

VIGILANZA VETERINARIA SUI PRODOTTI A BASE DI CARNE ALLE SOGLIE DEL TERZO MILLENNIO

ROSMINI R.

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale
Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Bologna*

INTRODUZIONE

Prima di affrontare le problematiche poste dalla vigilanza veterinaria sui prodotti a base di carne occorre ricordare il controllo della materia prima e cioè la carne, anche perché queste giornate di studio hanno luogo nella zona della chianina, razza "suprema", che dalla Valdichiana si è diffusa in tutto il mondo. I bovini di tal razza, produttori di carne dalle ottime caratteristiche organolettiche, sono stati, infatti, esportati in diversi paesi quali Brasile, Argentina, Canada, Inghilterra, Australia e Nuova Zelanda. Scopo di questo lavoro è quindi quello di seguire la filiera produttiva dei prodotti a base di carne cercando di illustrare i compiti dei produttori e della vigilanza veterinaria, alla luce della normativa vigente, al fine di immettere sul mercato prodotti salubri e di qualità.

La vigilanza veterinaria si attua quindi sia negli allevamenti, nei quali vengono controllate l'alimentazione e la salute degli animali, sia nella fase di macellazione degli stessi. A questo proposito occorre ricordare i minuziosi esami previsti sugli animali in fase di macellazione dal D. Lgs. 286/94 già modificato dal D. M. 23-11-1995.

Dall'animale macellato e riconosciuto idoneo al consumo umano traggono origine i prodotti a base di carne la cui produzione e commercializzazione è regolamentata dal D. Lgs. 537/92.

I prodotti a base di carne comprendono, secondo il D. Lgs. 537/92, i prodotti ottenuti da carne o con carne sottoposta ad un trattamento tale che la superficie di taglio al centro permetta di constatare la scomparsa delle caratteristiche della carne fresca, i piatti cucinati a base di carne e cioè i prodotti a base di carne corrispondenti a preparazioni culinarie, cotte o precotte, confezionati e conservati mediante il freddo. Rientrano in questa categoria di prodotti numerosissimi alimenti ottenuti dalla carne e conservati con diversi metodi quali la cottura, l'affumicatura, la salatura in superficie e in profondità, la marinatura e l'essiccazione. Per ricordarne alcuni è sufficiente citare le carni in scatola, i prodotti di salumeria crudi e cotti freschi e stagionati, gli stracotti, i brasati...

Per la prima volta appare, nella normativa sopra citata, l'esigenza di offrire prodotti garantiti non solo da saltuari controlli di organi pubblici, ma anche da continui esami effettuati dai produttori in precisi momenti delle singole produzioni aziendali ben codificati dalle conoscenze scientifiche e documentati

per ogni singolo lotto di prodotto. Tale esigenza ha aperto la via per il cosiddetto "autocontrollo".

L'industria alimentare ha compreso l'utilità dell'autocontrollo nella produzione degli alimenti ben prima che precise norme sanitarie iniziassero a regolamentarne l'applicazione. Furono i produttori di carni lavorate che, a seguito di condanne penali motivate dal fatto che la presenza di batteri patogeni nel prodotto finito ravvisava una condizione di negligenza a livello di processo produttivo, sentirono la necessità di effettuare in proprio le analisi batteriologiche al fine di evitare l'immissione al consumo di carni macinate fresche, in particolare delle salsicce, che per la presenza di germi patogeni, ad esempio salmonelle, potessero risultare pericolose per il consumatore. (Stecchini *et al.*, 1972, Faccini e Furini, 1983 e 1985). Naturalmente si comprese subito che non era sufficiente analizzare solamente il prodotto finito, ma che era indispensabile controllare anche le materie prime, il personale addetto alla lavorazione e le attrezzature utilizzate per poter identificare i punti nei quali si verificava la contaminazione batterica e cercare quindi di controllarla con interventi di sanificazione. Apparve subito di estrema importanza anche la continuità dei controlli che oltre ad essere sistematici dovevano anche avere cadenza almeno settimanale, si intravedeva così il concetto di filiera e la necessità di un piano di controllo durante il processo produttivo e non solo sul prodotto finito.

Iniziarono così le prime applicazioni del **sistema HACCP** che in seguito è stato posto come **principio basilare dell'autocontrollo** da parte della normativa comunitaria e quindi nazionale (Giaccone e Ferri, 1995).

