A형 간염 바이러스 정제법에 대한 국내 · 외 연구 동향

Domestic and International Research Trend of Hepatitis A Virus Purification Method

박은영, 윤요한*

Eunyoung Park, Yohan Yoon*

숙명여자대학교 식품영양학과

Department of Food Nutrition, Sookmyung Women's University

서론

A형 간염 바이러스(Hepatitis A virus)는 Picornaviridae 과의 RNA 바이러스로, 장관을 통해 혈액으로 감염되어 간에 염증을 발생시킨다. 분변-경구 경로로 전파가 가능하며, 대부분 사람에서 사람으로 직접 전파되거나 분변에 오염된 물 혹은 음식물을 섭취하여 간접적으로 전파되기도 한다.

질병관리본부에서 2019년 조사된 A형 간염 감염증 환자수는 17,598 명으로, 전년 환자수 2,437 명 대비 약 7.2 배 증가하였다. 2019년 A형 간염 유행의 주요 원인은 오염된 조개젓으로 확인되었으며, 이에 따라 A형 간염 바이러스에 감염된 환자 사례 연구뿐 아니라 오염원인 식품에 대한 연구도 요구되는 시점이다. A형 간염 바이러스를 포함하여 식중독 바이러스에 대한 오염도가 높은 식품에는 패류, 채소 및 과일류, 그리고 육류 및 육가공품이 해당한다(Stals et al., 2012).

국내에서 A형 간염 바이러스는 법정 감염병 중 2급 감염병으로 분류되어있다. 식품에서의 주요 식중독 원인 물질로 분류되어있지 않고, 현재 식품공전 상에 A형 간염 바이러스에 대한 기준 및 규격이 설정되어 있지 않다. 시험법의 경우 식품의약품안전처의 '2019 식중독 원인조사 시험법'에 기타 바이러스에 포함되어 식품용수, 어패류(굴), 채소류, 과일류, 절임식품, 김치류, 식육, 식육가공품, 즉석섭취 · 편의식품류 검체에 대한 전처리 방법이 제시되어 있다. 그러나 식품 중에 오염된 바이러스는 일반적으로 극소량이며, 식품별 매질 차이로 인해 qRT-PCR을 이용한 바이러스 검출 시 유전자 증폭이 쉽지 않아 어려움을 겪고 있다(서건호 외, 2011). 또한 식중독 바이러스 검출을 위해 국내 식품의약품안전처뿐만 아니라 국외 FDA (Food and Drug Administration), ISO (International Organization for Standardization)에서도 바이러스 검출을 위한 전처리 방법을 제시하고 있으나 각 기관마다 상이하다. 따라서 회수율과 검출 시간 측면에서 효율적인 A

* Correspondence to: Yohan Yoon
Risk Analysis Research Center, Sookmyung Women's University, Seoul 04310, Korea
Tel: +82-2-2077-7585 Fax: +82-2-710-9479 E-mail: yyoon@sookmyung.ac.kr

형 간염 바이러스 전처리 방법 개발을 위해 국내 · 외 문헌 조사를 통해 A형 간염 바이러스를 포함한 식중독 바이러스 오염도가 높은 식품군[패류(굴/바지락 등), 과일 · 채소류, 절임 · 김치류, 식육 및 식육가공품, 유가공품, 즉석식품]의 특성을 고려한 탈리, 농축 방법에 대해 살펴보고자 한다.

본론

1. 패류(굴/바지락 등)

패류는 높은 염도를 나타내며 다양한 부산물을 함유하고 있는 것이 특징이다. 탈리 단계에서 바이러스보다 저분자 물질(단백질, 당, 염 등)을 제거하는 여과 과정이나

