-019-09392-2>
65. Ripellino, P., Pasi, E., Melli, G., Staedler, C., Fraga, M., Moradpour, D., Sahli, R., Aubert, V., Martinetti, G., Bihl, F., Bernasconi, E., Terziroli Beretta-Piccoli, B., Cerny, A., Dalton, H. R., Zehnder, C., Mathis, B., Zecca, C., Disanto, G., Kaelin-Lang, A., y Gobbi, C. (2020). *Neurologic complications of acute hepatitis E virus infection. Neurology(R) Neuroimmunology & Neuroinflammation*, 7(1). <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000643>
66. Rivadulla, E., Varela, M. F., Mesquita, J. R., Nascimento, M. S. J., y Romalde, J. L. (2019). Detection of Hepatitis E Virus in Shellfish Harvesting Areas from Galicia (Northwestern Spain). *Viruses*, 11, 2–11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6669863/>
67. Robilotti, E., Deresinski, S., y Pinsky, B. A. (2015). Norovirus. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(1), 134–164. <https://doi.org/10.1128/CMR.00075-14>

68. Shamkhali Chenar, S., y Deng, Z. (2017). Environmental indicators for human norovirus outbreaks. *International Journal of Environmental Health Research*, 27(1), 40–51. <https://doi.org/10.1080/09603123.2016.1257705>
69. Shin, E. C., y Jeong, S. H. (2018). Natural history, clinical manifestations, and pathogenesis of hepatitis A. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(9), 1–13. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031708>
70. Suffredini, E., Proroga, Y. T. R., Di Pasquale, S., Di Maro, O., Losardo, M., Cozzi, L., Capuano, F., y De Medici, D. (2017). Occurrence and Trend of Hepatitis A Virus in Bivalve Molluscs Production Areas Following a Contamination Event. *Food and Environmental Virology*, 9(4), 423–433. <https://doi.org/10.1007/s12560-017-9302-8>
71. Tardif-douglin, D., Ryan-silva, R., y Magnani, R. (2012). Virus Genotype 3 in Shell fish , United Kingdom. *Emerging infectious diseases*, 18(12), 2085–2087.
72. Van Den Berg, B., Van Der Eijk, A. A., Pas, S. D., Hunter, J. G., Madden, R. G., Tio-Gillen, A. P., Dalton, H. R., y Jacobs, B. C. (2014). Guillain-Barré syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection. *Neurology*, 82(6), 491–497. <https://doi.org/10.1212/WNL.000000000000111>
73. Varela, M. F., Hooper, A. S., Rivadulla, E., y Romalde, J. L. (2016). Human Sapovirus in Mussels from Ría do Burgo, A Coruña (Spain). *Food and Environmental Virology*, 8(3), 187–193. <https://doi.org/10.1007/s12560-016-9242-8>
74. Varela, M. F., Polo, D., y Romalde, J. L. (2016). Prevalence and genetic diversity of human sapoviruses in shellfish from commercial production areas in Galicia, Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(4), 1167–1172. <https://doi.org/10.1128/AEM.02578-15>
75. Vercouter, A. S., Sayed, I. M., Lipkens, Z., De Bleecker, K., De Vlieghe, S., Colman, R., Koppelman, M., Supré, K., y Meuleman, P. (2018). Absence of zoonotic hepatitis E virus infection in Flemish dairy cows. *International Journal of Food Microbiology*, 281(2017), 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.009>

76. Widén, F., Vågsholm, I., Belák, S., y Muradrasoli, S. (2011). Achievement V - Methods for breaking the transmission of pathogens along the food chain. Detection of viruses in food. *Trends in Food Science and Technology*, 22(SUPPL. 1), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.05.008>

77. Wolff, A., Günther, T., Albert, T., Schilling-Loeffler, K., Gadicherla, A. K., y Johne, R. (2020). Stability of hepatitis E virus at different pH values. *International Journal of Food Microbiology*, 325(March). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108625>