L'autocontrollo nella vigilanza veterinaria

I principi sui quali si fonda l'autocontrollo sono, in gran parte, gli stessi che sostengono il sistema **HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point)**, sistema per il controllo preventivo nella produzione degli alimenti che ha incominciato a svilupparsi nel 1959 in seguito alle esigenze che la NASA (National Aeronautics Space Agency) aveva di produrre alimenti estremamente sicuri per gli occupanti delle navicelle spaziali (Bauman, 1994; Adams, 1994).

I principi del sistema HACCP, codificati negli Stati Uniti (USA) dal Comitato nazionale consultivo per i criteri microbiologici degli alimenti, possono essere così riassunti.

Principio 1

Identificazione dei rischi che possono essere associati a tutti i momenti della produzione alimentare: dall'ottenimento delle materie prime alla loro lavorazione, confezionamento e distribuzione, senza trascurare, al termine della filiera produttiva, la preparazione e il consumo dei singoli alimenti.

Principio 2

Determinazione dei punti critici; ovvero occorre individuare i punti, le procedure di lavorazione o i momenti operativi che devono essere controllati per eliminare o diminuire i rischi. (Punti critici di controllo. CCP). Se il controllo del

punto critico elimina il rischio il CCP è detto **CCP1**, se invece diminuisce solo la probabilità del rischio il CCP è detto **CCP2**.

Principio 3

Stabilire i **limiti critici** che debbono essere rispettati per controllare i CCP.

Principio 4

Identificare un **sistema di monitoraggio** che permetta il controllo dei CCP.

Principio 5

Mettere a punto le **azioni correttive** da effettuarsi quando il monitoraggio evidenzia punti critici fuori controllo.

Principio 6

Stabilire i **metodi di verifica** a conferma della validità del sistema HACCP analizzando la documentazione ottenuta dagli esami fisici, chimici, batteriologici e sensoriali eseguiti nei CCP e sul prodotto finito.

Occorre subito precisare che la messa a punto del sistema HACCP per la filiera produttiva di un determinato prodotto non può essere fatta a priori, ma occorre analizzare sempre sul posto il processo di produzione di ogni alimento. Non esiste quindi la possibilità di confezionare dei sistemi HACCP standard che siano idonei per il controllo di catene di produzione anche simili.

Con l'avvento dell'autocontrollo nell'industria alimentare si è sempre più allargata l'applicazione del sistema HACCP che, orientato inizialmente al controllo di rischi microbiologici, è stato utilizzato in seguito anche per controllare inconvenienti di tipo fisico-chimico oppure modificazioni delle caratteristiche organolettiche degli alimenti (Paparella, 1993).

A completamento dell'autocontrollo è indispensabile estendere il concetto di controllo dei CCP a livello degli operatori della catena alimentare, curando, inoltre, la loro formazione al fine di assicurare che vengano seguite le buone pratiche di produzione e distribuzione. Il rispetto delle buone pratiche di laboratorio risulta indispensabile poi per gli Istituti di analisi che sostengono i vari piani HACCP (Comi *et al.*, 1995).

L'autocontrollo nella vigilanza veterinaria sugli alimenti carnei

L'autocontrollo, eseguito spontaneamente da alcuni produttori allo scopo di salvaguardare il marchio della ditta, è stato recepito abbastanza recentemente dalla legislazione sanitaria.

Sono state emanate, infatti, norme generali, come la direttiva 93/43 CEE sull'igiene dei prodotti alimentari, e provvedimenti legislativi più specifici che hanno introdotto l'autocontrollo nel settore degli alimenti carnei. Si ricorda per le carni fresche, dei classici animali da macello, il D. Lgs 286/94, modificato dal

D.M. 23-11-1995, per le carni fresche dei volatili da cortile il D.P.R. 503/82, modificato dal D.P.R. 193/88, per le carni macinate e le preparazioni di carne il D.P.R. 227/92, per i prodotti a base di carne il D. Lgs 537/92 e per le carni di selvaggina uccisa la direttiva 92/45 CEE. Per le carni di conigli e di selvaggina d'allevamento nel D.P.R. 559/92 non vi è un preciso riferimento all'autocontrollo, ma si rimanda alla normativa riguardante le carni dei volatili da cortile.

