



BOLETIN

Instituto de Salud Pública de Chile

Vol. 3, No. 1, enero 2013.

Vigilancia de enterotoxinas en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de alimentos, Chile 2011 – 2012.

1. Antecedentes

Staphylococcus aureus son bacterias ubicuas, cocáceas gram-positivas pertenecientes a la familia Micrococcaceae, inmóviles, no formadoras de esporas, que se presenta individualmente, en cadenas cortas, en parejas, o racimo de uvas. Es un anaerobio facultativo, pero crece mejor bajo condiciones aeróbicas(1). Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* pueden producir enterotoxinas (SEs), que corresponden a proteínas globulares, termoestables, solubles en agua(2). Se han descrito más de 20 SEs serológicamente diferentes(3).

La ingestión de las SEs preformadas en los alimentos es causante de una de las intoxicaciones alimentarias más comunes; menos de 200ng de toxina son suficientes para causar el cuadro clínico(4), generalmente autolimitado, caracterizado por náuseas, vómitos dolor estomacal y diarrea(5). Los alimentos identificados con mayor frecuencia como fuente de los brotes son carnes, productos cárnicos, huevos, productos de pastelería rellenos con crema, leche y productos lácteos(6).

La contaminación de los alimentos se asocia al uso de materias primas contaminadas o a la inadecuada manipulación; transferencia de la bacteria desde las superficies de trabajo o desde de portadores (7). Estudios dan cuenta de la existencia de 20% de portadores persistentes, 60% de portadores intermitentes y 20% de no portadores(1).

La producción de SEs en los alimentos está condicionada por la capacidad de la bacteria de producir toxinas; y por la composición físico química del alimento, temperatura y tiempo de exposición de este, de modo que favorezca el crecimiento de *S. aureus* y la producción de toxinas (concentración de NaCl, pH, presencia de flora de competencia, temperatura ambiente)(3)(7).

Las cepas aisladas desde brotes de intoxicación producen principalmente enterotoxina A (SEA) y en menor medida SED, SEB y SEC. La SEA es responsable del 75% de los brotes de intoxicación estafilocócica en los países desarrollados. La detección de SEs en los alimentos es a menudo compleja debido a la pequeña cantidad de SEs presente en los alimentos y por su naturaleza proteica(8).

El Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) en su rol de Laboratorio de Referencia realiza la detección de enterotoxinas, a partir de las cepas de *Staphylococcus aureus* recibidas desde los Laboratorios Ambientales de las Secretarías Regionales Ministeriales de Salud (SEREMI). Estas cepas corresponden a aislamientos realizados desde alimentos; ya sea en el marco de la investigación de brotes de intoxicación alimentaria o provenientes de los programas de vigilancia.

2. Material y método

Se analizó la base de datos correspondiente a todas las cepas analizadas de *Staphylococcus aureus* en la Sección de Microbiología de Alimentos del ISP, entre el 1 de enero de 2011 y el 23 de octubre de 2012.

La Sección de Microbiología de Alimentos del ISP, realiza la identificación serológica de 4 enterotoxinas (SEA, SEB, SEC y SED) en cepas provenientes de los Laboratorios Ambientales de las SEREMIs. Las cepas son recibidas en tubos de conservación, reisladas en agar Baird Parker con telurito de potasio para verificación de pureza, viabilidad, caracterización fenotípica y bioquímica. Se realiza confirmación con prueba de coagulasa y termonucleasa. La detección de las enterotoxinas mencionadas se realiza por aglutinación reversa pasiva en látex, utilizando el SET-RPLA detección de toxinas (DENKA Seiken).

