

COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS

S



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia - Tel: (+39) 06 57051 - Correo electrónico: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

Tema 8 del programa

**CX/FH 22/53/8
Septiembre de 2022**

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

Quincuagésima tercera reunión

San Diego (Estados Unidos de América)

29 de noviembre - 2 de diciembre de 2022 y 8 de diciembre de 2022

DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LA REVISIÓN DE LAS *DIRECTRICES SOBRE LA APLICACIÓN DE LOS PRINCIPIOS GENERALES DE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS PARA EL CONTROL DE VIRUS EN LOS ALIMENTOS* (CXG 79-2012)

(Preparado por el Canadá y los Países Bajos)

Se ruega a los miembros del Codex y observadores que deseen formular observaciones sobre el presente documento de debate que sigan las indicaciones de la carta circular CL 2022/50/OCS-FH, disponible en la página web del Codex/Cartas circulares de 2022

INTRODUCCIÓN

1. En la 51.^a reunión del Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos (CCFH) ¹, se revisó el plan de trabajo futuro del Comité para incorporar una posible revisión de las *Directrices sobre la aplicación de principios generales de higiene de los alimentos para el control de virus en los alimentos* (CXG 79-2012) (en adelante, "las Directrices") debido a la nueva información disponible sobre el norovirus (NoV). El Canadá, con el apoyo de los Países Bajos, se ofreció para elaborar un documento de debate sobre la posible revisión de las Directrices para su consideración por el Comité. Debido a la naturaleza virtual de la 52.^a reunión del CCFH, se propuso un programa de temas abreviado. Se decidió que las nuevas propuestas de trabajo, así como los documentos de debate, se examinarían en la 53.^a reunión del CCFH.

ANTECEDENTES

2. El objetivo principal de las Directrices es proporcionar orientación sobre el modo de prevenir o reducir al mínimo la presencia de virus entéricos humanos en los alimentos y, más específicamente, el virus de la hepatitis A (VHA) y el NoV. Estas Directrices se aplican a todos los alimentos, aunque se centran especialmente en los alimentos listos para el consumo, desde la producción primaria hasta el consumo, con el fin de controlar los virus entéricos humanos.

3. Las Directrices actuales también cuentan con un anexo sobre el *Control del virus de la hepatitis A (VHA) y el norovirus (NoV) en los moluscos bivalvos* (Anexo I) y un anexo sobre el *Control del virus de la hepatitis A (VHA) y el norovirus (NoV) en los productos frescos* (Anexo II). Los anexos proporcionan recomendaciones adicionales para el control de estos virus en productos específicos.

¹ REP20/FH, párrafo 118.

4. Durante la reunión de expertos de la FAO/OMS sobre "Los virus en los alimentos"², celebrada en 2008, se estableció que el NoV y el VHA eran los virus que suscitaban mayor preocupación desde el punto de vista de la inocuidad de los alimentos, teniendo en cuenta la incidencia de las enfermedades transmitidas por los alimentos que se habían notificado, la gravedad de la enfermedad –incluida su mortalidad–, y su posibilidad de transmisión a través de los alimentos. Se identificó a los alimentos preparados (listos para el consumo), moluscos bivalvos y productos frescos como los productos alimenticios que suscitan mayor preocupación para la salud pública.