Non sono state emanate ancora precise disposizioni riguardanti l'autocontrollo in settori a rischio, per possibili tossinfezioni alimentari, quale quello della ristorazione collettiva, tuttavia è indubbio che ormai tale procedimento di controllo diventerà sempre più una realtà in tutto il comparto alimentare, visto che già nella stessa ristorazione collettiva il servizio veterinario ha le basi teoriche per poter eseguire la vigilanza cercando di utilizzare il sistema HACCP (Taubert, 1982).

Gli obiettivi che l'autocontrollo si propone sono diversi, ma due sono i principali. Il primo, anche per importanza, è prettamente sanitario, ovvero garantire, con un piano di controllo preventivo, come previsto dalla normativa, alimenti salubri al fine di evitare le tossinfezioni alimentari. Il secondo obiettivo, di natura più politica, è quello di conferire al produttore il compito del controllo preventivo stesso. Questo si è reso indispensabile in seguito allo sviluppo sempre più massiccio dell'industria alimentare che non permette più di sostenere l'ispezione e la vigilanza esclusivamente con controlli del servizio veterinario delle U.S.L. che risultano purtroppo saltuari, di solito terminali e quindi non sempre efficaci, almeno sul piano della prevenzione. Per questo motivo si è ritenuto che la responsabilizzazione del produttore per il tramite dell'autocontrollo porterà all'immissione al consumo di alimenti sempre più sicuri dal punto di vista sanitario. Il produttore di conseguenza ottiene un evidente guadagno d'immagine, infatti altro obiettivo, non ricordato dalla normativa per l'autocontrollo, ma che si tende ad ottenere con l'applicazione del sistema HACCP è il raggiungimento della **qualità totale**.

Chiaramente il fatto di riconoscere per legge l'autocontrollo non vuole dire ridurre il compito che il servizio veterinario deve svolgere nell'ispezione degli alimenti di origine animale, al contrario, con un efficace **controllo dell'autocontrollo** verrebbe sicuramente valorizzata la vigilanza veterinaria con una notevole diminuzione delle principali tossinfezioni alimentari trasmesse dal consumo di carne e da prodotti a base di carne.

L'obiettivo di produrre alimenti salubri è stato da sempre alla base dell'ispezione veterinaria. Da tempo sono conosciuti i problemi posti dal botulismo, dalle salmonellosi, dalla trichinellosi, ed anche da forme virali come quella sostenuta dal virus dell'epatite tipo A (Ahmed, 1992). Il servizio veterinario si è però dedicato anche ad altri patogeni che, ora come vecchie conoscenze, ora come patogeni emergenti, hanno determinato delle difficoltà nella produzione, commercializzazione, distribuzione, preparazione e consumo degli alimenti di origine animale. E' sufficiente ricordare *S. aureus*, *C. perfringens*, *B. cereus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholera*, *E. coli*, Yersinia, Listeria, Shigella (Lechowich, 1992).

Gran parte dei patogeni emergenti nel settore alimentare vanno ricercati tra i microrganismi che sono riusciti a sopravvivere e a moltiplicarsi nonostante

la presenza della **catena del freddo**. Come l'utilizzo del freddo ha evidenziato patogeni prima poco conosciuti, così le sempre più sofisticate **tecniche d'allevamento** degli animali hanno messo di fronte l'ispezione veterinaria a problematiche conseguenti l'impiego di nuove molecole sia ad azione terapeutica che anabolizzante. Recentemente è balzata sulle tavole dei consumatori anche la psicosi della "**vacca pazza**"; con questa denominazione si fa riferimento ad una malattia a decorso irreversibile e a eziologia non completamente chiarita, trasmessa da ovini e caprini ai bovini per mezzo di mangimi contenenti proteine ovi-caprine. Le esigenze della zootecnia per sempre maggiori produzioni di carne e latte hanno, infatti, portato alla preparazione di mangimi per bovini, ma anche per altre specie animali, partendo da tessuti di pecore e capre in alcuni casi ammalate o portatrici di una sindrome ben conosciuta la "scrapie", con la conseguente trasmissione della malattia al bovino. In questi animali la malattia, descritta per la prima volta in Gran Bretagna negli anni 1985-86 e denominata encefalopatia spongiforme (Bovine spongiform encephalopathy - BSE), presenta una grave sintomatologia nervosa ad esito sempre letale. Altro problema per la vigilanza veterinaria è quindi dato dal controllo di queste patologie al fine di impedire la loro possibile trasmissione all'uomo. Si ricorda che negli umani è descritta una malattia simile alla BSE e denominata sindrome di Creutzfeldt-Jacob, ancora non correlata con certezza alle patologie similari riscontrate negli animali da macello e che fortunatamente per ora ha una incidenza bassissima, circa un caso su un milione (Marsh, 1993; Wilesmith, 1993; Smith e coll., 1995; Clark e coll., 1995).

