

IV

VIRUS TRANSMITIDOS POR LOS ALIMENTOS

Prof. Dr. D. JOSÉ TORMO IGUACEL
Universidad Complutense

VIRUS TRANSMITIDOS POR LOS ALIMENTOS

Prof. Dr. D. JOSÉ TORMO IGUACEL

En la mayor parte de los tratados de Microbiología de los Alimentos se concede muy poca atención a los virus transmitidos por los alimentos y esto se debe, en nuestra opinión, a tres hechos:

- a) La enorme desproporción entre los casos de enfermedades transmitidas por alimentos de etiología bacteriana y vírica.
- b) Los alimentos sólo representan un mero vehículo de transmisión para los virus, mientras que para las bacterias constituyen un sustrato con nutrientes para su multiplicación.
- c) Por las dificultades técnicas y repercusiones económicas que puede representar la realización de las metodologías dirigidas a la identificación de virus en alimentos.

A.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS VIRUS

Las partículas víricas tienen un tamaño comprendido entre 25 y 250 nm. Son agentes infectivos de estructura muy simple (ADN o ARN, cubiertos por la proteína del cápside).

Los virus transmitidos por alimentos suelen contener ARN (Ribovirus) constituido por una única cadena de nucleótidos. Además de la proteína que forma el cápside pueden estar presentes otras, de carácter enzimático, que intervienen en la replicación y, en ocasiones, la partícula vírica está rodeada de un material lipídico, que procede de la membrana citoplasmática de la célula hospedadora.

Los virus no cuentan con un sistema metabólico propio, obteniendo la energía precisa para su replicación de la célula invadida.

- a) **Replicación.** - El proceso comienza con la fijación de la partícula vírica a la superficie de la célula. La presencia de receptores homólogos en la membrana celular explica la especificidad del virus. Una vez en el interior de la célula se rompe la cubierta proteica y se librea el ARN viral. En esta fase el virus pierde su identidad, no es observable

por microscopía electrónica y se dice que está en fase de “eclipse”. Durante este período, el ARN viral produce ARN mensajero que ordena a la célula la síntesis de nuevas cadenas de ARN y de cubiertas proteicas. A continuación, tiene lugar el ensamblaje del ARN y de las cubiertas proteicas formadas para dar lugar a las partículas maduras. Estas lisán la célula (efecto citopático) y se liberan al exterior aunque, en otros casos, pueden permanecer en el interior de la célula sin romperla.

- b) **Infección a nivel celular.**- Aunque los virus son capaces de lisar la célula, en otras muchas ocasiones, los elementos infectados recuperan sus funciones normales. Otro resultado de la acción del virus puede ser la activa proliferación celular con formación de neoplasias (virus oncocéntricos).
- c) **Infección a nivel orgánico.**- El virus que primariamente se ha repliado en un determinado tejido u órgano (tropismo primario) es transportado por vía linfática y hemática a otros territorios orgánicos (tropismo secundario), donde da lugar a la sintomatología específica (como ocurre, por ejemplo, con el virus de la hepatitis A).

El organismo responde produciendo anticuerpos circulantes (Ig M e Ig G) o locales (Ig A), que evitan posteriores infecciones por el mismo virus. De ahí el éxito que, en general, tienen los programas de vacunación frente a estos microorganismos.

B.- RICKETTSIAS Y PRIONES

Las *rickettsias* son bacterias pero se estudian junto a los virus por ser también parásitos obligados, así como por el hecho de precisar procedimientos de laboratorio para su diagnóstico bastante similares. Son microorganismos de mayor tamaño que los virus, provistos de pared celular, contienen ADN y ARN, se multiplican por fisión binaria y son sensibles a los antibióticos.

Coxella burnetti es una rickettsia que produce la denominada fiebre Q. Puede ser excretada por la leche de vaca y oveja, y producir infecciones en personas.

Prusiner (1982) consiguió aislar de la sustancia amiloide de individuos que habían padecido demencia presenil (enfermedad de Creutzfeldt-Jacob) unas proteínas de bajo peso molecular (27.000-30.000) no antigenéticas, que denominó **priones**. Hoy día se considera que el carácter infectivo de estas proteínas se debe a un cambio estructural en la cadena aminoacídica.