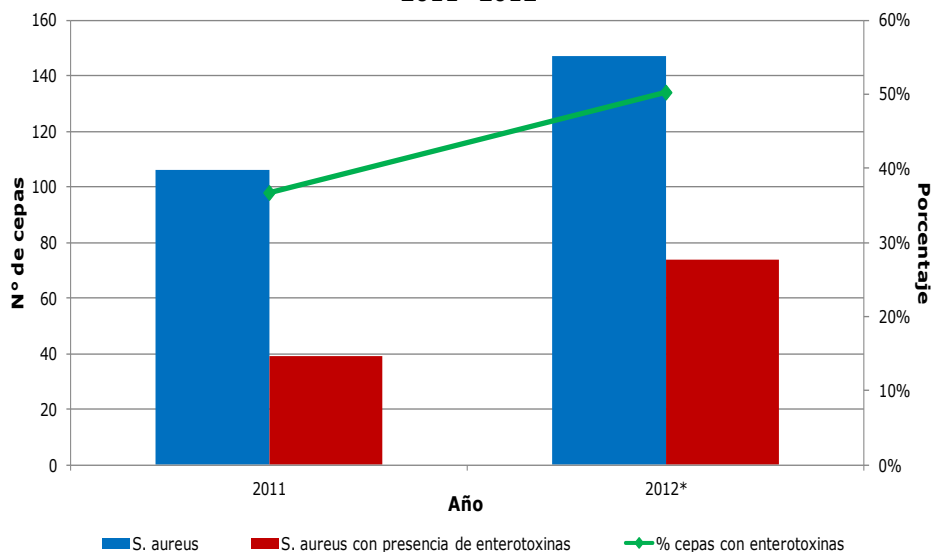
Los datos se capturaron y procesaron en el paquete Excel 2007 y el software estadístico Stata 11. Los resultados se representaron en tablas y gráficos para su mejor comprensión.

3. Resultados vigilancia de SEs en *Staphylococcus aureus* 2011-2012

En el periodo comprendido entre enero de 2011 y octubre de 2012 se recibieron en total 253 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de 129 muestras de alimentos, para la detección de Enterotoxinas (SEs). Se recibieron entre 1 y 10 cepas por muestra de alimento. Del total de cepas recibidas, un 44,7% (113/253) resultó con presencia de enterotoxinas.

En el año 2012 se han recibido 147 cepas de *S. aureus*, lo que representa un incremento del 38,7% respecto a las cepas recibidas el año 2011 (106). Se observa un incremento del 89,7% (39 v/s 74) de cepas con presencia de enterotoxinas. Se debe considerar que la información del año 2012 corresponde a las cepas recibidas hasta el 23 de octubre (figura 1).

Figura 1: Cepas de *Staphylococcus aureus* recibidas y confirmadas con Enterotoxinas, y porcentaje de confirmación por año. Chile, 2011 - 2012*



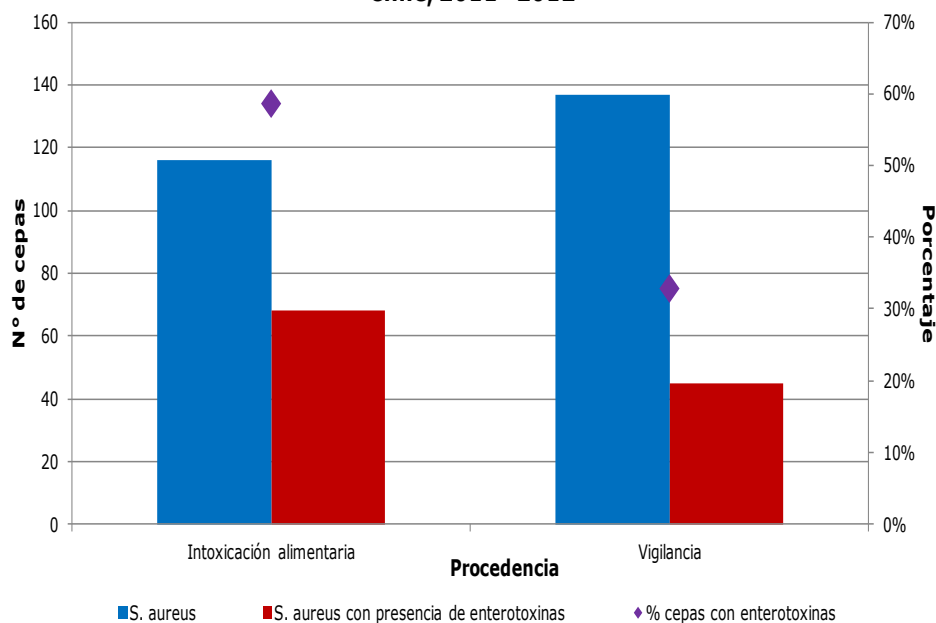
Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.
* Información hasta Octubre 2012.

Cepas de *S. aureus* de acuerdo a su procedencia

Del total de cepas de *Staphylococcus aureus* recibidas para el análisis de SEs en el periodo de estudio, 116 provenían de alimentos involucrado en casos de intoxicación alimentaria, y 137 fueron aisladas de alimentos del programa de vigilancia.