FUNDAMENTOS PARA UNA POSIBLE REVISIÓN DE LAS DIRECTRICES

Ámbito de aplicación

5. *Virus*: Según un análisis preliminar de los datos recopilados por la Agencia de Salud Pública del Canadá entre 2008 y 2020, el NoV y el VHA continúan siendo los virus que resultan más preocupantes desde el punto de vista de la inocuidad de los alimentos. Además, en algunos países se ha producido un aumento de los casos de hepatitis E y diversos estudios han identificado productos alimenticios concretos como vectores de transmisión (Di Cola *et al.*, 2021). En Europa, la transmisión alimentaria del virus de la hepatitis E (VHE) parece ser su principal vía de transmisión y los casos de hepatitis E han ido en aumento (EFSA, 2017). Los brotes de VHE transmitidos por los alimentos están relacionados principalmente con el hígado de cerdo poco cocinado y los productos que lo contienen (Di Cola *et al.*, 2021; PAIFOD, 2020). Aunque los genotipos 1 y 2 del VHE (VHE-1, VHE-2) se transmiten a través del agua contaminada en los países de ingresos bajos y medios, el genotipo 3 (VHE-3) y, en algunos países, el genotipo 4 (VHE-4), se transmiten por vía zoonótica y alimentaria y son más frecuentes en los países de ingresos altos. La carne de cerdo y sus productos derivados se pueden contaminar a través de dos vías: i) contaminación intrínseca porque un cerdo está infectado sistémicamente con el VHE-3 y ii) contaminación extrínseca con el VHE-3 debido a la contaminación cruzada con heces, bilis o sangre (Bouwknegt *et al.*, 2013). Dado que las fuentes de contaminación de los virus zoonóticos transmitidos por los alimentos, como el VHE-3 y el VHE-4, son diferentes de las del VHA y el NoV, podrían ser necesarias directrices sobre medidas de prevención e intervención específicas para el VHE-3 y el VHE-4.

6. *Productos*: Un análisis preliminar de los datos de los brotes internacionales transmitidos por los alimentos entre 2008 y 2020, disponibles públicamente, identificó que los alimentos preparados (listos para el consumo), los moluscos bivalvos y los productos frescos continúan siendo productos alimenticios de importancia ya que suscitan preocupación para la salud pública (PAIFOD, 2020). Además, en la última década, las frutas congeladas han sido un importante vehículo de enfermedades transmitidas por los alimentos, atribuidas principalmente a infecciones por VHA y NoV (Nasheri *et al.*, 2019; Di Cola *et al.*, 2021). En comparación con los productos frescos, los productos congelados representan un riesgo adicional para la salud pública debido a que su larga vida útil (dos años) permite una exposición temporal prolongada (Ruscher *et al.*, 2020; Bernard *et al.*, 2014). Por otra parte, como los productos congelados pueden distribuirse a una distancia geográfica mayor, existe la posibilidad de que la exposición al virus se extienda espacialmente. Esta exposición temporal y espacial dispersa puede dar lugar a brotes amplios y difusos que resultan difíciles de rastrear. Por lo tanto, podría ser necesario incluir otros productos alimenticios en las Directrices.

7. A partir de esta información preliminar, podría ser útil realizar un examen más exhaustivo de los virus transmitidos por los alimentos y de los productos alimenticios pertinentes que suscitan mayor preocupación para la salud pública, con el fin de determinar si sería beneficioso para las Directrices añadir estas nuevas orientaciones.

Elaboración y desinfección

8. Resultaría útil realizar un análisis de las pruebas científicas sobre la eficacia de las intervenciones en la cadena alimentaria para determinar si existe nueva información cuya inclusión en las Directrices se debería considerar, como la relativa a los sistemas de control específicos durante la elaboración (por ejemplo, recomendaciones de tiempo y temperatura para el tratamiento térmico), procesos para el control de los virus transmitidos por los alimentos (por ejemplo, la elaboración a alta presión y el plasma en frío), recomendaciones para la desinfección de superficies y avances en la desinfección de manos y la higiene de los manipuladores de alimentos (Ezzatpanah *et al.*, 2022a; Ezzatpanah *et al.*, 2022b).

² FAO/OMS [Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud]. 2008. Viruses in Food: Scientific advice to support risk management activities: meeting report. Serie de evaluación de riesgos microbiológicos n.º 13.