En animales se ha descrito el “*scrapie*” o prurito lumbar de las ovejas y la encefalitis espongiforme bovina o enfermedad de las “vacas locas”, como procesos degenerativos con posibilidad de ser transmitidos al hombre por el consumo de productos cárnicos con restos de tejido nervioso. Ello ha dado lugar, en la actualidad, a toda la serie de problemas, a nivel nacional y de la Unión Europea, en relación con el comercio de productos cárnicos y con las medidas preventivas y de erradicación de la enfermedad que los medios de comunicación se han encargado de difundir ampliamente.

C.- TRANSMISIÓN ENTRE HOSPEDADORES

La penetración del virus se efectúa preferentemente a través de las mucosas digestiva y respiratoria o de la piel. La transmisión de los virus entéricos tiene lugar, sobre todo, por las heces que contaminan manos, objetos, aguas y alimentos; los virus respiratorios por gotitas de Flüger al toser o estornudar, y los que lo hacen a través de la piel, por inyecciones o artrópodos.

En la transmisión por fómites y por alimentos es importante el grado de estabilidad del virus, y en cualquier caso, el nivel de inmunidad de las poblaciones susceptibles.

D.- ENFERMEDADES VÍRICAS HUMANAS ASOCIADAS CON ALIMENTOS

En la Tabla 1, se relacionan los virus implicados en procesos de estas características.

Los **Adenovirus** son agentes de gran estabilidad, dan lugar a afecciones oculares y respiratorias y sólo con carácter ocasional, se han aislado en casos de diarrea infantil.

Recientemente se han observado **Coronavirus** en heces de individuos con diarrea, aunque su acción patógena se desarrolla, preferentemente, en vías respiratorias superiores.

Los **Reovirus** se han aislado en procesos respiratorios y entéricos, aunque en realidad no se conoce con certeza si producen enfermedades en el hombre, por lo que se les ha calificado de “virus huérfanos”.

Los **Rotavirus** del grupo A dan lugar a gastroenteritis en lactantes y niños, sobre todo si no han recibido lactancia materna. Los Rotavirus de los grupos B y C se han relacionado también con procesos diarreicos en niños y adultos.

Al parecer, el agua sería un vehículo de transmisión más peligroso que los alimentos.

Los **Parvovirus** son virus de pequeño tamaño que pueden dar lugar a la parvovirosis fecal, entre otros procesos patógenos que afectan al hombre.

El género **Enterovirus** está constituido por toda una serie de especies y serotipos que ingresan en el organismo humano por vía digestiva y se eliminan por heces. Integrados en este género se encuentran los **Poliovirus** que presentan los serotipos 1, 2 y 3. Ya en 1914 se demostró que la poliomielitis se podía transmitir por la ingestión de leche cruda. La pasterización sistemática de la leche y los programas de vacunación infantil han terminado prácticamente con esta enfermedad. Los cuadros con síntomas gastroenteríticos se consideran como poliomielitis abortivas o formas menores.

Los virus **Coxsackie A** y **Coxsackie B** presentan en el hombre unos cuadros clínicos muy variados (faringitis, exantemas, mialgias, encefalomielitis, etc) pero no formas digestivas, aunque como todos los enterovirus se pueden encontrar en heces.

Los virus **ECHO** se han aislado de diarreas infantiles, aunque también se consideran "virus huérfanos" por desconocerse con certeza su acción patógena.

Los **Enterovirus 68-71** se han identificado de muy diferentes cuadros clínicos y pos su vía de entrada (oral) tendrían, al igual que los demás enterovirus, posibilidades de ser transmitidos por los alimentos.

El **Enterovirus 72** es el agente causal de la **hepatitis A** o hepatitis infecciosa y se transmite por vía fecal-oral. Los brotes epidémicos de mayor entidad son de origen hídrico o alimentario. Tiene un período de incubación de 10-50 días con una media de 28 días. Tras una etapa con anorexia, astenia y fiebre de 37-38°C aparece la ictericia y la hepatomegalia. El cuadro evoluciona favorablemente y son raras las complicaciones. No se ha descrito en la hepatitis A el cuadro de portador crónico. La **hepatitis E** está producida por un virus de ARN monocatenario con un tamaño de 32-34 nm que algunos autores relacionan con los Calicivirus. La sintomatología y pronóstico es similar a la hepatitis A, con la excepción de las mujeres gestantes en las que es de carácter más grave. Es de tipo epidémico y, generalmente, transmitido por aguas y alimentos en áreas geográficas de escasas condiciones higiénicas.