Anche l'**ambiente** ha offerto con il passare del tempo nuovi motivi di ricerca nel campo ispettivo; sempre maggiori sono risultate le possibilità che negli alimenti residuassero, ad esempio, molecole di fitofarmaci, metalli pesanti ed altri inquinanti quali, ad esempio, le micotossine. Infine i produttori con l'utilizzo degli additivi alimentari per fini diversi, conservante, antiossidante, stabilizzante, addensante e colorante, hanno contribuito non poco ad aumentare le sostanze chimiche, non sempre gradite al consumatore, nel prodotto finale.

E' indubbio che la vigilanza veterinaria, a fronte sia dei rischi microbiologici che del pericolo di residui di sostanze indesiderate negli alimenti e a seguito della loro sempre maggiore produzione e rapida commercializzazione, non poteva assicurare interventi tempestivi e quindi efficaci soprattutto a livello di controllo preventivo.

L'autocontrollo è diventato, quindi, indispensabile.

Anche dal punto di vista di una politica ispettiva, volta a salvaguardare sia l'immagine del produttore che la salute del consumatore, l'introduzione dell'autocontrollo porterà sicuramente al miglioramento dell'ispezione dei prodotti alimentari. I produttori lungimiranti hanno già da tempo intuito la funzione del sistema HACCP finalizzato al raggiungimento della **qualità totale** degli alimenti con il **controllo del processo** e la **verifica del prodotto**. Non è facile definire un alimento di qualità totale, tuttavia si può affermare che, di solito, risponde a questo requisito l'alimento che soddisfa tutti, produttori e consumatori.

Nell'applicazione dell'autocontrollo sarà facile convincere i produttori dimostrando i vantaggi che ne deriveranno, mentre più difficile sarà applicare correttamente i principi del sistema HACCP per ogni filiera produttiva

(Christian, 1994). **Identificare i rischi, determinare i punti critici, stabilire i limiti critici per il controllo dei CCP, impiantare il monitoraggio dei CCP, indicare le azioni correttive sui CCP fuori controllo, stabilire le verifiche sulla documentazione acquisita con le indagini fisiche, chimiche, microbiologiche e sensoriali effettuate.** Basti pensare che già con la legge 283, del 30 aprile 1962, è iniziato il cammino della determinazione di **standard microbici e dei livelli di residui di sostanze indesiderate** negli alimenti, che è risultato subito pieno di difficoltà. A tutt'oggi per molti alimenti non vi sono standard microbici né per molte molecole vi sono livelli di accettabilità, molti di questi non si avranno mai, quelli già stabiliti tendono ad essere modificati al rialzo e questo avviene, per ovvi motivi, soprattutto per quanto riguarda i contaminanti ambientali.

Tale situazione d'incertezza non favorisce sicuramente l'applicazione del sistema HACCP. Alcuni esempi sono sufficienti per illustrare il problema. La presenza di **sostanze anabolizzanti** negli alimenti troverà risoluzione con il sistema HACCP? Sicuramente no. Si discute ancora su vecchie molecole ad **azione estrogena o androgena** e già sono utilizzate nuove sostanze ad azione **beta-agonista** o nuovissimi **prodotti a base di cromo**. Sarà facile identificare il rischio cromo, stabilire i punti critici e determinare i limiti per il loro controllo? Questi dubbi valgono per molte altre sostanze indesiderate.

Che dire poi delle cariche microbiche? Vi sono incertezze sui valori limite da assegnare anche a certi germi considerati patogeni a maggior ragione vi sono difficoltà nell'individuare limiti critici di cariche microbiche totali o di enterobatteri o di patogeni minori in prodotti alimentari quali carni trite, preparazioni di carni e i prodotti a base di carne.