Análisis de los alimentos para detectar los virus transmitidos por los alimentos

9. En la sección de la introducción de las Directrices se habla brevemente de los análisis de los alimentos para detectar los virus transmitidos por los alimentos:

"La evidencia de una contaminación viral está basada principalmente en la detección del ARN/ADN viral, ya que muchos virus de transmisión alimentaria no pueden ser cultivados in situ y de manera confiable. Se han desarrollado varios métodos para varias combinaciones alimento/virus que son sensitivos y específicos, como aquellos métodos cuantitativos y semi-cuantitativos en tiempo real para la reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa (RCP-TI en tiempo real). La detección del ARN/ADN viral no discrimina entre partículas virales causantes de infecciones y aquellas no infecciosas, más aún los resultados de los análisis están sujetos a una variabilidad dependiendo del alimento en cuestión, la distribución del virus dentro de la matriz del alimento y la presencia de inhibidores RCP. En gran medida, existe un grado de incertidumbre en para cómo se relacionan los límites inferiores de detección con la inocuidad del producto. Las tecnologías moleculares deberían estar totalmente validadas, además de definir con claridad su uso para la finalidad prevista así como su interpretación. Idealmente, el laboratorio que realiza los análisis debería estar acreditado".

10. Desde la reunión de expertos de la FAO/OMS de 2008, se han desarrollado nuevos métodos de detección y cuantificación para los virus entéricos (es decir, el VHA y el NoV) y se han validado en estudios entre laboratorios. Existen varios métodos validados para la detección del genoma viral en productos alimenticios específicos (como ostras, mejillones, frambuesas y lechuga), incluido el método técnico de dos partes para la detección (ISO 15216-2:2019) y la cuantificación (ISO 15216-1: 2017) de VHA y NoV en matrices alimentarias. Sin embargo, este método no aborda la infectividad viral y no proporciona la resolución necesaria para investigar los brotes virales transmitidos por los alimentos o la atribución de la fuente.

11. Otros avances técnicos que cabe citar son los siguientes: los métodos integrados que utilizan la detección de ARN viral por RT-PCR y los cultivos celulares para demostrar la infectividad del VHA (Jiang *et al.*, 2004), los métodos que utilizan tintes intercalantes para discriminar entre los genomas virales que se originan en los virus infecciosos o en los tratados térmicamente (Fraisse *et al.*, 2018; Randazzo *et al.*, 2018) y los métodos basados en microperlas que permiten el aislamiento de partículas virales intactas de los alimentos (Suresh *et al.*, 2019; Naseri *et al.*, 2020). Estos métodos no son adecuados para fines de cribado rutinario, pero se pueden utilizar para evaluar la infectividad potencial del virus presente en los alimentos. Se sabe que la tecnología de PCR digital es una metodología eficiente que permite la cuantificación directa de los virus y se podría utilizar para reducir el efecto de los inhibidores de la PCR en la detección viral (Fraisse *et al.*, 2017; Martin-Latil *et al.*, 2016).

12. Por último, desde 2012, algunos grupos de investigación han conseguido desarrollar con éxito sistemas de cultivo *in vitro* para algunas cepas de NoV (Jones *et al.*, 2015; Ettayebi *et al.*, 2016; Bhar y Jones, 2019; Estes *et al.*, 2019; Ettayebi *et al.*, 2021). Diversos estudios han demostrado la capacidad de cultivar NoV utilizando enteroides humanos derivados de células madre o células B, por lo que se presenta la posibilidad de evaluar la infectividad de los NoV sin necesidad de extrapolar los experimentos utilizando virus sustitutos. Sin embargo, estos sistemas de cultivo *in vitro* de NoV todavía presentan numerosos problemas que es necesario resolver.

13. A partir de esta información, podría ser útil realizar una revisión de los métodos analíticos para los virus entéricos pertinentes para los productos alimenticios.

Control del VHA y el NoV en los moluscos bivalvos

14. Como se indica en el Anexo I de las Directrices, el principal peligro conocido para la producción de moluscos bivalvos es la contaminación microbiológica de las aguas en las que se crían. Es importante velar por la calidad del agua de mar de las zonas de cría para evitar o minimizar la contaminación viral de las zonas de cría de los moluscos bivalvos. Antes de iniciar las operaciones de cría o recolección, se debería realizar una inspección sanitaria de las zonas de cría para obtener información sobre la calidad del agua de estas zonas. Uno de los factores que se deben abordar durante una inspección sanitaria son los datos microbiológicos existentes sobre la calidad del agua o de la vigilancia de los moluscos realizado en la misma zona o en zonas adyacentes.