Los **Astrovirus** contienen un ARN monocatenario y un tamaño de 28-30 nm con una estructura superficial típica en estrella de 5 ó 6 puntas.

Los **Calicivirus** son virus de pequeño tamaño con estructura y ARN similares a los anteriores.

F.- ZOONOSIS ASOCIADAS CON ALIMENTOS PRODUCIDAS POR VIRUS O MICROORGANISMOS PRÓXIMOS

- a) **Transmisibles al hombre:** El agente etiológico de la encefalitis transmitida por garrapatas es un Arbovirus que tiene como reservorios a roedores y cabras y como vectores a garrapatas del género *Ixodes*. La infección no sólo puede producirse por picadura del artrópodo, sino también por el consumo de leche de cabra. Su distribución geográfica se concreta a Europa Central y antigua Unión Soviética.

Chlamydia psittaci es un patógeno primario de aves (loros, periquitos y pavos, con más frecuencia) que puede infectar al hombre, de forma ocasional, por vía digestiva y respiratoria (psitacosis). Afecta sobre todo a profesionales y operarios que manejan aves.

La *fiebre Q* es una enfermedad producida por una rickettsia del ganado vacuno y ovino (*Coxiella burnetti*). Puede transmitirse a través de artrópodos vectores, por vía respiratoria y también por consumo de leche cruda procedente de vacas y ovejas contaminadas. Es el agente más termorresistente de los transmitidos por la leche por lo que se utiliza como control del tratamiento térmico de la leche.

- b) **No transmisibles al hombre:** Constituyen enfermedades víricas de gran interés veterinario e importancia económica entre las que podríamos citar la glosopeda, la peste bovina, la enfermedad de Newcastle, la enfermedad vesicular porcina y la peste porcina africana, entre otras.

También en carne, leche y huevos pueden detectarse virus oncogénicos de origen animal como los de la leucosis aviar y bovina, así como en granos de cereales contaminados con orina de roedores con virus del poliomielitis. Afortunadamente estos agentes víricos no son patógenos para el hombre.

G.- ALIMENTOS IMPLICADOS

Los **moluscos bivalvos** (ostras, almejas, berberechos y mejillones) constituyen la fuente de contaminación más importante de las infecciones por virus de la hepatitis A y SRSVs. Ello obedece a las siguientes circunstancias:

- Las aguas en que se recogen o cultivan estos moluscos están, en muchas ocasiones, contaminadas con heces humanas y materia orgánica.
- El molusco filtra grandes volúmenes de agua y retiene los virus y bacterias presentes que la contaminan.
- Se suelen consumir crudos o insuficientemente cocinados.
- Los procesos de depuración obligatorios para estos moluscos no garantizan la eliminación total de los agentes infectivos.

Como se ha señalado con anterioridad, las frutas y hortalizas pueden ser contaminadas a partir del suelo, aguas de riego y manipuladores. La supervivencia de algunos virus en productos vegetales es, en general, bastante prolongada. El consumo de lechugas, rábanos, zanahorias, etc., en forma de ensalada, tiene especial interés al ser productos que se ingieren en crudo. Asimismo se han registrado brotes por SRSVs y hepatitis A por consumo de macedonia de frutas, melón, fresas y frambuesas.

El **agua**, especialmente en los países con bajas condiciones sanitarias, es el vehículo más importante en la transmisión de enfermedades virales y bacterianas. Incluso en países desarrollados con abastecimientos de aguas controlados se producen, a veces, accidentes o deficiencias que permiten la supervivencia de los microorganismos procedentes de las contaminaciones fecales. En los EE.UU. y en Europa se han registrado brotes importantes de origen hídrico por SRSVs y, de menor entidad, por virus de la hepatitis A.

La **leche y los productos lácteos** se asociaron con la presentación de brotes de poliomielitis hoy día erradicados. No obstante, la utilización de productos no pasterizados o la recontaminación de los mismos, a partir de manipuladores, sigue siendo un peligro potencial que debe ser valorado.

