

*Higiene y Sanidad Ambiental*, **13** (2): 961-967 (2013)

## **Moluscos bivalvos como agentes transmisores de infecciones víricas**

### ***BIVALVES AS TRANSMITTERS OF VIRAL INFECTIONS***

Marta MARAÑÓN NIETO, Lourdes María OCHOA LÓPEZ, Elena ESPIGARES RODRÍGUEZ y Elena MORENO ROLDÁN

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Granada. Facultad de Farmacia. Campus Universitario de Cartuja. 18071 Granada (España). Tel. +34958249615. Correo-e: elmorol@ugr.es

---

#### **RESUMEN**

Son numerosos los virus patógenos que pueden ser transmitidos al hombre a través del agua y alimentos causando infecciones en el tracto gastrointestinal. Estos virus son excretados por las personas infectadas llegando al agua y debido a su mayor resistencia a los tratamientos biológicos y físico-químicos del agua residual permanecen en ellas, contaminando el agua de consumo y alimentos.

Los moluscos bivalvos que como consecuencia de su crecimiento en zonas costeras donde se vierten aguas fecales no depuradas o insuficientemente tratadas concentran partículas víricas mediante la filtración del agua, y posteriormente se consumen crudos o poco cocinados, han sido asociados con diversos brotes de enfermedad.

**Palabras clave:** Moluscos bivalvos, norovirus, virus hepatitis A.

#### **ABSTRACT**

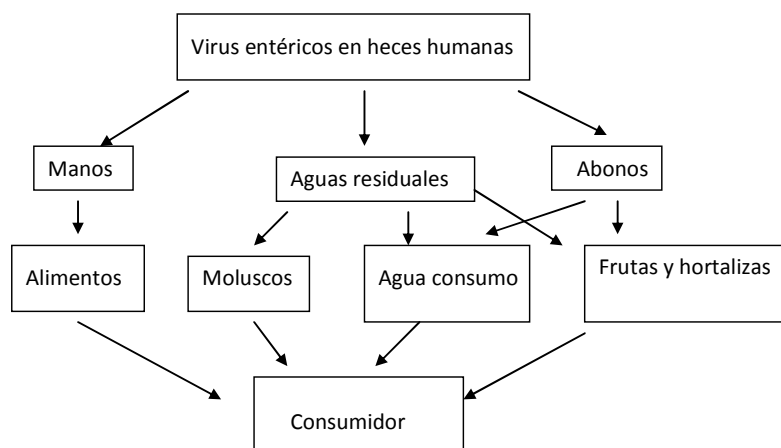
There are plenty of pathogen viruses which can be transmitted to humans through water and food causing infection in the gastrointestinal tract. These viruses are excreted by infected people arriving to water and due to its greater resistance to physical-chemical and biological treatments of sewage, remain there, contaminating consumption water and food, among them bivalve molluscs that, as a result of their growth in coastal areas where it is dumped untreated or inadequately treated sewage, can concentrate virus particles by filtering water, and subsequently consumed raw or undercooked, have been associated with various disease outbreaks.

**Keywords:** Bivalve molluscs, norovirus, hepatitis A virus.

#### **INTRODUCCIÓN**

Más de 140 virus entéricos se encuentran en heces humanas de personas infectadas. Estos pueden ser excretados en grandes cantidades y debido a su mayor resistencia a los tratamientos biológicos y físico-químicos de las aguas residuales, estos virus permanecen en el medio ambiente, y llegar a la población especialmente a través de la contaminación del agua usada para beber, del agua utilizada en

cultivos de vegetales o en cultivos de moluscos bivalvos, o bien a través de las manos de los manipuladores de alimentos infectados tanto sintomáticos como asintomáticos que pueden contaminar los alimentos en cualquier punto de la cadena alimenticia, como puede observarse en la figura (Figura 1) representando un riesgo sanitario para la población (Kanasinakatte et al 2008; Schi et al 2008).



Fuente: Rodrigo A (2007)

**Figura 1.** Ciclo de contaminación.

Estos virus entéricos requieren de células humanas para su multiplicación y por tanto necesitan de una célula huésped específico para su replicación. Es por ello, que a diferencia de las bacterias no se van a poder multiplicar en el alimento. La ausencia de replicación y el hecho de que generalmente se encuentran en bajas concentraciones no aseguran su salubridad del alimento.