15. En las Directrices se menciona que el nivel de contaminación fecal puede indicar una posible presencia de virus entéricos humanos. Por lo general, la *Escherichia coli*/coliformes fecales se utilizan como indicadores de la contaminación fecal del agua. Sin embargo, se ha señalado que la presencia de virus entéricos humanos, entre ellos el NoV, no presenta una buena correlación con los indicadores tradicionales, como los coliformes totales, los coliformes fecales o *E. coli* (Baggi *et al.*, 2001; Ottoson *et al.*, 2006).

16. Se han realizado estudios sobre el uso de bacteriófagos como indicadores de virus entéricos humanos. Por ejemplo, se ha sugerido que los colifagos F-específicos son sustitutos potenciales del NoV (Lasobras *et al.*, 1999; Simpson *et al.*, 2003; McMinn *et al.*, 2017). Desde la publicación de las Directrices en 2012, un meta-análisis de la reducción de las concentraciones de NoV y colifagos F-específicos en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) encontró una correlación significativa entre las concentraciones medias en el afluente del genotipo II de NoV y los colifagos F-específicos dentro de la misma PTAR (Pouillot *et al.*, 2015). Este meta-análisis también mostró que en las PTAR hay una correlación altamente significativa entre la reducción media log 10 del genotipo II del NoV y la reducción media log 10 de los colifagos F-específicos. Por otra parte, los resultados de una reciente evaluación cuantitativa del riesgo de enfermedad por el NoV a causa del consumo de ostras crudas en Estados Unidos y en Canadá respaldan el posible uso de los colifagos F-específicos como sustituto de la contaminación por el NoV de las ostras con fines de vigilancia o de rendimiento (Pouillot *et al.*, 2022). Otros resultados publicados indican que la vigilancia de los colifagos en el agua podría ser un enfoque útil para prevenir la contaminación por NoV en los moluscos (Cho *et al.*, 2018). Hodgson *et al.* (2017) también publicaron un estudio sobre los bacteriófagos como indicadores virales entéricos en la gestión de los moluscos bivalvos, en el que se analizan los fundamentos y las pruebas que respaldan el uso de bacteriófagos como indicadores de la contaminación con virus entéricos humanos en los moluscos en una gran variedad de condiciones. Por otra parte, el virus del moteado suave del pimiento, un virus de ARN monocatenario sin envoltura, se puede utilizar como indicador de la contaminación fecal humana en entornos acuáticos y sistemas de tratamiento del agua (Kitajima *et al.*, 2018; Jafferli *et al.*, 2021).

17. Además, desde la publicación de las Directrices se han desarrollado modelos de evaluación de riesgos, como los modelos de riesgo cuantitativo desarrollados en la Evaluación de Riesgos Conjunta de los Estados Unidos y el Canadá sobre el NoV en los moluscos bivalvos (Pouillot *et al.*, 2022). El objetivo de esta evaluación de riesgos era ilustrar el modo en que los factores que influyen interactúan, como los parámetros ambientales y los tipos de PTAR, y caracterizar el orden de magnitud relativo del impacto de cada parámetro en el riesgo previsto de infección por NoV. Las predicciones del modelo, específicas para cada región y temporada, proporcionan a los gestores de riesgos una mejor caracterización del riesgo y de los elementos que contribuyen al riesgo potencial de infección por NoV.

18. Además, después de la publicación de las Directrices, la FAO ha elaborado la *Orientación técnica para el desarrollo de los aspectos relativos a las zonas de cría de los programas de saneamiento de moluscos bivalvos* (2018). Esta orientación técnica pretende facilitar la aplicación de la *Norma para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos* (CXS 292-2008) así como servir de orientación para el *Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros* del Codex.

19. A partir de esta información preliminar, podría resultar útil realizar un análisis de las pruebas científicas sobre la posible utilidad de los indicadores virales u otros indicadores de contaminación. Además, se podría estudiar la posibilidad de realizar un análisis de los diversos modelos de evaluación de riesgos con vistas a construir modelos más aplicables para su uso generalizado entre los países miembros, entre ellos una calculadora de riesgos simplificada.