Otros alimentos como los sandwiches y productos de pastelería, así como los que requieren una manipulación importante también se han implicado en brotes transmitidos por SRSVs.

H.-INACTIVACIÓN EN LOS ALIMENTOS

A diferencia de las bacterias los virus no pueden replicarse en los alimentos, aunque pueden mantener su estabilidad y capacidad infectiva durante períodos de tiempo bastante amplios (Tabla 3). En general podemos admitir que la supervivencia es inversa a la **temperatura**. Se alarga en los alimentos refrigerados o congelados pero se anula rápidamente por cocción o incluso, a temperatura ambiente, los virus terminan por perder su efectividad. Temperaturas

a 90°C durante 90 segundos son suficientes para afectar a la estructura de los ácidos nucléicos y de la cubierta proteica de virus de la hepatitis A en moluscos bivalvos.

Las **radiaciones ionizantes** presentan diferentes grados de eficacia frente a los virus. Las ultravioletas tienen escaso poder de penetración, mientras que las radiaciones gamma (Co^{60}) consiguen, a dosis de 4,3 kGy (0,43 Mrad), grados de inactivación del 90%. También se ha comprobado este efecto mediante el tratamiento de los alimentos con **microondas**, aunque no se sabe si la inactivación de las partículas víricas se debe a efectos electromagnéticos, a la oscilación de las moléculas de agua o al calor producido.

El virus de la hepatitis A es menos estable a pH bajo que otros enterovirus e incluso se ha sugerido que puede ser inactivado en zumos de frutas y otros productos ácidos.

Determinados **desinfectantes** como los agentes oxidantes (cloro y ozono) son eficaces frente a virus. Los compuestos fenólicos o de amonio cuaternario son menos activos que cuando actúan contra bacterias. De todos ellos los más recomendables son los clorados, habiéndose comprobado que el ácido hipocloroso no disociado actúa más rápidamente que las formas combinadas como las cloraminas.

I.- DETECCIÓN DE VIRUS EN ALIMENTOS

Los virus del grupo Norwalk y en general los SRSVs no se replican en los cultivos celulares y los de la hepatitis A y E no lo hacen o sólo producen efectos imperceptibles. Algunos Astrovirus y Rotavirus sí dan lugar a lesiones citopáticas celulares, pero su incidencia en brotes de origen alimentario es bastante escasa. En consecuencia, las técnicas de cultivos celulares no se aplican en la detección de virus en alimentos.

La observación al **microscopio electrónico** tampoco sirve para diferenciar estructuralmente a los distintos tipos de virus que puedan estar presentes en los alimentos.

Los **métodos de base serológica** permiten obtener resultados más satisfactorios, ya que la detección del virus se lleva a cabo en función de la antigenicidad de su cubierta proteica, aunque la extremada pequeñez de la partícula (10^{-17} g, y no toda es proteína) y la necesidad de emplear antisueros monoespecíficos son dificultades prácticas que actualmente se están intentando subsanar.

La técnica de la **microscopía electrónica inmune** permite observar las partículas víricas interaccionadas con el anticuerpo mono o policlonal homólogo,

a través de reacciones en las que el elemento desconocido a identificar puede ser el antígeno (virus) o en anticuerpo (suero del enfermo o sospechoso).

Más aceptación tienen actualmente las **técnicas inmunoenzimáticas**, como la denominada ELISA que se ha aplicado también a la detección de virus en alimentos. Existen "kits" comerciales para la detección de Rotavirus pero no para la investigación de SRSVs, Astrovirus o virus de la hepatitis A en los que, al parecer, los resultados obtenidos no son demasiado fiables.

Basándose en la extremada especificidad de las secuencias de los ácidos nucléicos virales se han confeccionado **sondas de ácidos nucléicos complementarios** que se utilizan con fines diagnóstico. Para incrementar la sensibilidad se está utilizando en la actualidad la **reacción en cadena de la polimerasa** (RCP) que amplifica una porción seleccionada del genoma viral. En la Tabla 4 se resume una técnica de detección de virus en alimentos en la que una etapa está representada por la RCP.