ANEXO I

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Di Cola <i>et al.</i>	Foodborne transmission of hepatitis A and hepatitis E viruses: A literature review	International Journal of Food Microbiology	1,31	2021
EFSA	The European Union One Health 2019 Zoonoses Report	Efsa Journal	1,08	2021
Johne <i>et al.</i>	Stability of hepatitis E virus at high hydrostatic pressure processing	International Journal of Food Microbiology	1,31	2021
Dziedzinska <i>et al.</i>	Evidence of hepatitis e virus in goat and sheep milk	Viruses	1,83	2020
Pexara y Govaris	Foodborne Viruses and Innovative Non-Thermal Food-Processing Technologies	Foods	0,77	2020
Molina-Chavarria <i>et al.</i>	Evaluation of gamma irradiation for human norovirus inactivation and its effect on strawberry cells.	International Journal of Food Microbiology	1,31	2020

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Wolff <i>et al.</i>	Stability of hepatitis E virus at different pH values	International Journal of Food Microbiology	1,31	2020
Randazzo <i>et al.</i>	Virus entéricos humanos en alimentos: detección y métodos de inactivación	Arbor	0,15	2020
García <i>et al.</i>	Occurrence of Hepatitis E Virus in Pigs and Pork Cuts and Organs at the Time of Slaughter, Spain	Frontiers in Microbiology	1,7	2020
Ripellino <i>et al.</i>	Neurologic complications of acute hepatitis E virus infection	Neurology: Neuroimmunology and Neuroinflammation	1,45	2020
Fousekis <i>et al.</i>	Extrahepatic manifestations of hepatitis E virus: An overview	Clinical molecular hepatology	1,42	2020
Aslan y Balaban	Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment	World Journal of Gastroenterology,	1,43	2020
Rivadulla <i>et al.</i>	Detection of Hepatitis E Virus in Shellfish Harvesting Areas from Galicia (Northwestern Spain)	Viruses	1,83	2019

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Fusco <i>et al.</i>	Detection of hepatitis a virus and other enteric viruses in shellfish collected in the gulf of naples, italy.	International Journal of Environmental Research and Public Health	0,75	2019
Leblanc <i>et al.</i>	Persistence of murine norovirus, bovine rotavirus, and hepatitis A virus on stainless steel surfaces, in spring water, and on blueberries	Food microbiology	1,36	2019
Lowther <i>et al.</i>	Quantification of hepatitis A virus and norovirus in food matrices	International journal of food microbiology	1,31	2019
Nasheri <i>et al.</i>	Foodborne viral outbreaks associated with frozen produce	Epidemiology and infection	0,99	2019
Randazzo <i>et al.</i>	Interlaboratory Comparative Study to Detect Potentially Infectious Human Enteric Viruses in Influent and Effluent Waters	Food and environmental virology	1,63	2019
Anfruns-Estrada <i>et al.</i>	Effectiveness of consumers washing with sanitizers to reduce human norovirus on mixed salad	Foods	0,77	2019

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Bhar y Jones	In vitro replication of human norovirus	Viruses	1,83	2019
Butot et al.	UV-C inactivation of foodborne bacterial and viral pathogens and surrogates on fresh and frozen berries	International Journal of Food Microbiology	1,31	2018
Hara <i>et al.</i>	First Report of the Presence of Hepatitis E Virus in Scottish - Harvested Shellfish Purchased at Retail Level	Food and Environmental Virology	1,63	2018
Brié <i>et al.</i>	Inactivation of murine norovirus and hepatitis A virus on fresh raspberries by gaseous ozone treatment.	Food Microbiology	1,36	2018
Cook <i>et al.</i>	Persistence of Hepatitis A Virus in fresh Produce and production environments, and the Effect of disinfection procedures: A review	Food and environmental virology	1,63	2018