표 1. 패류에 대한 A형 간염 바이러스 정제법

No	Food	Elution	Concentration	Recovery	Reference
1	Oyster (25 g)	Glycine buffer (pH 10 and pH 7)	Ultracentrifuge	9.9%	Casas et al., 2007
2	Oyster (3 g)	Proteinase K	–	198 copies/g (detection limit)	Lowther et al., 2019
3	Oyster (50 g)	0.05 N glycine–0.14 N NaCl buffer (pH 9.5)	Centrifuge	41%	Cromeans et al., 1997
4	Oyster (50 g)	0.05 M glycine–0.14 M NaCl buffer (pH 7.5)	8% PEG 8000 + 0.3 M NaCl and centrifuge	20.7%	Mullendore et al., 2001
5	Clam and Oyster (50 g)	0.2 M glycine–0.15 M NaCl buffer (pH 9.5)	PEG 6000 and centrifuge	25%	Guyader et al., 1994
6	Oyster (12 pieces)	Tryptose phosphate broth (TPB) + 0.05 M glycine	12% PEG + 0.75 M NaCl and centrifuge	0.1 FFU/mL (detection limit)	Sincero et al., 2006
7	Oyster (20 g)	Tryptose phosphate broth (TPB) + 0.05 M glycine	Ultracentrifuge	98%	Lewis et al., 1988
8	Oyster (10 g)	100 mM Tris–HCl, 50 mM glycine, 1% beef extract (pH 9.5)	16% PEG 6000 + 0.525 M NaCl and centrifuge	0.0148 PFU/g (detection limit)	Kim et al., 2008
9	Blue mussel (75 g)	0.05 M glycine buffer (pH 9.2)	50% PEG 8000 + 7.5% NaCl	33.7%	Medici et al., 2001
10	Bivalve mollusk (75 g)			35.8%	
11	Oyster (20 g)	10% tryptose phosphate broth (TPB) + 0.05 M glycine	PEG 6000 and centrifuge	92–95%	Zhou et al., 1991
12	Clam (20 g)			90%	

탈염 과정이 필요하다. 패류에 대한 A형 간염 바이러스 정제법 조사 결과는 다음 표 1과 같다. 다수의 문헌에서 바이러스 전처리 방법으로 proteinase K가 사용된 바 있으나 이를 사용할 경우 바이러스 capsid 손상 가능성이 있어 표 1에 기술하지 않았다(Langlet et al., 2018). 조사 결과, 탈리 단계에서 glycine-NaCl buffer, 농축 단계에서 polyethylene glycol (PEG)의 사용 빈도가 높았다. 그러나 탈리 단계에서 tryptose phosphate broth (TPB) + 0.05 M glycine과 농축 단계에서 ultracentrifuge를 이용한 실험에서의 높은 A형 간염 바이러스 회수율을 나타냈다.

2. 과일 · 채소류

과일 · 채소류는 높은 산도와 다량의 섬유소를 포함하는 것을 특징으로 한다. 바이러스 탈리 단계에서 알칼리 조건을 유지하는 것과 침전을 유도하는 섬유소를 제거하는 것이 요구된다. 과일 · 채소류에 대한 A형 간염 바이러스 정제법 조사 결과는 다음 표 2와 같다. 조사 결과, 탈리 단계의 경우, 100 mM Tris-HCl, 50 mM glycine, and 3% beef extract buffer, 농축 단계의 경우, filtration이 높은 사용 빈도를 나타냈다. 바이러스 회수율의 경우, 탈리 단계에서 beef extract, 농축 단계에서 filtration 사용이 높은 회수율을 나타냈다. 과일류와 같은 산성 조건에서는 식품 표면에 바이러스 부착 및 검출 감도 저하 현상이 발생하기 때문에 바이러스 탈리를 위해 beef extract와 같은 염기성 용액을 사용한다. 탈리 단계에서의 beef extract 사용은 용액에 다량의 단백질을 포함하게 하여 이후 농축 단계에서 사용되는 PEG와 바이러스 응집을 향상시키나 이의 확인 시 오류 발생 가능성이 있어 정제과정이 요구된다. Dubois et al. (2006)의 연구 결과에 따르면, 유기산을 포함한 과일류에서 PBS는 탈리 용액으로 적절하지 않지만, 샐러드 채소를 이용하는 실험의 경우 electronegative filter를 사용하기 때문에 탈리 단계에서 PBS 사용이 가능하다.