**Tabla 1.** Principales virus de transmisión hídrica/alimentaria (Fuente: Bosch et al 2008).

Virus	Enfermedad
Adenovirus	Varias
Enterovirus	
Poliovirus	Poliomielitis
Echovirus	Parálisis
Coxsackievirus	Varias
Hepatitis A	Hepatitis Infecciosa
Rotavirus	Diarrea
Reovirus	Varias
Parvovirus	Sintomatología inespecífica
Norovirus o Virus Norwalk	Gastroenteritis
Astrovirus	Gastroenteritis
Coranovirus	Varias

Son numerosos los virus patógenos que pueden ser transmitidos al hombre a través del agua y alimentos (Tabla 1). Estos virus son agentes causantes de muchas infecciones del tracto gastrointestinal, infecciones respiratorias, hepatitis, conjuntivitis y

otras infecciones graves como meningitis, encefalitis y parálisis, siendo Norovirus (NoV) y el virus de la Hepatitis A (HVA) los agentes etiológicos más comunes a nivel mundial responsables (Uhrbranda et al 2010).

### VIRUS DE LA HEPATITIS A (VHA)

El VHA se clasifica por sus características morfológicas, bioquímicas y genéticas, dentro del género *Hepatovirus* y la familia *Picornaviridae*. Es el más resistente de la familia *Picornaviridae* y conserva su poder infectivo tras semanas en el agua de mar, alimentos y superficies. Esta resistencia está asociada a una excreción fecal prolongada que explica su modo de transmisión, esencialmente por vía feco-oral (Deloince et al 1994).

Es un virus pequeño, de 27 nm de diámetro, de forma esférica y carente de envoltura. Mediante microscopía electrónica se ha visto que posee una estructura de simetría icosaédrica, con 12 pentámeros. Contiene un genoma de una hebra de RNA positivo, es decir, el RNA viral actúa como mensajero.

Este ácido nucleico es capaz de generar un total de 11 proteínas distintas, cuatro de las cuales darán lugar a la cápside que envuelve el genoma. Estas cuatro proteínas se denominan VP1, VP2, VP3 y VP4, con peso molecular de 33, 27 y 29 kilodalton (kD) respectivamente las tres primeras; y la última, VP4, consta solamente de 17 aminoácidos y su función no está claramente definida.

Debido a sus características estructurales, el genoma del VHA presenta gran estabilidad genética en todas las cepas aisladas, por lo que parece ser que existe un solo tipo antigénico. No presenta antígenos comunes con otros virus hepatotropos, por lo que no existen reacciones cruzadas que dificulten el diagnóstico ante un cuadro clínico. Esta estabilidad genética hace que el VHA sea un virus muy estable y resistente a los agentes físicos y químicos, lo que explica su gran facilidad para transmitirse a través del agua y alimentos en condiciones teóricamente adversas para el virus; no se afecta por agentes que inhiben normalmente a otros picornavirus, y en condiciones de humedad del 42% aproximadamente, es estable a temperaturas de 60 °C durante una hora, 25 °C durante un mes, 5 °C durante tres meses, o durante años cuando se mantiene en congelación a -20° C. Resiste igualmente altos grados de acidez (pH 2), y la acción del éter, cloroformo y detergentes no-iónicos. También puede sobrevivir durante días o meses en agua dulce, agua salada, suelo y sedimentos marinos, así

como en heces desecadas o en superficies de poliestireno.

Los viriones son relativamente resistentes a los desinfectantes comunes. El VHA no se inactiva por cloraminas o por ácido percloroacético, pero sí en autoclave a 120° C durante 20 minutos, por radiaciones ultravioleta, glutaraldehído, formalina, beta-propiolactona, permanganato potásico, yodo, cloro o compuestos clorados, y con formol diluido 1:400 durante 3 días a 37° C, o durante 5 minutos a 100° C.

La hepatitis A es una enfermedad distribuida de forma universal, si bien, factores como el nivel socio-económico y las condiciones higiénico-sanitarias hacen variar el grado de endemismo entre unas zonas y otras. La prevalencia de anticuerpos anti-VHA totales en una población nos indica el grado de endemidad de ésta. En los países subdesarrollados, la práctica totalidad de la población se encuentra inmunizada tras haberse infectado, casi siempre de forma asintomática, durante la infancia. Por el contrario, en los países industrializados, con mejores hábitos higiénicos dificultan la inmunización infantil apareciendo casos clínicamente más aparentes en edades tardías.