Ya que la mayoría de los virus transmitidos por los alimentos proceden del intestino humano, parecería acertado utilizar, como **microorganismos indicadores**, *E. coli*, coliformes y estreptococos fecales. Sin embargo en la práctica no es así, fundamentalmente, por el hecho de que los microorganismos fecales, que se detectan en aguas y alimentos, no son sólo de origen humano sino también animal.

Algo similar ha ocurrido con la utilización de **colifagos** (virus que infectan a *E. coli*) como indicadores de virus entéricos. *E. coli*, como ya hemos señalado, se encuentra habitualmente en el intestino del hombre y animales por lo que la detección de colifagos en alimentos no se puede correlacionar significativamente con presencia de virus entéricos humanos.

J.- PREVENCIÓN DE LAS ENFERMEDADES VIRALES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Todas las medidas preventivas se centran naturalmente en evitar la contaminación de los alimentos a partir de heces humanas, bien a través de vías directas o indirectas. Las prácticas de higiene personal, lavado de manos y corte de uñas, no sólo en manipuladores de alimentos sino en todo tipo de personas son recomendaciones obvias pero, en cualquier caso, de una eficacia incuestionable.

Una infraestructura sanitaria adecuada a nivel de los abastecimientos de aguas a poblaciones e industrias alimentarias, así como la depuración

sistemática de moluscos bivalvos antes de autorizar su consumo constituyen, indudablemente, medidas muy recomendables.

Aunque el virus de la hepatitis A y el Norwalk presentan cierto grado de termoestabilidad, no se conocen brotes de enfermedades víricas por alimentos cuando estos se han sometido a un tratamiento térmico apropiado de tipo pasteurizante.

Consideramos de interés prestar cada vez mayor atención a las gastroenteritis virales por alimentos, ya que a pesar de que en nuestro país las estadísticas registran escasos casos y brotes producidos por alimentos, estamos seguros que muchas de las gastroenteritis en las que no se ha determinado su agente causal, puede tener su origen en virus vehiculados en alimentos.

K.-TEXTOS Y PUBLICACIONES RECOMENDADOS

Arnedo Pena, A y col. (1991)- Brote de toxioinfección alimentaria de probable etiología vírica por virus Norwalk. Gaceta Sanitaria. Vol. 5 (25): 169-173

Boletín Epidemiológico Semanal (1991) Núm. 1908: 253-255. Centro Nacional de Epidemiología.

Cliver, D.O. (1994)- Foodborne Disease Handbook. Vol. 2: 159-175. Marcel Dekker Ed.

Cliver, D.O. (1994)- Epidemiology of Viral Foodborne Disease. J. Food Protection. Vol 57. Núm. 3:263-357

Cliver, D.O. (1995)- Detection and Control of Foodborne Viruses. Food Science and Technology. Vol. 6: 353-357

Pumarola, A. Y col. (1987)- Microbiología y Parasitología Médica. Salvat Editores, S.A.

VIRUS DE TAMAÑO MEDIO (70-130nm)¹

Familia	Género	
Adenoviridae (ADN-2C)	Adenovirus	Gastroenteritis infantiles
Coronaviridae (ARN-1C)	Coronavirus	Aislados en heces diarreicas
Reoviridae (ARN-2C)	Reovirus	Aislados en heces diarreicas
	Rotavirus A, B y C	Casos esporádicos y brotes epidémicos de gastroenteritis en lactantes, niños y adultos.

**VIRUS DE TAMAÑO PEQUEÑO (20-40 nm)
(Small Round Structured Viruses-SRSVs)**

Familia	Género		
Parvoviridae (ADN-1C)	Parvovirus	Parvovirosis fecal humana	
Picornaviridae (ARN-1C)	Enterovirus	Poliovirus Coxsackie A Coxsackie B ECHO 31 Enterovirus 68-71 Enterovirus 72	Poliomielitis Sin síntomas gastroentéricos Sin síntomas gastroentéricos. Aislados en heces. Aislados en heces. Hepatitis A.
(ARN-1C) (ARN-1C)	Astrovirus Calicivirus	Gastroenteritis benignas Gastroenteritis benignas	
Grupo Norwalk (AN?)		Virus Norwalk	Causa más importante de casos esporádicos y brotes esporádicos de gastroenteritis humana o bacteriana.