El 58,6% (68/116) de las cepas recibidas de casos de intoxicación alimentaria y el 32,8% (45/137) de las cepas aisladas de alimentos del programa de vigilancia, resultaron con Enterotoxinas (figura 2).

Figura 2: Cepas de *Staphylococcus aureus* recibidas y confirmadas con Enterotoxinas, y porcentaje de confirmación por procedencia. Chile, 2011 - 2012*

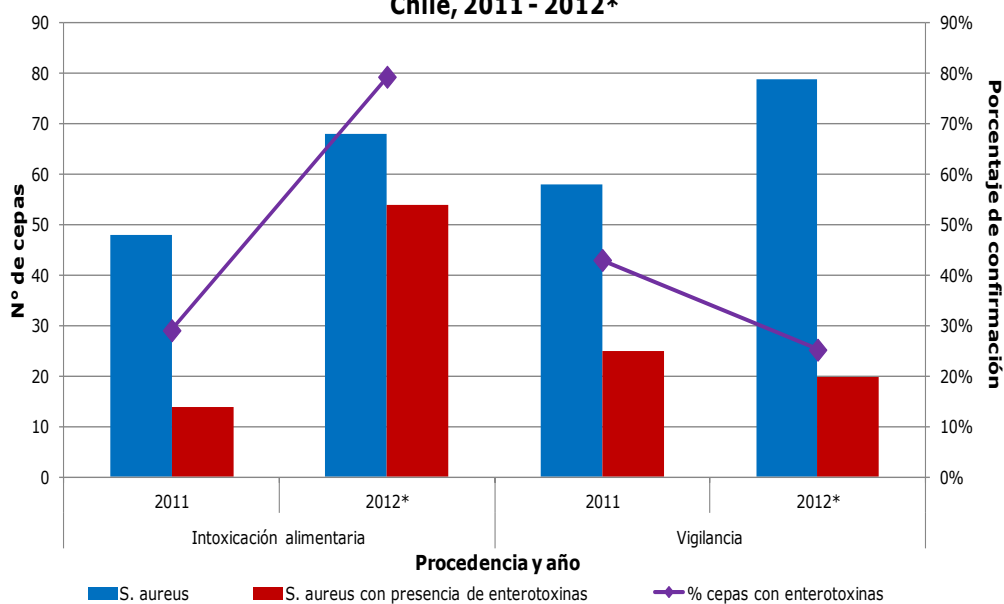


Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.
* Información hasta Octubre 2012.

En cuanto a las cepas provenientes de casos de intoxicación alimentaria, el año 2012 se ha recibido una mayor cantidad de cepas de *S. aureus*, y se ha confirmado un porcentaje superior de éstas con Enterotoxinas; 29,1% (14/48) en 2011 y 79,4% (54/68) en el periodo enero-octubre 2012 (figura 3).

En el caso de las cepas de *S. aureus* aisladas de alimentos del programa de vigilancia, se observa un aumento de las cepas recibidas el año 2012; sin embargo, el porcentaje de cepas con Enterotoxinas disminuyó; 43,1% (25/58) en 2011 y 25,3% (20/79) en el periodo enero-octubre 2012 (figura 3).

Figura 3: Cepas de *Staphylococcus aureus* recibidas y confirmadas con Enterotoxinas, y porcentaje de confirmación por procedencia y año. Chile, 2011 - 2012*