표 2. 과일류, 채소류에 대한 A형 간염 바이러스 정제법

No	Food	Elution	Concentration	Recovery		Reference
				Inoculation (PFU****/ mL)	Recovery (%)	
1	Tomato (25 g)	TGBE* buffer (pH 9.2)	Centrifuge	3×10^4	36.7	Hida et al., 2013
				3×10^6	8.0	
2	Spinach (25 g)	Guanidine** buffer (pH 6.8) + polyvinylpyrrolidone (PVP)		3×10^2	19	
				3×10^3	35.2	
				3×10^4	18.4	
				3×10^5	18.9	
				3×10^6	16.1	
3	Lettuce (25 g)	TGBE buffer (pH 9.5)	10% PEG 6000 and centrifuge	0.58%		Coudray et al., 2013
			Filtration	1.72%		
4	Lettuce (15 g)	100 mM Tris-HCl and 50 mM glycine	Filtration	24.9%		Hyeon et al., 2011
		100 mM Tris-HCl, 50 mM glycine, and 3% beef extract	30% PEG 6000 + 0.3 M NaCl	47.3%		

(표 이어서 계속)

No	Food	Elution	Concentration	Recovery	Reference
5	Lettuce (2×1cm)	1% beef extract	Filtration	84%	Bidawid et al., 2000
6	Strawberry (1cm diameter)			81%	
7	Berry (15 g)	50 mM glycine, 100 mM Tris, 1% beef extract (pH 9.5)	Ultrafiltration and centrifuge	14%	Butot et al., 2007
8	Vegetable (15 g)			42%	
9	Raspberry (25 g)	TGBE (pH 9.5) + pectinase	Ultracentrifuge and 10% PEG 6000 and 0.3 M NaCl	Inoculation (PFU****/ mL) / Recovery (%): 50 / 17; 10^2 / 16; 5×10^2 / 12; 10^3 / 8; 5×10^3 / 14	Blaise-Boisseau et al., 2010
10	Salad vegetable (25 g)	PBS	Filtration	–	Dubois et al., 2006
11	Green onion (25 g)	2.9% tryptose phosphate broth + 6% glycine	16% PEG 8000 + 0.525 M NaCl and centrifuge	Inoculation ($TCID_{50}$*****) / Recovery ***: 1 / 3/3; 10 / 3/3; 10^2 / 3/3; 10^3 / 2/3; 10^4 / 2/3	Guevremont et al., 2006
12	Berry (15 g)	100 mM Tris-HCl, 50 mM glycine, and 3% beef extract buffer (pH 9.5)	10% PEG 8000 + 0.3 M NaCl	–	Papafrackou et al., 2016

* TGBE (100 mM Tris-HCl, 50 mM glycine, 1% beef extract)
** Guanidine (4 M guanidine thiocyanate, 1 × TE buffer, 0.55 M NaCl, 0.33 M Sodium Acetate)
*** 해당 실험은 정성실험으로 진행되었으며 '양성 시료 수/총 시료 수'로 표현하였음
**** PFU: Plaque Forming Unit
***** TCID50: Median Tissue Culture Infectious Dose

3. 절임 · 김치류

절임 · 김치류에 대한 바이러스 정제법 조사 결과는 다음 표 3과 같다. 절임 · 김치류의 바이러스 정제법은 다른 식품군(패류, 과일 · 채소류)에 비해 연구가 다소 미비한 실정이다. A형 간염 바이러스에 대한 정제법이 확인되지 않아 노로바이러스와 폴리오바이러스에 대한 정제법을 참고하고자 한다. 절임 · 김치류의 경우 PBS, glycine-NaCl buffer 등 다양한 탈리 용액이 사용되었으며, 농축 단계에서는 PEG와 클로로포름이 사용 되었다.