I. TABLA 1. Virus humanos asociados a alimentos

GRUPO NORWALK

Tipo Calicivirus	Tipo Parvovirus
Virus Norwalk	Agente Ditchling
Agente Hawai	Agente W
Agente Montgomery Country	Agente Cockle
Agente Marin Country	Agente Paramatta
Agente Taunton	Agente Snow Mountain

Tabla 2
INFORMACIÓN RELATIVA A LOS BROTES DE GASTROENTERITIS VIRAL

Agente causal	Grupos de edad de los pacientes	Síntomas seleccionados		Período de incubación	Duración de la enfermedad	Modo de transmisión
		Vómitos	Fiebre			
Astrovirus	Niños pequeños y ancianos	Ocasionales	Ocasional	1-4 días	2-3días: ocasionalmente 1-14días	Alimentos, agua, fecal-oral
Calicivirus	Lactantes, niños pequeños y adultos	Frecuente en lactantes, variables en adultos	Ocasional	1-3 días	1-3 días	Alimentos, agua nosocomial, fecal-oral
Adenovirus entérico	Niños pequeños	Frecuentes	Frecuente	7-8 días	8-12 días	Nosocomial, fecal-oral
Virus Norwalk	Niños mayores y adultos	Frecuentes	Poco, frecuente o moderada	18-48 horas	12-48 horas	Alimentos, agua, PAP+, ?aire, nosocomial, fecal-oral
Rotavirus, grupo A	Lactantes y niños que empiezan a andar	Frecuentes	Frecuente	1-3 días	5-7 días	Agua, PAP+, ¿alimentos, ¿aire, nosocomial, fecal-oral
Rotavirus, Grupo B	Niños y adultos	Variables	Poco frecuente	56 horas (promedio)	3-7 días	Agua, PAP+, fecal-oral
Rotavirus, grupo C	Lactantes, niños y adultos	No se conocen	No se conoce	24-48 horas	3-7 días	Fecal-oral

• La diarrea es frecuente y generalmente suelta, acuosa y sin sangre cuando acompaña a la gastroenteritis.

+ PAP = de persona a persona

? = sin confirmar

Tabla 3

SUPERVIVENCIA DE ALGUNOS VIRUS EN SEDIMENTOS DE AGUAS RESIDUALES,
SUELO Y PRODUCTOS VEGETALES.

Tomado de la ICMSF, Microorganisms in Food. Vol. 4, (1988).

Microorganismo	Materiales	Supervivencia	Referencia
Grupo Enterovirus (Polio, echo, coxsackie)	Suelo	150-170 días	Bagdasaryan, 1964
	Pepino, tomate, lechuga, a 6-10°C	> 15 días	Bagdasaryan, 1964
	Rábanos	> 2 meses	Bagdasaryan, 1964
	Agua de pozo con aguas residuales próximas	> 4 semanas	Wellings y col. 1975
Poliovirus	Suelo	100 días	Murrell, 1981
	Rábanos, lechuga	36 días	Tiernay y col. 1977
Coxsackie B5	Lechuga	16 días	Konawalchuk y Spiers, 1974
Rotavirus	Lechuga, rábanos	25-30 días a 4°C	Badawy y col. 1985

Tabla 4**DETECCIÓN CON AYUDA DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RCP)
DE VIRUS EN ALIMENTOS****1. EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA**

- Isotiocianato de guanidina
- Centrifugación
- Triclorotrifluoretano

2. PREPARACIÓN DEL ARN (la mayor parte de los virus de alimentos tienen ARN)

- Centrifugaciones y precipitaciones sucesivas

3. TRANSCRIPCIÓN INVERSA

- Añadir al extracto con ARN la transcriptasa inversa para obtener una doble cadena de ADN complementario.

4. AMPLIFICACIÓN POR LA RCP

- Adicionar Taq Polimerasa (termoestable) para dar lugar a una serie de ciclos que incrementan el ADN hasta niveles detectables.

5. IDENTIFICACIÓN DEL ADN

- Electroforesis y comparación del desplazamiento de la banda electroforetica con fragmentos de ADN de peso molecular conocido disponible en el mercado.

Fig. 1. Posibles vías de contaminación de SRSVs a partir de manipuladores de alimentos