Con la diffusione nei ruminanti da macello di encefalopatie sostenute da agenti infettanti non convenzionali denominati **prioni**, come si è verificato in Gran Bretagna con la malattia della "**vacca pazza**", appare evidente l'estrema difficoltà in cui viene a trovarsi la vigilanza veterinaria nell'identificare i rischi e nel determinare i punti critici e cioè le procedure di lavorazione per diminuire o eliminare i rischi. Quando non si conosce bene l'agente patogeno per quanto riguarda, ad esempio, le possibilità della sua trasmissione da un animale all'altro o dall'animale all'uomo diventa difficile identificare i rischi e se l'agente eziologico è dotato anche di notevole resistenza al calore, a sostanze chimiche ad azione disinfettante o a additivi alimentari ad azione conservante, come sembra essere il prione, diventa problematico stabilire i punti critici ovvero i metodi da utilizzare per rendere il prodotto alimentare idoneo al consumo umano.

Un inconveniente dell'autocontrollo, con il metodo HACCP, potrebbe emergere nel portare a termine il monitoraggio per il controllo dei CCP. Ovviamente se tale **monitoraggio** non è **sistematico** produce una notevole diminuzione dell'efficacia dell'autocontrollo.

Non vi sono invece troppe difficoltà nello stabilire l'azione correttiva nel caso in cui i CCP vadano fuori controllo, questo grazie ai livelli raggiunti dalla moderna tecnologia alimentare.

Un discorso a parte meritano i CCP, suddivisi in CCP1, quando un intervento in quel punto elimina completamente il rischio, e CCP2, quando pur intervenendo in quel punto non si riesce ad eliminare totalmente il rischio.

Esaminando i CCP in un qualsiasi processo produttivo si osserva che i CCP1 sono pochi e si identificano con l'applicazione del freddo, oppure con l'applicazione del calore, o con la stagionatura prolungata. E' quindi evidente che il sistema HACCP non ha evidenziato nulla di nuovo nella conservazione degli alimenti, ma ha applicato principi conosciuti da centinaia di anni. Il **merito dell'HACCP** è stato quello di far sentire ai produttori l'esigenza di un **continuo monitoraggio** sulla filiera produttiva con la gestione corretta dei CCP1. Questo però non faccia pensare che i CCP2 non siano importanti, infatti senza il controllo continuo dei CCP2 i CCP1 possono diventare difficilmente gestibili. Tradotto in termini più intuitivi, se viene messa in scatola materia prima fortemente inquinata questa, al CCP1, e cioè nel momento dell'applicazione del calore, può risultare difficilmente sterilizzabile.

Occorre poi ricordare la complessità della messa a punto del sistema di autocontrollo in un qualsiasi processo produttivo (Comi *et al.*, 1995). Essa si evidenzia subito dall'esame di un **piano generale d'igiene**, e in modo particolare esaminando nel dettaglio l'**igiene del personale**. Lavarsi regolarmente, cambiare il vestiario, almeno settimanalmente, tenere le unghie corte, non portare braccialetti, orologi da polso o anelli durante la lavorazione, lavarsi le mani e disinfettarle regolarmente prima dell'inizio del lavoro, dopo ciascuna pausa, ma soprattutto dopo l'uso della toilette; asciugarsi le mani con asciugamani a perdere, indossare durante il lavoro vestiti idonei, puliti e con copricapo che riesca a contenere efficacemente la capigliatura. Sono questi **comportamenti elementari d'igiene** che, qualora non vengano scrupolosamente seguiti dal personale addetto alle filiere produttive, possono compromettere qualsiasi piano di autocontrollo. Anche solamente il sovraccarico di personale negli spogliatoi, si è dimostrato capace di portare una eccessiva carica batterica nell'ambiente di lavorazione con conseguenti problemi nell'autocontrollo. Saranno di aiuto nell'approntare i piani di autocontrollo l'utilizzo dei manuali di corretta prassi igienica, come previsto dalla circolare 28-7-1995, n. 21 del Ministero della Sanità, che avrà anche cura di adeguare, in breve tempo, la normativa riguardante l'autocontrollo nelle diverse filiere produttive.

