**Evaluación e implementación de metodología para la detección de virus de hepatitis E en muestras de carne y productos derivados**

Di Cola Guadalupe (1,2), Fantilli AC (1,2), Di Cola Gabriel (3), Rodríguez Lombardi G (4), Castro G (5), Mirazo S (6), Nates SV (1), Pisano MB (1,2), Ré VE (1,2)

(1) Instituto de Virología “Dr. J.M. Vanella”, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

(3) Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina; Laboratorio de Salud Animal, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

(4) Área Desarrollo de Productos y Procesos, Laboratorio de Hemoderivados, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

(5) Laboratorio Central, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba, Argentina.

(6) Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay; Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay.

Dirección de e-mail: Di Cola Guadalupe (guadalupedicola@gmail.com), Fantilli AC (anabellafantilli@gmail.com), Di Cola Gabriel (gdicola@gmail.com), Rodríguez Lombardi G (gonzalo.rodriguez@unc.edu.ar), Castro G (gonmcastro@gmail.com), Mirazo S (smirazo@fcien.edu.uy), Nates SV (snates@fcm.unc.edu.ar), Pisano MB (mbelenpisano@gmail.com), Ré VE (vivianare@fcm.unc.edu.ar)

RESUMEN

El virus de la hepatitis E (HEV) se transmite principalmente por las vías fecal-oral y zoonótica. Se ha descripto la transmisión alimentaria de genotipos zoonóticos (HEV-3 y HEV-4) a través del consumo de carne cruda o poco cocida de cerdo, jabalí, ciervo o productos derivados contaminados con el virus. Hasta la fecha han sido publicados pocos trabajos sobre detección del HEV en alimentos derivados porcinos, como salchichas, salames y patés, y las tasas de detección informadas en los mismos son variables. Esto se debe principalmente a que no existen protocolos estandarizados ni regulación oficial gubernamental (en ningún país) para la detección del HEV en carne o productos derivados, ni en pescado, y la mayoría de los estudios existentes no han determinado la eficiencia y sensibilidad de los métodos de detección aplicados. Los objetivos del presente estudio fueron: explorar metodologías de extracción y concentración viral involucradas en el procesamiento de muestras de carne; obtener protocolos confiables y reproducibles para la detección de HEV en muestras de alimentos utilizando un control interno exógeno de RNA (CI) y un transcripto de RNA-HEV para estandarizar y monitorear el proceso; e implementar la metodología seleccionada para el estudio de muestras de alimentos comercializados en nuestra región. Para ello, evaluamos en nuestro laboratorio condiciones experimentales pre-analíticas para la detección de HEV en matrices cárnicas seguidas por RT-PCR en tiempo real, optando por la combinación que mostró recuperación viral más elevada. Se probaron dos métodos mecánicos de disrupción de tejidos (ultra-turrax y mortero), dos soluciones para la homogeneización (PBS y TRIzol), y tres técnicas de extracción de ácidos nucleicos (TRIzol, columnas comerciales a base de sílice y perlas magnéticas), en tres tipos de carnes contaminadas artificialmente: carne de músculo de cerdo, pescado (salmón) y salame. Luego de la estandarización del protocolo, se procesaron muestras de salame obtenidas en mercados de Córdoba entre junio 2020 y marzo 2022 (n=67) y muestras de carne de cerdos destinados a la producción de alimentos embutidos (n=14). Se arribó a un protocolo final estandarizado (en el que se obtuvieron mejores porcentajes de recuperación) utilizando TRIzol y mortero como método de homogeneización y disrupción mecánica de los tejidos, seguido de extracción del RNA con columnas comerciales. En dicho protocolo, los porcentajes de recuperación en las muestras artificialmente contaminadas con transcripto RNA-HEV fueron 18,5% en salame, 26,3% en salmón y 34,1% para carne de cerdo, detectando adecuadamente el CI en todos los casos. Con este protocolo, todas las muestras colectadas a campo resultaron negativas. Los resultados muestran que el protocolo obtenido de detección molecular de HEV con CI es un método eficiente para el monitoreo de este virus en las tres matrices analizadas, que podría aplicarse en estudios destinados a evaluar el rol de estos alimentos como posible fuente de infección y contribuir en la prevención de su transmisión.

Palabras Clave: virus en alimentos, detección molecular, alimentos cárnicos