표 3. 절임식품, 김치류에 대한 바이러스 정제법

No	Virus	Food	Elution	Concentration	Recovery	Reference
1	Noro virus	Pickled mooli (25 g)	3% beef extract (pH 9.5)	EPCP*	18.9%	안재현 외, 2015
				ECP**	18.8%	
2		Mooli (20 g)		EPCP	26.3%	
				ECP	33.1%	
3		Kimchi (5 g of cabbage and 5 g of kimchi juice)	PBS	Centrifuge and filtration	Temperature (℃) / Recovery (%) days 0 / 28: 4 — 53.9 / 51.4; 10 — 54.9 / 54.1	Lee et al., 2016
4	Polio virus	Soybean paste (25 g)	0.05 M threonine–0.14 M NaCl (pH 9.5)	EPCP	21.0%	안재현 외., 2015
				ECP	31.6%	
5		Sesame leaves preserved in soy sauce (10 g)	0.25 M glycine–0.3 M NaCl (pH 7.5)	EPCP	18.1%	
				ECP	22.3%	

* EPCP (Elution–PEG–chloroform–PEG)
** ECP (Elution–chloroform–PEG)

4. 식육 및 식육가공품, 유가공품

육류는 단백질, 지질 등 유기성분을 다량 함유하고있는 것이 특징이다. 따라서 탈리 단계에서 이러한 검출 억제제를 제어하는 것이 요구된다. 식육 및 식육가공품, 유가공품에 대한 A형 간염 바이러스 정제법 조사 결과는 다음 표 4와 같다. 식육 및 식육가공품의 바이러스 정제법은 다른 식품군(패류, 과일 및 채소류)에 비해 연구가 다소 미비한 실정이다. 식육 및 식육가공품의 경우, 탈리 단계에서 육류 내 단백질이나 지질 등 유기성분 분리를 위하여 TRIzol Reagent를 이용하기도 하지만 glycine–NaCl buffer 사용 시 높은 회수율을 나타냈다. 농축 단계의 경우, polyethylene glycol (PEG) + NaCl 사용 시 높은 회수율을 나타내었다. 유가공품의 경우, 탈리 단계에서 TGBE buffer, 농축 단계에서 polyethylene glycol (PEG) + NaCl 사용 시, 높은 회수율을 나타내었다.

5. 즉석식품

즉석식품에 대한 A형 간염 바이러스 정제법 조사 결과는 다음 표 5와 같다. A형 간염 바이러스 정제의 경우, 탈리 단계에서 glycine–saline buffer, 농축 단계에서 PEG – NaCl buffer를 사용하였다.

결론 및 제언

최근 국내 · 외 바이러스 관련 질병이 증가함에 따라 바이러스성 식중독 위험성도 증가하고 있다. 따라서 A형 간염 바이러스의 전처리 방법에 대한 국내 · 외 연구 동향을 신속히 파악하여 식품 고유의 매질을 고려한 A형 간염 바이러스 탈리, 농축 단계를 확립하여 검출 감도 향상을 위한 전처리 방법의 개발 및 개선이 필요할 것으로 생각된다. 이러한 A형 간염 바이러스 검출 감도 향상은 식중독 안전관리를 강화하여 국민 건강 증진에 이바지할 수 있을 것이다.

표 4. 식육 및 식육가공품, 유가공품에 대한 바이러스 정제법

No	Virus	Food	Elution	Concentration	Recovery		Reference
					Inoculation (PFU/ mL)	Recovery*	
1	Hepatitis A virus	Ham (30 g)	TRIzol	Centrifuge	10	1/2	Schwab et al., 2000
					10^2	2/2	
					10^3	2/2	
					10^4	2/2	
		Turkey (30 g)			10	2/2	
					10^2	2/2	
					10^3	2/2	
					10^4	2/2	
		Roast beef (30 g)			10	0/2	
					10^2	1/3	
					10^3	2/2	
					10^4	3/3	
2		Beef loin, chicken breast and pork shoulder (3 g)	PBS	Centrifuge	–		Bae et al., 2015
3		Turkey deli meat (6 g)	0.05 M glycine–0.15 M NaCl buffer + 10 M NaOH	PEG 6000 + NaCl and centrifuge	–		Bozkurt et al., 2015
4		Deli turkey (25 g)	0.05 M glycine–0.15 M NaCl buffer (pH 9)	8% PEG 6000 + 0.15 M NaCl and centrifuge	Inoculation (PFU/ mL)	Recovery (%)	Papafragkou et al., 2008
					10^2	81.7	
					10^3	39.7	
					10^4	37.7	
5	Noro virus	Sliced ham (25 g)	50 mM glycine buffer	Ultrafiltration and centrifuge	36.44%		Summa et al., 2012
			100 mM Tris–50 mM glycine buffer and 200 µL of pectinase + 1 M $NaHCO_3$ buffer and 1% soy protein powder	Ultracentrifuge	34.63%		
			TGBE** buffer (pH 9.5)	PEG 8000	34.54%		
6		Ham (10 g)	TGBE buffer (pH 9.5)	50% PEG 8000 + 1.5 M NaCl–centrifuge–chloroform:butanol (1:1)	24%		Scherer et al., 2010
			PBS	Cenetrifuge and filteration	7%		