La prevalencia de anticuerpos frente al virus de la hepatitis A, va aumentando con la edad: en España es del 5 % a los 7 años, 18 % a los 13, 40 % entre los 20-29 años y más del 80 % en los mayores de 30 años, si bien estos valores están en descenso. En nuestro país el número de casos declarados en 2011 fue 5 casos/100.000 habitantes, y para Andalucía de 10,1 casos/100.000 habitantes.

Aunque la mortalidad por hepatitis A es baja, oscilando entre 0,1 y 0,2%, tiene una elevada morbilidad y coste económico sanitario a nivel mundial (World Health Organization, 1995).

El período de incubación es de 15-50 días (media 28). El período de máxima transmisibilidad comprende las dos semanas anteriores al inicio de la clínica (ictericia). el cuadro comienza bruscamente con una serie de síntomas comunes al de todas las hepatitis víricas, tanto de carácter inespecífico (fiebre, malestar, náuseas, vómitos, astenia), como específicos de alteración hepática. Puede cursar de forma subclínica, o siguiendo las tres fases típicas: estadio preictérico (con los síntomas generales ya descritos), icterico (que puede mantenerse un tiempo medio de 1-3 semanas), y de convalecencia (que permanece hasta la normalización de las enzimas séricas). Las transaminasas pueden permanecer positivas hasta varias semanas o meses, dependiendo de la gravedad del cuadro. En general es un proceso benigno (sobre todo en niños), siendo rara la aparición de hepatitis fulminante. No se relaciona con cirrosis ni con carcinoma hepático (Espigares García 2006).

La población susceptible la constituyen todos los individuos no inmunizados. El contacto con el virus genera una inmunización permanente. Cuando los factores ambientales favorecen la amplia transmisión feco-oral, y la infección se produce en los más pe-

queños, se presenta como enfermedad endémica. En estas condiciones, la enfermedad en adultos es infrecuente y las epidemias son raras. Bajo buenas condiciones sanitarias, la propagación del virus está restringida y frecuentemente se llega a la edad adulta sin inmunidad (Pintó y Sáiz 2007). En estas poblaciones no inmunes son probables las epidemias, siendo normalmente consecuencia de la contaminación del agua o de los alimentos.

## NOROVIRUS

El género Norovirus junto a Sapovirus, Vesivirus y Lagovirus, forman la familia *Caliciviridae*. Los virus que componen esta familia son icosaédricos, no recubiertos, de genoma constituido por una sola hebra de ARN (ssRNA) en sentido positivo.

Los norovirus son virus pequeños, con un diámetro aproximado de 38 nanómetros, no envueltos e icosaédricos.

Los viriones se componen de una única proteína estructural de la cápside. Las técnicas de criomicroscopía electrónica revelan la estructura de simetría icosaédrica de la cápside (Glass et al 2000). La proteína estructural, constituida por 180 moléculas, se pliega en 90 dímeros formando una cubierta continua con protuberancias en forma de arco. Una característica clave es la existencia de 32 depresiones en forma de copa, situadas en los ejes del icosaedro, de cuya denominación latina, *calix*, deriva su nombre (Atmar y Estes, 2001).

Son pequeños virus esféricos, no envueltos, que tienen un tamaño de entre 28 y 35 nm, que contienen un genoma (ribonucleico) de ARN monocatenario de 7.3 a 7.6 kb. El genoma de los Calicivirus humanos consiste en una cadena sencilla de ARN de polaridad positiva. El genoma de los Norovirus se organiza en tres secuencias de lectura abierta (ORF). La ORF1 codifica una poliproteína precursora de las proteínas no estructurales, la ORF2 codifica la proteína de la cápside y la ORF3 codifica una proteína pequeña cuya función no se conoce. Estudios recientes indican que se trata de una proteína estructural menor (Tsan-Yuk et al 2012).

El género norovirus presenta una elevada variabilidad genética que se explica por mutaciones puntuales y por recombinación entre diferentes fragmentos homólogos de ARN que, por coinfección, hayan entrado en una misma célula. Clásicamente, el género se ha dividido en dos genogrupos, I y II (L'Homme et al 2009).

