

Noemí Zárate; Mercedes Álvarez
Natalie Weiler; L. Cardozo
Laboratorio Central de Salud Pública,
Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social,
Asunción, Paraguay
Rev UN Med 2013 2(1): 37-44

DetECCIÓN molecular de enterotoxinas y perfil de resistencia de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos en Asunción y Departamento Central

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es una bacteria causante de intoxicaciones alimentarias por su capacidad de producir enterotoxinas. Los manipuladores de alimentos que portan *S. aureus* productor de enterotoxinas pueden causar intoxicaciones alimentarias. **OBJETIVOS:** Determinar la portación nasal, la caracterización molecular y la susceptibilidad antimicrobiana de *S. aureus* en manipuladores de alimentos. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se estudiaron hisopados nasales de 230 manipuladores de alimentos de una cadena de supermercados de Asunción y departamento Central. *S. aureus* aislados fueron caracterizados bioquímica y molecularmente. La sensibilidad antimicrobiana se efectuó según la metodología recomendada por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **RESULTADOS:** De las 230 muestras estudiadas se aislaron 78 cepas de *S. aureus* de las que 27 fueron toxigénicas. La Enterotoxina A, fue la predominante. El 100% fueron sensibles a trimetoprim-sulfametoxazol y ciprofloxacina, el 5% resistente a gentamicina y oxacilina. **CONCLUSIONES:** La portación nasal de *S. aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos es similar a la reportada en publicaciones internacionales. Estos resultados confirman la necesidad de programas de entrenamiento y educación en el manejo de alimentos dirigido a manipuladores de alimentos para evitar brotes de intoxicación alimentaria y demuestra que una vez aislados los *S. aureus* se debe detectar necesariamente la toxina.

Palabras Claves: *Staphylococcus aureus*; manipulador de alimentos; enfermedades transmitidas por alimentos.

INTRODUCCIÓN

El tema de la seguridad alimentaria es hoy una preocupación mundial y una de las metas prioritarias de organismos internacionales y nacionales, los que permanentemente impulsan campañas destinadas a obtener un alimento sano y seguro. Pese a estos esfuerzos, las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) se encuentran entre los principales problemas de salud pública mundial y es así que miles de millones de personas alrededor del mundo sufren enfermedades por este motivo [1]. El patógeno aislado con mayor frecuencia en casos de toxi-infecciones alimen-

tarias es *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) [2], microorganismo que coloniza preferentemente la nasofaringe, piel y mucosas de hombres y animales [3]. Su presencia en los alimentos se asocia directamente a una inadecuada manipulación o al empleo de materias primas contaminadas [2]. A los 5 tipos de enterotoxinas producidas por esta bacteria (SEA, SEB, SEC, SED, y SEE) posteriormente se le agregaron 13 nuevos tipos: SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER y SEU. En la actualidad se reconocen 20 tipos de enterotoxinas (SEs), incluidos SEC1, SEC2 y SEC3 [14]. La producción de estas toxinas depende principalmente de la naturaleza del alimento, de los

procesos a los cuales fue sometido (crudo, cocido, fermentado, etc.) y de su potencial exposición a temperaturas de abuso [4,6,7]. La detección de enterotoxinas en las cepas de *S. aureus* aisladas generalmente no se realiza y se asume que las cepas productoras de coagulasa y termonucleasa son enterotoxigénicas [5]. Sin embargo, la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos establece que la sola presencia de grandes cantidades de *S. aureus* en los alimentos no constituye evidencia suficiente para incriminar un alimento como causante de toxi-infección, siendo necesario además evaluar la producción de enterotoxinas en los *S. aureus* aislados [8].

La portación nasofaríngea de *S. aureus* es un hallazgo común en la población y para los manipuladores de alimentos y personal hospitalario constituye un serio problema. Se han realizado varios estudios que evalúan la erradicación de esta portación mediante terapia antibiótica, pero sin buenos resultados [9,10]. Hasta el momento, la terapia más efectiva ha sido la aplicación tópica de mupirocina [11], aunque se ha visto que la erradicación no es definitiva, ya que una gran proporción de los tratados vuelve a colonizarse [9,10]. Debido a que las enterotoxinas estafilocócicas son las responsables del cuadro clínico y persisten en los alimentos cocinados, aun cuando el microorganismo ya no resulte viable [5,9], no solo es importante investigar la presencia de la bacteria sino también establecer si se trata de aislamientos productores de enterotoxina. Al ingerirse el alimento contaminado la enterotoxina se encuentra ya preformada, por lo que el período de incubación es muy corto (menos de tres horas). Las manifestaciones clínicas características, que en general cursan sin fiebre, comprenden náuseas, vómitos intensos, espasmo abdominal y diarreas. En algunos casos se puede observar moco y sangre en los vómitos o en las heces [12,13]. El cuadro suele presentar una evolución favorable, con tendencia a la recuperación en 24 a 48 horas, aunque pueden producirse formas graves con hipotensión, hipotermia y shock [12]. Al no existir informes nacionales ni locales, se diseñó el presente trabajo con el objetivo de determinar la portación nasal, la caracterización molecular de las enterotoxinas, y la susceptibilidad antimicrobiana de *S. aureus* aislados en manipuladores de alimentos en supermercados de Asunción y Gran Asunción.