Control del VHA y el NoV en los productos frescos

20. Como se menciona en el Anexo II de las Directrices, los productos frescos pueden contaminarse con virus a través del contacto con agua contaminada o con manipuladores de alimentos infectados. Si los productos frescos contaminados por el virus se enfrían para venderlos como productos congelados, pueden provocar brotes dispersos geográfica y temporalmente. Las Directrices actuales no proporcionan criterios específicos sobre la calidad del agua que se requiere. Para mayor claridad, se podría articular un enfoque basado en el riesgo y en la evaluación de la idoneidad del agua para el fin previsto (FAO y OMS, 2019). Por lo tanto, si se actualizan las Directrices para el control de los virus se debería tener en cuenta el trabajo en curso del CCFH sobre el proyecto de *Directrices para el uso y la reutilización inocuos del agua en la producción de alimentos*, así como los informes de las reuniones de las JEMRA sobre la prevención y el control de los peligros microbiológicos en las frutas y hortalizas frescas (parte 1, 2, 3 y 4).

RECOMENDACIONES

21. Se invita al CCFH a examinar la información anterior y a determinar si se requiere información adicional por parte de las JEMRA sobre uno o varios de los elementos que se enumeran a continuación, a partir de los cuales se decidirá si es necesario llevar a cabo un nuevo trabajo de revisión de las Directrices.

- Un análisis actualizado de los virus transmitidos por los alimentos y de los productos alimenticios pertinentes que son más preocupantes para la salud pública.

- Un análisis de las pruebas científicas sobre las medidas de prevención e intervención y la eficacia de las intervenciones en la cadena alimentaria.
- Un análisis de los métodos analíticos para los virus entéricos pertinentes para los productos alimenticios.
- Un análisis de las pruebas científicas sobre la posible utilidad de los indicadores virales u otros indicadores de contaminación.
- Un análisis de los diversos modelos de evaluación de riesgos con vistas a construir modelos más aplicables para su uso generalizado entre los países miembros, entre ellos una calculadora de riesgos simplificada.

REFERENCIAS

Baggi F, Demarta A, Peduzzi R. 2001. Persistence of viral pathogens and bacteriophages during sewage treatment: lack of correlation with indicator bacteria. *Res Microbiol.* 152(8):743–751.

Bernard H, Faber M, Wilking H, Haller S, Höhle M, Schielke A, Ducomble T, Siffczyk C, Merbecks SS, Fricke G, Hamouda O, Stark K, Werber D, Outbreak Investigation Team. 2014. Large multistate outbreak of norovirus gastroenteritis associated with frozen strawberries, Germany, 2012. *Euro Surveillance.* 19(8):20719.

Bhar S, Jones MK. 2019. In Vitro Replication of Human Norovirus. *Viruses.* 11(6):547.

Bouwknegt M, Verhaelen K, de Roda Husman AM, Rutjes SA. 2013. Quantitative risk profile for viruses in foods. RIVM Report 330371008/2013. <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/330371008.pdf>.

Cho K, Lee C, Park S, Kim JH, Choi YS, Kim MS, Koo ES, Yoon HJ, Kang JH, Jeong YS, Choi JD, Ko G. 2018. Use of coliphages to investigate norovirus contamination in a shellfish growing area in Republic of Korea. *Environ Sci Pollut Res Int.* 25(30):30044-30055.

Di Cola G, Fantilli AC, Pisano MB, Ré VE. 2021. Foodborne transmission of hepatitis A and hepatitis E viruses: A literature review. *Int J Food Microbiol.* 338:108986.

EFSA (European Food and Safety Authority) Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Fernandez Escamez PS, Herman L, Koutsoumanis K, Lindqvist R, Nørrung B, Robertson L, Ru G, Sanaa M, Simmons M, Skandamis P, Snary E, Speybroeck N, Ter Kuile B, Threlfall J, Wahlström H, Di Bartolo I, Johne R, Pavio N, Rutjes S, van der Poel W, Vasickova P, Hempen M, Messens W, Rizzi V, Latronico F and Girones R. 2017. Scientific Opinion on the public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. *EFSA J.* 15(7):e04886.