(표 이어서 계속)

No	Virus	Food	Elution	Concentration	Recovery		Reference
					Inoculation (PFU/ mL)	Recovery (%)	
7		Semi-skimmed milk (2.5 mL)	Proteinase K	Centrifuge	7.4×10^4	11.46	Hennechart-Collette et al., 2017
					7.4×10^5	9.03	
			TGBE buffer (pH 9.5)		7.4×10^4	76.38	
					7.4×10^5	70.15	
8		Cottage cheese (2.5 g)	Proteinase K		7.4×10^4	11.2	
					7.4×10^5	2.42	
			TGBE buffer (pH 9.5)		7.4×10^4	74.75	
					7.4×10^5	57.14	
9		Fresh "Minas" cheese (15 g)	PBS	Centrifuge	6%		Fumian et al., 2009
10		Whipped cream (5 g)	PBS + VertrelXF	10% PEG + 0.3 M NaCl and centrifuge	10%		Rutjes et al., 2006
			Glycine buffer	Ultrafiltration	1%		
11	Polio virus	Fermented milk (20 g)	3% beef extract (pH 9.5)	EPCP***	33.9%		안재현 외, 2015
				ECP****	34.5%		
12	Feline calici virus	Roast pork chop (20 g)	0.5 M glycine + 1% bovine albumin	Ultracentrifugation	12%		Rzezutka et al., 2008
		Salami (20 g)			3.4%		
		Gammon (20 g)			5.9%		

* 해당 실험은 정성실험으로 진행되었으며 '양성 시료 수/총 시료 수'로 표현하였음
** TGBE (100 mM Tris-HCl, 50 mM glycine, 1% beef extract)
*** EPCP (Elution-PEG-chloroform-PEG)
**** ECP (Elution-chloroform-PEG)

감사의 글

본 연구는 2020년도 식품의약품안전처의 연구개발비 (20162MFDS033)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. 서건호, 현지연, 송광영. (2011). 식중독 바이러스와 안전성. 식품안전총서. 한국식품안전연구원.

2. 안재현, 권영우, 이정수, 최원상. (2015). 다양한 매트릭스가 혼합된 식품을 대상으로 노로바이러스 신속검출을 위한 탈리 및 농축방법 확립. 한국식품위생안전성학회지, 30(2), 150-158.

3. Bae S. C., Park S. Y., Choe, W., and Ha,S. D. (2015). Inactivation of murine norovirus-1 and hepatitis A virus on fresh meats by atmospheric pressure plasma jets. Food Research International, 76, 342-347.

4. Baert L., Uyttendaele M., and Debevere J. (2008). Evaluation of viral extraction methods on a broad range of ready-to-eat foods with conventional and real-time RT-PCR for norovirus GII detection. International Journal of Food Microbiology, 123(1-2), 101-108.

5. Bidawid S., Farber J. and Sattar S. A. (2000). Rapid concentration and detection of hepatitis A virus from lettuce and strawberries. Journal of Virological Methods, 88(2), 175–185.

6. Blaise–Boisseau S., Hennechart–Collette C., Guillier L., and Perelle S. (2010). Duplex real–time qRT–PCR for the detection of hepatitis A virus in water and raspberries using the MS2 bacteriophage as a process control. Journal of Virological Methods, 166(1–2), 48–53.

7. Bozkurt H., D'Souza D. H., and Davidson P. M. (2015). Thermal inactivation kinetics of human norovirus surrogates and hepatitis A virus in turkey deli meat. Applied and Environmental Microbiology, 81(14), 4850–4859.