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
<i>Crotta et al.</i>	Quantitative risk assessment of hepatitis E virus: Modelling the occurrence of viraemic pigs and the presence of the virus in organs of food safety interest	Microbial Risk analysis	0,58	2018
<i>Fraisse et al.</i>	Discrimination of infectious and heat-treated norovirus by combining platinum compounds and real-time RT-PCR	International journal of food microbiology	1,31	2018
<i>Pogan et al.</i>	Norovirus assembly and stability. Current Opinion in Virology	Current opinion in virology	2,59	2018
Shin y Jeong	Natural history, clinical manifestations, and pathogenesis of hepatitis A	Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine	3,85	2018
<i>Bosch et al.</i>	Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing	International journal of food microbiology	1,31	2018

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
La Rosa <i>et al.</i>	First Detection of Hepatitis E Virus in Shellfish and in Seawater from Production Areas in Southern Italy	Food and Environmental Virology	1,63	2018
Bachofen	Selected Viruses Detected on and in our Food	Current Clinical Microbiology Reports	0,66	2018
Cook <i>et al.</i>	Potential Approaches to Assess the Infectivity of Hepatitis E Virus in Pork Products: A Review.	Food and environmental virology	1,63	2017
Nieuwenhuijse y Koopmans	Metagenomic sequencing for surveillance of food- and waterborne viral diseases	Frontiers in microbiology	1,7	2017
Fusco <i>et al.</i>	Prevalence of Foodborne Viruses in Mussels in Southern Italy	Food and Environmental Virology	1,63	2017
Dam <i>et al.</i>	No evidence for zoonotic hepatitis E virus infection through dairy milk in Germany	Hepatology	5,49	2017
La Bella <i>et al.</i>	Food-Borne Viruses in Shellfish: Investigation on Norovirus and HAV Presence in Apulia (SE Italy)	Food and Environmental Virology	1,63	2017

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Vercouter <i>et al.</i>	Absence of zoonotic hepatitis E virus infection in Flemish dairy cows.	International Journal of Food Microbiology	1,31	2017
Shamkhali <i>et al.</i>	Environmental indicators for human norovirus outbreaks	International journal of environmental health research	0,51	2017
Suffredini <i>et al.</i>	Occurrence and Trend of Hepatitis A Virus in Bivalve Molluscs Production Areas Following a Contamination Event	Food and environmental virology	1,63	2017
Kauppinen <i>et al.</i>	Persistence of norovirus GII genome in drinking water and wastewater at different temperaturas	Pathogens	0,98	2017
Varela <i>et al.</i>	Human Sapovirus in Mussels from Ría do Burgo, A Coruña (Spain)	Food and Environmental Virology	1,63	2016
Varela <i>et al.</i>	Prevalence and genetic diversity of human sapoviruses in shellfish from commercial production areas in Galicia, Spain	Applied and Environmental Microbiology	1,55	2016

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Papafragkou y Kulka	Approaches to the viral extraction, detection, and identification of hepatitis viruses, HAV and HEV, in foods	Journal of AOAC International	0,43	2016
Mesquita <i>et al.</i>	Hepatitis E virus genotype 3 in mussels (<i>Mytilus galloprovincialis</i>), Spain	Food microbiology	1,36	2016
Johne <i>et al.</i>	Thermal stability of Hepatitis E Virus as estimated by a cell culture method	Applied and Environmental Microbiology	1,55	2016
EFSA	Summary Report of Joint Scientific Workshop on Foodborne Viruses	EFSA journal	1,08	2016
Hennechart-Collette <i>et al.</i>	Determination of which virus to use as a process control when testing for the presence of hepatitis A virus and norovirus in food and water	International Journal of Food Microbiology	1,31	2015
Cook y Van der Poel	Survival and Elimination of Hepatitis E Virus: A Review	Food and Environmental Virology	1,63	2015
Robilotti <i>et al.</i>	Norovirus	Clinical microbiology reviews	9,18	2015