Estes MK, Ettayebi K, Tenge VR, Murakami K, Karandikar U, Lin SC, Ayyar BV, Cortes-Penfield NW, Haga K, Neill FH, Opekun AR, Broughman JR, Zeng XL, Blutt SE, Crawford SE, Ramani S, Graham DY, Atmar RL. 2019. Human Norovirus Cultivation in Nontransformed Stem Cell-Derived Human Intestinal Enteroid Cultures: Success and Challenges. *Viruses.* 11(7):638.

Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Zeng XL, Qu L, Kou B, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Ramani S, Atmar RL, Estes MK. 2016. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science.* 353(6306):1387-1393.

Ettayebi K, Tenge VR, Cortes-Penfield NW, Crawford SE, Neill FH, Zeng XL, Yu X, Ayyar BV, Burrin D, Ramani S, Atmar RL, Estes MK. 2021. New Insights and Enhanced Human Norovirus Cultivation in Human Intestinal Enteroids. *mSphere.* 6(1):e01136-20.

Ezzatpanah H, Gómez-López VM, Koutchma T, Lavafpour F, Moerman F, Mohammadi M, Raheem D. 2022. Risks and new challenges in the food chain: Viral contamination and decontamination from a global perspective, guidelines, and cleaning. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 21(2):868-903.

Ezzatpanah H, Gómez-López VM, Koutchma T, Lavafpour F, Moerman F, Mohammadi M, Raheem D. 2022. New food safety challenges of viral contamination from a global perspective: Conventional, emerging, and novel methods of viral control. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 21(2):904-941.

FAO y OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/ Organización Mundial de la Salud). 2018. Technical guidance for the development of the growing area aspects of bivalve mollusc sanitation programmes. Food Safety and Quality Series no. 5. Roma 292 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FAO y OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/ Organización Mundial de la Salud). 2019. Safety and Quality of Water Used in Food Production and Processing – Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series no. 33. Roma.

FAO y OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud). 2020. Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros. Roma. <https://doi.org/10.4060/cb0658en>.

Fraisse A, Coudray-Meunier C, Martin-Latil S, Hennechart-Collette C, Delannoy S, Fach P, Perelle S. 2017. Digital RT-PCR method for hepatitis A virus and norovirus quantification in soft berries. *Int J Food Microbiol.* 243:36–45.

Fraisse A, Niveau F, Hennechart-Collette C, Coudray-Meunier C, Martin-Latil S, Perelle S. 2018. Discrimination of infectious and heat-treated norovirus by combining platinum compounds and real-time RT-PCR. *Int J Food Microbiol.* 269:64-74.

Hodgson KR, Torok VA, Turnbull AR. 2017. Bacteriophages as enteric viral indicators in bivalve mollusc management. *Food Microbiol.* 65:284-293.

International Organization for Standardization. 2017. ISO 15216-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 1: Method for quantification.

International Organization for Standardization. 2019. ISO 15216-2:2019 Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 2: Method for detection.

Jafferli MH, Khatami K, Atasoy M, Birgersson M, Williams C, Cetecioglu Z. 2021. Benchmarking virus concentration methods for quantification of SARS-CoV-2 in raw wastewater. *Sci Total Environ.* 755(Pt 1):142939.

Jiang YJ, Liao GY, Zhao W, Sun MB, Qian Y, Bian CX, De Jiang S. 2004. Detection of infectious hepatitis A virus by integrated cell culture/strand-specific reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Appl Microbiol.* 97(5):1105–1112.