Los estudios más recientes de epidemiología molecular han demostrado que la gran diversidad genética de norovirus se puede estudiar mejor en relación con la proteína principal de la cápside que se relaciona con la especificidad antigénica y que permitiría reconocer cinco agrupaciones filogenéticas o genogrupos GI a GV, que se subdividen en una treintena de genotipos. Tres de los genogrupos de esta clasificación (GI, GII y GIV) afectan a las

personas, mientras que el genogrupo GII se ha descrito en el ganado bovino y el GV, en ratones.

El período de incubación más habitual es de 24 a 48 horas y la transmisibilidad es máxima durante las primeras 24 - 48 horas de la enfermedad.

La enfermedad causada por norovirus suele ser leve o moderada y de curso limitado; a menudo se presenta en brotes con síntomas clínicos como náuseas (79 %), vómitos (69 %), diarrea no sangui-nolenta (66 %), fiebre (37 %) y dolor abdominal (30 %) (Ribes y Buesa 2010). Los síntomas gastroin-testinales generalmente persisten de 24 a 48 horas (Mandell et al 2006).

Son virus estables dentro de un amplio rango de temperaturas, sobreviven a la congelación, refrigera-ción, calentamiento a 60°C y a la acción de algunos desinfectantes clorados, ácidos, alcohol y soluciones antisépticas de higiene de manos (Khan et al 2010).

Los mecanismos de transmisión para norovirus son usualmente de persona a persona, aunque los alimentos, incluyendo los moluscos y el agua, están bastantes implicados en la transmisión (Xerry et al 2008).

## MOLUSCOS BIVALVOS

Los moluscos bivalvos son un grupo de animales acuáticos, invertebrados, de cuerpo blando no segmentado, constituido por una bolsa que contiene las vísceras y el pie. Esta bolsa o cuerpo puede estar desnuda, o revestida de una concha. La concha está formada por dos valvas unidas entre sí por una articulación con dientes, también llamados pelecípodos o lamelibranquios.

Son organismos sedentarios que en su proceso de alimentación, filtran un gran volumen de agua de mar (hasta 20 litros por hora) de manera que retienen y concentran las partículas en suspensión presentes en ésta no solamente partículas nutrientes, sino también otras partículas y microorganismos, que van acumu-lando, y que pueden ser contaminantes químicos y biológicos, los cuales pueden ser potencialmente pa-tógenos, y pueden provocar una infección al hombre (Koopmans 2002).

Dichos moluscos, como consecuencia de su creci-miento en zonas costeras donde se vierten aguas fecales no depuradas o insuficientemente tratadas, son capaces de concentrar partículas víricas mediante la filtración del agua, y posteriormente por consu-mirse crudos o poco cocinados, han sido asociados con diversos brotes de enfermedad (Le Guyader et al 1996; Lees 2000; Murchie et al 2005).

Ha sido ampliamente demostrado que el consumo de moluscos bivalvos infectados por virus patógenos humanos, puede provocar un cierto número de enfermedades en el hombre. Estas enfermedades son muy diversas, encontrándose entre las que cabe desta-car la gastroenteritis producida por norovirus, la hepatitis vírica de tipo A, la intoxicación paralizante por molusco (Myrmell et al 2004).

Son productos alimentarios que están directamen-te implicados en la aparición de epidemias de Hepa-titis A en varios países como los EEUU, China, Espa-ña e Italia (Chironna et al 2004; Amri 2011).

## Depuración de moluscos

La buena calidad y salubridad de los moluscos va a depender también de la calidad sanitaria del agua de la que proceden, que a su vez dependerá de que los procesos de depuración de la misma se lleven a cabo correctamente y aseguren su seguridad para el consumo.

La depuración es un proceso que consiste en la inmersión de los moluscos en una corriente de agua de mar limpia de tal manera que los animales puedan retomar su actividad normal de bombeo y expulsar los contaminantes de sus branquias y aparato intes-tinal durante un periodo de tiempo que puede variar desde unas horas hasta varios días, para así reanudar la actividad filtradora, eliminar los contaminantes, evitar la recontaminación y mantener la viabilidad y calidad. De la misma manera, las instalaciones de estos sistemas deben funcionar manteniendo unos buenos niveles de higiene alimentaria para prevenir contaminaciones cruzadas entre los distintos lotes de moluscos o una recontaminación de los mismos (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2010).