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Bozkurt y Davidson	Thermal inactivation of foodborne enteric viruses and their viral surrogates in foods	Journal of food protection	0,61	2015
Esona y Gautam	Rotavirus	Clinics in laboratory medicine	0,69	2015
Park <i>et al.</i>	Ultraviolet-C efficacy against a norovirus surrogate and hepatitis A virus on a stainless steel surface	International Journal of Food Microbiology	1,31	2015
Predmore <i>et al.</i>	Control of human norovirus surrogates in fresh foods by gaseous ozone and a proposed mechanism of inactivation	Food Microbiology	1,36	2015
Polo <i>et al.</i>	Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas	International Journal of Food Microbiology	1,31	2015
Jones y Muehlhauser	Effect of handling and storage conditions and stabilizing agent on the recovery of viral RNA from oral fluid of pigs	Journal of Virological Methods	0,79	2014

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Kamar <i>et al.</i>	Hepatitis E virus infection	Clinical microbiology reviews	9,18	2014
Huang <i>et al.</i>	Strategies to enhance high pressure inactivation of murine norovirus in strawberry puree and on strawberries	International journal of food microbiology	1,31	2014
Bigoraj <i>et al.</i>	Occurrence of Norovirus and Hepatitis A Virus in Wild Mussels Collected from the Baltic Sea	Food and Environmental Virology	1,63	2014
Van Den Berg <i>et al.</i>	Guillain-Barré syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection	Neurology	2,91	2014
Manso y Romalde	Detection and Characterization of Hepatitis A Virus and Norovirus in Mussels from Galicia (NW Spain)	Food and environmental virology	1,63	2013
Kingsley	High Pressure Processing and its Application to the Challenge of Virus-Contaminated Foods	Food and environmental virology	1,63	2013

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Tardif-douglin <i>et al.</i>	Hepatitis E Virus Genotype 3 in Shellfish, United Kingdom	Emerging infectious diseases	2,54	2012
Barnaud <i>et al.</i>	Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food	Applied and Environmental Microbiology	1,55	2012
Bertrand <i>et al.</i>	The impact of temperature on the inactivation of enteric viruses in food and water: A review	Journal of Applied Microbiology	0,89	2012
Widén <i>et al.</i>	Achievement V - Methods for breaking the transmission of pathogens along the food chain. Detection of viruses in food	Trends in Food Science and Technology	2,68	2011
Predmore y Li	Enhanced removal of a human norovirus surrogate from fresh vegetables and fruits by a combination of surfactants and sanitizers	Applied and Environmental Microbiology	1,55	2011

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
Hyeon <i>et al.</i>	Rapid detection method for hepatitis a virus from lettuce by a combination of filtration and integrated cell culture-real-time reverse transcription PCR	Journal of Food Protection	0,61	2011
EFSA	Scientific Opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses	EFSA journal	1,08	2011
Feng <i>et al.</i>	Inactivation of a human norovirus surrogate, human norovirus virus-like particles, and vesicular stomatitis virus by Gamma irradiation.	Applied and Environmental Microbiology	1,55	2011
Bosch <i>et al.</i>	Analytical Methods for Virus Detection in Water and Food	Food Analytical Methods	0,68	2011

Autor	Título	Revista	Journal impact factor	Año
<i>Fraisse et al.</i>	Comparison of chlorine and peroxyacetic-based disinfectant to inactivate Feline calicivirus, Murine norovirus and Hepatitis A virus on lettuce	International Journal of Food Microbiology	1,31	2011
<i>Casteel et al.</i>	Chlorine disinfection of produce to inactivate hepatitis A virus and coliphage MS2	International Journal of Food Microbiology	1,31	2008
<i>Butot et al.</i>	Effects of sanitation, freezing and frozen storage on enteric viruses in berries and herbs	International Journal of Food Microbiology	1,31	2008
<i>Emerson et al.</i>	Thermal stability of hepatitis E virus	Journal of Infectious Diseases	2,69	2005
<i>Bhattacharya et al.</i>	Use of reverse transcription and PCR to discriminate between infectious and non-infectious hepatitis A virus	Journal of Virological Methods	0,79	2004
Koopmans y Duizer	Foodborne viruses: an emerging problem	International journal of food microbiology	1,31	2004