Infine compito principale della vigilanza veterinaria alle soglie del terzo millennio sarà il **controllo dell'autocontrollo**, intendendo la verifica ufficiale dell'autocontrollo da parte del servizio veterinario da effettuarsi con il controllo della documentazione risultante dagli esami effettuati per l'autocontrollo e con eventuali esami supplementari.

Occorre ricordare al termine di questa analisi un punto critico che potrebbe costituire una nota particolarmente dolente: il **costo dell'autocontrollo**.

Applicare indiscriminatamente il sistema HACCP, individuando rischi ovunque con numerosi punti critici da tenere sotto continuo controllo, potrebbe far raggiungere costi di gestione non facilmente sopportabili dall'industria e nemmeno dal consumatore. Se l'autocontrollo non verrà eseguito da seri professionisti, esso finirà per creare solo una **parvenza di vigilanza**, inefficace, sia nel controllo delle più banali **tossinfezioni alimentari**, che nel supporto della futura e tanto auspicata **qualità globale**.

BIBLIOGRAFIA

1. Adams C. E. (1994) HACCP as applied in the USA. *Food control* 5 (3), 187.
2. Ahmed F. E. (1992) Review: assessing and managing risk due to consumption of seafood contaminated with micro-organisms, parasites, and natural toxins in the US. *International Journal of Food Science and Technology* 27, 243.
3. Bauman H.E. (1994) The origin of the HACCP system and subsequent evolution. *Food Science and Technology Today* 8 (2), 66.
4. Christian J. H. B. (1994) Problems with HACCP. *Food Australia* 46 (2), 81.
5. Circolare 28 luglio 1995, n. 21 del Ministero della Sanità. Disposizioni riguardanti le linee guida per l'elaborazione dei manuali volontari di corretta prassi igienica in materia di derrate alimentari. G. U. del 10-8-1995, serie generale, n. 186.
6. Clark W. W., Hourrigan J. L., Hadlow W. J. (1995) Encephalopathy in cattle experimentally infected with the scrapie agent. *Am. J. Vet. Res.*, 56(5), 606.
7. Comi G., Cantoni C., Duratti, G. (1995) Criteri generali per l'impostazione del controllo e ruolo del laboratorio di analisi nel contesto dell'autocontrollo. *Ingegneria alimentare* 1,7.
8. Faccini G., Furini M. (1983) Il problema della presenza di salmonelle nelle carni lavorate (insaccati freschi-salsicce) aspetti igienici e giuridici. *Industrie alimentari* 11, 825.
9. Faccini G., Furini M. (1985) Nuovi aspetti dell'inquinamento salmonellare di alcune carni fresche lavorate rilevati in salumifici e laboratori che effettuavano in proprio le analisi batteriologiche. *Industrie alimentari* 13, 15
10. Giaccone V., Ferri M. (1995) L'HACCP come sistema di autocontrollo. *Obiettivi e Documenti Veterinari* 6, 35 e 7/8, 31.
11. Lechowich R. V. (1992) Current concerns in food safety. *Acs Symposium series 484, Food safety assessment* 22, 233. American Chemical Society, Washington.
12. Marsh R.F. (1993) Bovine spongiform encephalopathy: a new disease of cattle? *Arch. Virol. Suppl.* 7, 255.
13. Paparella A. (1993) Autocontrollo e HACCP nell'industria di macellazione e sezionamento delle carni fresche. *Atti del II° Convegno nazionale A.I.V.I. Puglia Grafica*, pag. 93, Valenzano, Bari.
14. Smith P. E., Zeidler M., Ironside J. W., Estibeiro P., Moss T.H. (1995) Creutzfeldt-Jakob disease in a dairy farmer. *Lancet (letter)*, Sep. 30, 346(8979): 898.
15. Stecchini M., Cossa M. T., Caserio G., Mennella P., Patano C. (1972) Sulla sopravvivenza di salmonelle in carni macinate congelate di pollo e di bovino adulto. *Industrie alimentari* 2, 137.
16. Taubert C. A. (1982) Defining sanitation hazards and critical control points in foodservice operations. *Journal of foodservice systems* 2, 171.
17. Wilesmith J. W. (1993) Epidemiology of bovine spongiform encephalopathy and related diseases. *Arch. Virol. Suppl.*, 7, 245.