Por otra parte, aunque la depuración de los moluscos contribuye a reducir los niveles de carga bacteriana y por tanto el riesgo por infección (Crocì et al 2007), se ha demostrado que es insuficiente para eliminar los virus completamente (Lees 2000; Le Guyader 2010).

Asimismo, este peligro se ve potenciado debido a la tendencia a consumir estos alimentos crudos o poco cocinados, o sometidos a vapor, pues la resis-tencia de los virus a procesos culinarios es mayor que la de las bacterias, y no se garantiza su inactivación. Esto convierte a los moluscos bivalvos en la principal fuente de brotes víricos de origen alimentario.

## Legislación aplicable a moluscos bivalvos

En la UE, los requisitos estipulados en la Directiva sobre la Inocuidad de Moluscos Bivalvos se sustituyeron a partir del 1 de enero de 2006 por requi-sitos similares, pero no idénticos, en la reglamen-tación consolidada sobre la higiene de los alimentos que abarca todos los alimentos de origen animal. En concreto, los requisitos que deben cumplir las empre-sas de la industria alimentaria se presentan en el Reglamento (CE) N° 853/2004 que incluye reglas específicas de higiene para alimentos de origen animal.

En la UE, la clasificación de las zonas de producción se especifica en el Reglamento (CE) N° 854/2004 que incluye reglas específicas para la orga-

nización de controles oficiales sobre productos de origen animal destinados al consumo humano. Esta clasificación se basa en los niveles de *Escherichia coli* presentes en muestras de moluscos.

En España resulta indispensable aplicar una normativa para controlar la calidad sanitaria de las aguas destinadas a la producción, así como un reglamento de salubridad de los moluscos bivalvos. Como consecuencia de la adhesión de España a la comunidad europea, se ha efectuado la adecuación de la normativa nacional sobre la materia a lo establecido por la directiva del consejo 91/492/CEE. Así pues, se ha establecido el Real Decreto 308/1993 y 571/1999 en los que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria que fija las normas aplicables a la producción y comercialización de moluscos bivalvos vivos, gasterópodos y equinodermos destinados al consumo humano directo o a la transformación previa a su consumo.

Las zonas de producción se han clasificado de acuerdo a las siguientes categorías:

- Zonas tipo A: en dichas zonas, los moluscos bivalvos vivos tendrán menos de 300 coliformes fecales o menos de 230 NMP de *E.coli*, por cada 100 gramos de carne de molusco y líquido intervalvar. Los moluscos extraídos de estas regiones podrán ser destinados al consumo humano directo.
- Zonas tipo B: los moluscos bivalvos en estas zonas presentan un índice igual o inferior a 6000 coliformes fecales o 4600 NMP de *E.coli* por cada 100 gramos de carne en el 90 % de las muestras. Los animales procedentes de estas zonas destinarán al consumo humano tras someterse a un tratamiento de depuración o de reinstalación.
- Zonas tipo C: los moluscos bivalvos de estas zonas representan un índice inferior a 60000NMP de *E.coli* por cada 100 gramos de carne. Los moluscos extraídos de estas zonas podrán ser destinados al consumo humano tras su reinstalación durante un periodo mínimo de 12 meses, o tras una depuración intensiva a fin de cumplir las condiciones mencionadas anteriormente.

Una depuración efectiva requiere una correcta recolección, transporte y almacenamiento previos a la depuración, según el Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2000 por el que se establecen normas específicas de Higiene de los Alimentos de origen animal. Además de la manipulación, es preciso un diseño y funcionamiento adecuados en las instalaciones y procesos de eliminación y separación de contaminantes.

El mantenimiento de unos buenos niveles de higiene alimentaria y del buen estado de las instalaciones es muy importante para prevenir contaminaciones cruzadas entre diferentes lotes de moluscos o una recontaminación de los mismos.

De acuerdo con el Reglamento (CE) nº 1073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005, en relación con los criterios microbiológicos, aplicable a estos productos alimenticios, se establece para la calidad microbiológica de los moluscos bivalvos de consumo público, la ausencia de *Salmonella* y un máximo de 230 NMP/100 g de carne y líquido intervalvar de *E. coli*.