Comisión del Codex Alimentarius FAO/OMS. 2012. *Codex Alimentarius: Directrices sobre la aplicación de los principios generales de higiene de los alimentos para el control de virus en los alimentos (CXG 79-2012)*. Roma: Organización Mundial de la Salud: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Comisión del Codex Alimentarius FAO/OMS. 2008. *Codex Alimentarius: Norma para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos (CXS 292-2008)*. Roma: Organización Mundial de la Salud: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Jones MK, Grau KR, Costantini V, Kolawole AO, de Graaf M, Freiden P, Graves CL, Koopmans M, Wallet SM, Tibbetts SA, Schultz-Cherry S, Wobus CE, Vinjé J, Karst SM. 2015. Human norovirus culture in B cells. *Nat Protoc.* 10(12):1939-47.

Kitajima M, Sassi HP, Torrey JR. 2018. Pepper mild mottle virus as a water quality indicator. *npj Clean Water.* 1, 19.

Lasobras J, Dellunde J, Jofre J, Lucena F. 1999. Occurrence and levels of phages proposed as surrogate indicators of enteric viruses in different types of sludges. *J Appl Microbiol.* 86(4):723–729.

Martin-Latil S, Hennechart-Collette C, Delannoy S, Guillier L, Fach P, Perelle S. 2016. Quantification of hepatitis E virus in naturally-contaminated pig liver products. *Front Microbiol.* 7:1183.

McMinn BR, Ashbolt NJ, Korajkic A. 2017. Bacteriophages as indicators of faecal pollution and enteric virus removal. *Lett Appl Microbiol.* 65(1):11–26.

Nasheri N, Vester A, Petronella N. 2019. Foodborne viral outbreaks associated with frozen produce. *Epidemiol Infect.* 147:e291.

Nasheri N, Harlow J, Chen A, Corneau N, Bidawid S. 2020. Evaluation of Bead-Based Assays for the Isolation of Foodborne Viruses from Low-Moisture Foods. *J Food Prot.* 83(3):388-396.

Ottoson J, Hansen A, Westrell T, Johansen K, Norder H, Stenstrom TA. 2006. Removal of noro- and enteroviruses, Giardia cysts, Cryptosporidium oocysts, and fecal indicators at four secondary wastewater treatment plants in Sweden. *Water Environ Res.* 78(8):828 –834.

- PAIFOD - Publically Available International Foodborne Outbreak database. 2020. Public Health Agency of Canada. Personal communication.
- Pouillot R, Smith M, Van Doren JM, Catford A, Holtzman J, Calci KR, Edwards R, Goblick G, Roberts C, Stobo J, White J, Woods J, DePaola A, Buenaventura E, Burkhardt W. 2022. Risk Assessment of Norovirus Illness from Consumption of Raw Oysters in the United States and in Canada. *Risk Anal.* 42(2):344-369.
- Pouillot R, Van Doren JM, Woods J, Plante D, Smith M, Goblick G, Roberts C, Locas A, Hajen W, Stobo J, White J, Holtzman J, Buenaventura E, Burkhardt W 3rd, Catford A, Edwards R, DePaola A, Calci KR. 2015. Meta-Analysis of the Reduction of Norovirus and Male-Specific Coliphage Concentrations in Wastewater Treatment Plants. *App Environ Microbiol.* 81(14):4669–4681.
- Randazzo W, Vasquez-García A, Aznar R, Sánchez G. 2018. Viability RT-qPCR to Distinguish Between HEV and HAV with Intact and Altered Capsids. *Front Microbiol.* 9:1973.
- Ruscher C, Faber M, Werber D, Stark K, Bitzegeio J, Michaelis K, Sagebiel D, Wenzel JJ, Enkelmann J. 2020. Resurgence of an international hepatitis A outbreak linked to imported frozen strawberries, Germany, 2018 to 2020. *Euro Surveill.* 25(37):1900670.
- Simpson D, Jacangelo J, Loughran P, McIlroy C. 2003. Investigation of potential surrogate organisms and public health risk in UV irradiated secondary effluent. *Water Sci Technol.* 47(9):37–43.
- Suresh M, Harlow J, Nasheri N. 2019. Evaluation of porcine gastric mucin assay for detection and quantification of human norovirus in fresh herbs and leafy vegetables. *Food Microbiol.* 84:103254