8. Butot S., Putallaz T., and Sanchez G. (2007). Procedure for rapid concentration and detection of enteric viruses from berries and vegetables. Applied and Environmental Microbiology, 73(1), 186–192.

9. Casas N., Amarita F., and de Marañón I. M. (2007). Evaluation of an extracting method for the detection of Hepatitis A virus in shellfish by SYBR–Green real–time RT–PCR. International Journal of Food Microbiology, 120(1–2), 179–185.

10. Coudray C., Merle G., Martin–Latil S., Guillier, L., and Perelle S. (2013). Comparison of two extraction methods for the detection of hepatitis A virus in lettuces using the murine norovirus as a process control. Journal of Virological Methods, 193(1), 96–102.

11. Cromeans T. L., Nainan O. V., and Margolis H. S. (1997). Detection of hepatitis A virus RNA in oyster meat. Applied and Environmental Microbiology, 63(6), 2460–2463.

12. De Medici D., Croci L., Di Pasquale S., Fiore, A., and Toti L. (2001). Detecting the presence of infectious hepatitis A virus in molluscs positive to RT-nested-PCR. Letters in Applied Microbiology, 33(5), 362–366.

13. Dubois E., Hennechart C., Deboosère N., Merle G., Legeay O., Burger C., and Traoré O. (2006). Intra–laboratory validation of a concentration method adapted for the enumeration of infectious F–specific RNA coliphage, enterovirus, and hepatitis A virus from inoculated leaves of salad vegetables. International Journal of Food Microbiology, 108(2), 164–171.

14. Fumian T. M., Leite J. P. G., Marin V. A., and Miagostovich M. P. (2009). A rapid procedure for detecting noroviruses from cheese and fresh lettuce. Journal of Virological Methods, 155(1), 39–43.

15. Guévremont E., Brassard J., Houde A., Simard C., and Trottier Y. L. (2006). Development of an extraction and concentration procedure and comparison of RT–PCR primer systems for the detection of hepatitis A virus and norovirus GII in green onions. Journal of Virological Methods, 134(1–2), 130–135.

16. Hennechart–Collette C., Martin–Lati, S., Fraisse A., and Perelle S. (2017). Comparison of three extraction methods to detect noroviruses in dairy products. Food Microbiology, 61, 113–119.

17. Hida K., Kulka M., and Papafragkou E. (2013). Development of a rapid total nucleic acid extraction method for the isolation of hepatitis A virus from fresh produce. International Journal of Food Microbiology, 161(3), 143–150.

18. Hyeon J. Y., Chon J. W., Park C., Lee J. B., Choi I. S., Kim M. S., and 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.

19. Kim D., Kim S. R., Kwon K. S., Lee J. W., and Oh M. J. (2008). Detection of hepatitis A virus from oyster by nested PCR using efficient extraction and concentration method. Journal of Microbiology, 46(4), 436–440.

20. Langlet J., Kaas L., Croucher D., and Hewitt, J. (2018). Effect of the shellfish proteinase K digestion method on norovirus capsid integrity. Food and Environmental Virology, 10(2), 151–158.

21. Le Guyader F., Dubois E., Menard D., and Pommepuy M. (1994). Detection of hepatitis A virus, rotavirus, and enterovirus in naturally contaminated shellfish and sediment by reverse transcription–seminested PCR. Applied and Environmental Microbiology, 60(10), 3665–3671.

22. Lee J. H., Lee H., Kim S. H., Eun J. B., and Ha J. H. (2017). Recovery of intact human norovirus from cabbage Kimchi stored at 4° C and 10° C during fermentation. LWT–Food Science and Technology, 78,

258–264.

23. Leggitt P. R., and Jaykus L. A. (2000). Detection methods for human enteric viruses in representative foods. Journal of Food Protection, 63(12), 1738–1744.

24. Lewis G. D., and Metcalf, T. G. (1988). Polyethylene glycol precipitation for recovery of pathogenic viruses, including hepatitis A virus and human rotavirus, from oyster, water, and sediment samples. Applied and Environmental Microbiology, 54(8), 1983–1988.