Sin embargo, varios estudios han mostrado que las bacterias no son unos indicadores fiables de contaminación viral en moluscos (Crocì et al 2000; Lees 2000), pues como hemos comentado anteriormente, los virus entéricos son más resistentes a la inactivación y a los procesos de depuración, que las bacterias. Existiendo una falta de correlación entre el indicador establecido por la legislación y la presencia/ausencia de virus entéricos tales como VHA y norovirus (Crocì et al 2005; Serraca et al 2009; Baggi et al 2001; Amri et al 2011)

## BIBLIOGRAFÍA

- Amri I, Hmaïed F, Loisy F, Lebeau B, Barkallah I, Saidi M, Slim A (2011). Détection du virus de l'hépatite A dans les coquillages en Tunisie par reverse transcription-nested PCR - recherche de corrélation entre la contamination virale et bactérienne. *Pathologie Biologie* 59: 217-221.
- Atmar RL, Estes MK (2001). Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human calicivirus. *Clin Microbiol Rev* 14: 15-37.
- Baggi F, Demarta A, Peduzzi R (2001). Persistence of viral pathogens and bacteriophages during sewage treatment: Lack of correlation with indicator: Lack of correlation with indicator bacteria. *Res Microbiol* 152: 743-751
- Bosch A, Guix S, Sano D, Pintó RM (2008). New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water. *Current Opinion in Biotechnology* 19: 295-301.
- Chironna M, Lopalco P, Prato R, Germinario C, Barbuti S, Quarto M (2004). Outbreak of infection with hepatitis A virus (HAV) associated with a foodhandler and confirmed by sequence analysis reveals a new HAV genotype IB variant. *J Clin Microbiol* 42: 2825-8.
- Crocì L, De Medici D, Scalfaro C, Fiore A, Divizia M, Donia D, et al (2000). Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages and *Escherichia coli* in Adriatic Sea mussels. *J App Microbio* 88: 293-296.
- Crocì L, De Medici D, Di Pasquale S, Toti L (2005). Resistance of hepatitis A virus in mussels subjected to different domestic cookings. *Int J Food Microbiol* 105: 139-144.
- Crocì L, Losio M, Suffredini E, Pavoni E, Di Pasquale S, Fallacara F, Argcangeli G (2007). Assessment of human enteric viruses in shellfish