MATERIALES & MÉTODOS

Se tomaron muestras de hisopados nasales de 230 manipuladores de alimentos de una cadena de

supermercados de Asunción y departamento Central. Las muestras se sembraron en placas de agar manitol salado (SIGMA) y se incubaron a 37 °C durante 24–48 h. Las colonias compatibles con *S. aureus* fueron sometidas a la observación microscópica con tinción de Gram e identificadas mediante las siguientes pruebas bioquímicas: catalasa, coagulasa, DNasa, Voges Proskauer, prueba de Nitrato, azúcares, tales como Lactosa, Maltosa, Manosa, Manitol, Trehalosa y sensibilidad a la novobiocina

El estudio de la sensibilidad a los antibióticos se efectuó mediante la técnica de difusión en agar, según la metodología recomendada por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se utilizaron discos (OXOID) con los siguientes agentes antibacterianos: penicilina (10 µg) cefoxitina (30µg), clindamicina (2µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10µg), trimetoprim-sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), y ciprofloxacina (5 µg).

Los genes que codifican las enterotoxinas A, B, C, D y E, más frecuentemente asociadas a brotes de intoxicación alimentaria, se detectaron mediante técnicas de biología molecular. Se utilizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple A-B-C para la detección de los genes *sea*, *seb* y *sec* de *S. aureus* enterotoxigénico que codifican para las toxinas A, B y C. Se realizó otra PCR múltiple D-E para la detección de los genes *sed* y *see*, que codifican para las enterotoxinas D y E, siguiendo el protocolo descrito por Manfredi et al [11].

RESULTADOS

De las 230 muestras estudiadas, se aislaron 78 cepas de *S. aureus* (34 %). Se detectó en un 27/78 (35%) de los aislamientos genes codificantes de enterotoxinas que corresponden al 12% de los manipuladores estudiados. El gen predominante en este estudio fue *sea* (52%), que codifica para la enterotoxina A (Figura 1). Le siguieron las enterotoxinas C (29 %), B (15 %) y B-C (4%). De los *S. aureus* aislados fueron resistentes a penicilina 72/78 (92%), a clindamicina y eritromicina 3/78 (4%), a gentamicina 4/78 (5%), y a oxacilina 4/78 (5%). Todos fueron sensibles a trimetoprim-sulfametoxazol y ciprofloxacina.

CONCLUSIONES

La portación nasal de *S. aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos es similar a la re-

portada en publicaciones internacionales. La caracterización genotípica se basó en la detección de los genes SEA, SEB, SEC, SED y SEE que codifican las enterotoxinas estafilocócicas. Sin embargo, sería importante desarrollar técnicas para detectar los genes que codifican las nuevas enterotoxinas, a fin de conocer la incidencia de estas en las enfermedades transmitidas por alimentos e investigar su relevancia en la salud pública de nuestro país. Estos resultados confirman la necesidad de programas de entrenamiento y educación en el

manejo de alimentos dirigido a manipuladores para evitar brotes de intoxicación alimentaria.

Este trabajo contribuye al conocimiento de portación de *S. aureus* en manipuladores de alimentos en Asunción y Gran Asunción, información no disponible hasta el presente en nuestro país. Nuestra expectativa es que este trabajo contribuya de forma significativa al conocimiento del problema y que se implementen medidas tendientes a reducir el número de las intoxicaciones alimentarias por *S. aureus*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zacarías I, Middleton S. Manipulación de Alimentos. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile. 1987; p. 8–9.
2. Bean N, Goulding JS, Lao C, Angulo FJ. Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 1988-1992. Morbid Mortal Weekly Rep. CDC Surveill Summ 1996;45:1–66.
3. ICMSF. Microorganism in Food 5: Microbiological specifications of food pathogens. Blackie Academic and Professional: London. 1996; p. 299–333.
4. Halpin-Dohnalek MI, Marth EH. Staphylococcus aureus: Production of extracellular compounds and behavior in foods. A review. J Food Prot 1989;52:267–82.
5. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Rev 2000;13:16–34.
6. Bennett RW. The biomolecular temperament of Staphylococcal enterotoxin in thermally processed foods. J AOAC Int 1992;75:6–12.
7. Qi Y, Miller KJ. Effect of low water activity on Staphylococcal enterotoxin A and B biosynthesis. J Food Prot 2000;63:473–8.
8. Bennett RW, Lance GA. Bacteriological Analytical Manual. AOAC: Washington, DC. 1995, Chapter 12.
9. Ledermann W. Controversias terapéuticas: Portación de Staphylococcus aureus. Rev Chil Infect 1996;13:81–4.
10. Kluytmans J, Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: Epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev 1997;10:505–20.
11. Mendoza C, Barrientos C, Panizza V, Concha B, Romero P, Barahona C et al. Prevención de la infección intrahospitalaria por Staphylococcus aureus resistente.
12. Fernández-Crehuet Navajas J, Carnero Varo M, Pinedo Sanchez A. Intoxicaciones y toxoinfecciones alimentarias. En: Piédrola Gil. Medicina preventiva y salud pública. 11^o Edición. Elsevier Masson: Barcelona. 2008, p. 577–9.
13. Manfredi E, Leotta G, Rivas M. PCR múltiple para la detección de los genes sea, seb, sec, sed y see de Staphylococcus aureus. Caracterización de aislamientos de origen alimentario. Rev Argent Microbiol 2010;42:212–5.
14. Manual de Procedimientos, Detección recuento y caracterización genotípica de Staphylococcus aureus enterotoxigénico a partir de alimentos; Servicio Fisiopatogenia, Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades infecciosas – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, 2009.