25. Lowther J. A., Bosch A., Butot S., Ollivier J., Mäde D., Rutjes S. A., and 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, 82–90.

26. Moor D., Liniger M., Baumgartner A., and Felleisen R. (2018). Screening of ready–to–eat meat products for hepatitis E virus in Switzerland. Food and Environmental Virology, 10(3), 263–271.

27. Mullendore J. L., Sobsey M. D., and Shieh Y. S. C. (2001). Improved method for the recovery of hepatitis A virus from oysters. Journal of Virological Methods, 94(1–2), 25–35.

28. Papafragkou E., and Kulka M. (2016). Approaches to the Viral Extraction, Detection, and Identification of Hepatitis Viruses, HAV and HEV, in Foods. Journal of AOAC International, 99(1), 130–142.

29. Papafragkou E., Plante M., Mattison K., Bidawid S., Karthikeyan K., Farber J. M., and Jaykus L. A. (2008). Rapid and sensitive detection of hepatitis A virus in representative food matrices. Journal of Virological Methods, 147(1), 177–187.

30. Rutjes S. A., Lodder–Verschoor F., van der Poel W. H., van DUIJNHOVEN Y. T., and de Roda Husman A. M. (2006). Detection of noroviruses in foods: a study on virus extraction procedures in foods implicated in outbreaks of human gastroenteritis. Journal of Food Protection, 69(8), 1949–1956.

31. Rzeżutka A., Chrobocińska M., Kaupke A., and Mizak B. (2008). Application of an ultracentrifugation–based method for detection of feline calicivirus (a norovirus surrogate) in experimentally contaminated delicatessen meat samples. Food Analytical Methods, 1(1), 56–60.

32. Scherer K., Johne R., Schrader C., Ellerbroek L., Schulenburg J., and Klein G. (2010). Comparison of two extraction methods for viruses in food and application in a norovirus gastroenteritis outbreak. Journal of Virological Methods, 169(1), 22–27.

33. Schwab K. J., Neill F. H., Fankhauser R. L., Daniels N. A., Monroe S. S., Bergmire–Sweat D. A., and Atmar R. L. (2000). Development of methods to detect "Norwalk–like viruses"(NLVs) and hepatitis A virus in delicatessen foods: application to a food–borne NLV outbreak. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 213–218.

34. Sincero T. C. M., Levin D. B., Simões C. M. O., and Barardi C. R. M. (2006). Detection of hepatitis A virus (HAV) in oysters (Crassostrea gigas). Water Research, 40(5), 895–902.

35. Stals A., Baert L., De Keuckelaere A., Van Coillie E., and Uyttendaele, M. (2011). Evaluation of a norovirus detection methodology for ready–to–eat foods. International Journal of Food Microbiology, 145(2–3), 420–425.

36. Stals A., Baert L., Van Coillie, E., and Uyttendaele M. (2012). Extraction of food–borne viruses from food samples: a review. International Journal of Food Microbiology, 153(1–2), 1–9.

37. Summa M., von Bonsdorff C. H., and Maunula L. (2012). Evaluation of four virus recovery methods for detecting noroviruses on fresh lettuce, sliced ham, and frozen raspberries. Journal of Virological Methods, 183(2), 154–160.

38. Terio V., Bottaro M., Pavoni E., Losio M. N., Serraino A., Giacometti F., and Tantillo G. (2017). Occurrence of hepatitis A and E and norovirus GI and GII in ready–to–eat vegetables in Italy. International Journal of Food Microbiology, 249, 61–65.

39. Yilmaz A., Bostan K., Altan E. D. A., Muratoglu K., Turan N., Tan D., and Yilmaz H. (2011). Investigations on the frequency of norovirus contamination of ready–to–eat food items in Istanbul, Turkey, by using real–time reverse transcription PCR. Journal of Food Protection, 74(5), 840–843.

40. Zhou Y. J., Estes M. K., Jiang X. I., and Metcalf T. G. (1991). Concentration and detection of hepatitis A virus and rotavirus from shellfish by hybridization tests. Applied and Environmental Microbiology, 57(10), 2963–2968.