- from the northern Adriatic sea. *Int. J. Food Microbiol* 114: 252-257.
- Deloince R, Leveque F, Crance JM, Trepo C (1994). *Épidémiologie de l'hépatite virale A. Gastroenterol Clin Biol* 18: 354-361.
- Espigares García M (2006). Virus en aguas de consumo. *Higiene y Sanidad Ambiental* 6: 173-189.
- Glass RI, Noel J, Ando T, Fankhauser RL, Belliot G, Mounts A, Parashar UD, Bresee JS, Monroe SS (2000). The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J Infect Dis* 181: 254-261.
- Khan Z, Huycke M, Wills T, Jaworski M (2010). Norwalk Virus. *Medscape Infectious Diseases* 9: 1742-1751.
- Koopmans M, Von Bonsdorff CH, Vinjé J, De Medici D, Monroe S (2002). Foodborne viruses. *FEMS Microbiology Reviews* 26: 187-205.
- Le Guyader FS, Neill FH, Estes MK, Monroe SS, Ando T, Atmar RL (1996). Detection and analysis of a small round-structured virus strain in oysters implicated in an outbreak of acute gastroenteritis. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 4268-4272.
- Le Guyader FS, Krol J, Ambert-balay K, Ruvoen-Clouet N, Desaubliaux B, Parnaudeau S, Le Saux JC, Ponge A, Pothier P, Atmar RL, Le Pendu J (2010). Comprehensive analysis of a norovirus-gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *J Clin Microbiol* 48: 915-920.
- Pothier P, Atmar RL, Le PJ (2010). Comprehensive analysis of a norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *Journal of Clinical Microbiology* 48: 915-920.
- Lees D (2000). Viruses and bivalve shellfish. *Int J Food Microbiol* 59: 81-116.
- L'Homme Y, Sansregret R, Plante-Fortier E, Lamontagne AM, Ouadani M, Lacroix G, Simard C (2009): Genomic characterization of swine caliciviruses representing a new genus of Caliciviridae. *Virus Genes* 39: 66-75.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (2006). *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. 6ª ed. Elsevier. Madrid. España.
- Murchie LW, Cruz-Romero M, Kerry JP, Linton M, Patterson MF, Smiddy M, Kelly AL (2005). High pressure processing of shellfish: A review of microbiological and other quality aspect. *Innovat Food Sci Emerg Tech* 6: 257-270.
- Kelly A L (2005). High pressure processing of shellfish: a review of microbiological and other quality aspects. *Innovat Food Sci Emerg Tech* 6: 257-270.
- Myrmel EMM, Berg E, Rimstad A, Grinde B (2004). Detection of enteric viruses in shellfish from the Norwegian coast. *Appl Environ Microbiol* 70: 2678-2684.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2010). *Depuración de bivalvos: aspectos fundamentales y prácticos* de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma 2010.
- Parashar U, Quiroz ES, Mounts AW, Monroe SS, Fankhauser RL, Ando T, Noel JS, Bulens SN, Beard SR, Li JF, Bresee JS, Glass RI (2001). Centers for Disease Control and Prevention. Norwalk-like viruses: public health consequences and outbreak management. *MMWR*, 50 (RR-9):1-17.
- Pintó RM, Saiz JC (2007). Enteric hepatitis viruses. In: Bosch A, editor. *Human. Viruses in Water*. Amsterdam: Elsevier B.V; 39-67
- Real Decreto 308/1993, de 26 de febrero, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria que fija las normas aplicables a la comercialización de moluscos bivalvos vivos. *B.O.E.* de 30 de marzo de 1993.
- Real Decreto 571/1999, de 9 de abril, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria que fija las normas aplicables a la producción y comercialización de moluscos bivalvos vivos. *B.O.E.* de 10 de abril de 1999.
- Reglamento (CE) N° 853/2004 del parlamento europeo y del consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L 139/55.
- Reglamento (CE) N° 854/2004 del parlamento europeo y del consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L 139/206.
- Reglamento (CE) N° 2074/2005 de la comisión, de 5 de diciembre de 2005, por el que se establecen medidas de aplicación para determinados productos con arreglo a lo dispuesto en el Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y para la organización de controles oficiales con arreglo a lo dispuesto en los Reglamentos (CE) N° 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y (CE) N° 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, se introducen excepciones a lo dispuesto en el Reglamento (CE) N° 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y se modifican los Reglamentos (CE) N° 853/2004 y (CE) N° 854/2004. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L 338.
- Ribes Fernández JM, Buesa Gómez J (2010). Infecciones por Norovirus. *Enferm Infecc Microbiol Clín* 28: 51-55.
- Rodrigo A, Tomás Cobos L, Mellado E, Tomás D (2007). Virus entéricos en alimentos. Incidencia y métodos de control. *Seguridad Alimentaria* 82-86.
- Serracca L, Verani M, Battistini R, Rossini I, Carducci A, Ercolini C (2009). Evaluation of Adenovirus and E. coli as indicators for human enteric viruses presence in mussels produced in

- La Spezia Gulf (Italy) Letters in Applied Microbiology **50**: 462-467.
- Shieh YC, Wong CI, Krantz JA, Hsu FC (2008). Detection of naturally occurring enteroviruses in waters using direct RT-PCR and integrated cell culture-RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 149: 184–189.
- Tsan-Yuk Lam T, Zhu H, Smith DK, Guan Y, Holmes EC, Pybus OG (2012). The recombinant origin of emerging human norovirus GII.4/2008: intra-genotypic exchange of the capsid P2 domain. *J Gen Virol* 10:1099.
- Uhrbrand K, Myrnelb M, Maunulac L, Vainiod K, Trebbiena R, Norruna B, Schultz AC (2010). Evaluation of a rapid method for recovery of norovirus and hepatitis A virus from oysters and blue mussels. *Journal of Virological Methods* 169: 70–78.
- Umesha KR, Bhavani NC, Venugopal MN, Karunasagar I, Krohne G, Karunasagar I (2008). Prevalence of human pathogenic enteric viruses in bivalve molluscan shellfish and cultured shrimp in south west coast of India. *International Journal of Food Microbiology* 122: 279–286.
- World Health Organization (1995). Public health control of hepatitis A: Memorandum from a WHO meeting. *Bull WHO* 73: 15–20.
- Xerry J, Gallimore CHI, Iturriza-Gomara M, Allen DJ, Gray JJ (2008). Transmission events within outbreaks of gastroenteritis determined through analysis of nucleotide sequences of the P2 Domain of Genogroup II Noroviruses. *J Clin Microbiol* 46: 947-953.