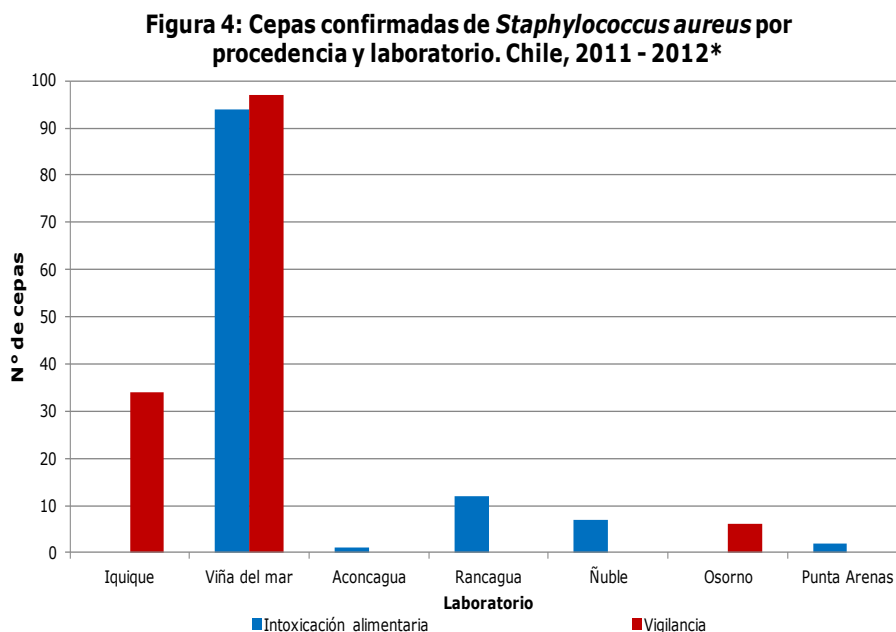


Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.
* Información hasta Octubre 2012.

Cepas de *S. aureus* por Laboratorios de las SEREMI de Salud

Del total de cepas de *Staphylococcus aureus* recibidas para el análisis de SEs en el periodo de estudio, un 75,5% provenían de la SEREMI de Valparaíso.

Las cepas recibidas de casos de intoxicación alimentaria provenían, en orden de frecuencia, de las SEREMI de Valparaíso (Laboratorio de Viña del Mar y San Felipe), O'Higgins, Biobío (Laboratorio de Chillán) y Magallanes (Laboratorio de Punta Arenas), mientras que las cepas aisladas de alimentos del programa de vigilancia provenían de los Laboratorios de Viña del Mar, Iquique y Osorno. No se recibieron cepas del resto de los laboratorios ambientales del país (figura 4).



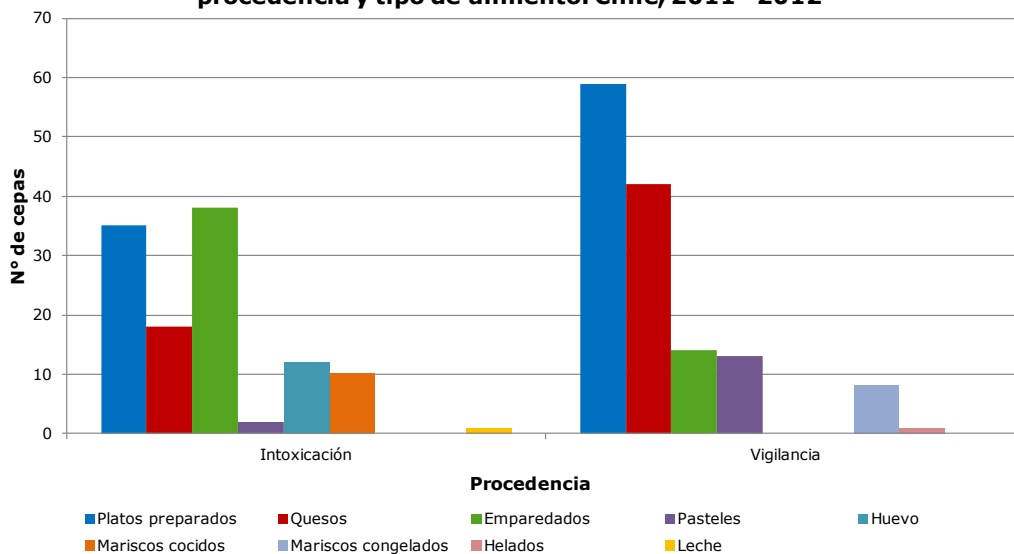
Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.
* Información hasta Octubre 2012.

Cepas de *S. aureus* por alimento de origen

En el total de cepas de *Staphylococcus aureus* recibidas para el análisis de SEs en el periodo 2011-2012, los alimentos de origen más frecuentes fueron los platos preparados, quesos, emparedados y pasteles (37,2%; 23,7%; 20,6% y 5,9% respectivamente).

En las cepas recibidas de casos de intoxicación alimentaria los alimentos más frecuentes fueron los emparedados, mientras que en las cepas aisladas de alimentos del programa de vigilancia los más frecuentes fueron los platos preparados. Se confirmaron también cepas provenientes de huevo, mariscos cocidos y leche, las que correspondían a casos de intoxicación, y cepas provenientes de mariscos congelados y helados, las que correspondían al programa de vigilancia (figura 5).

Figura 5: Cepas confirmadas de *Staphylococcus aureus* por procedencia y tipo de alimento. Chile, 2011 - 2012*



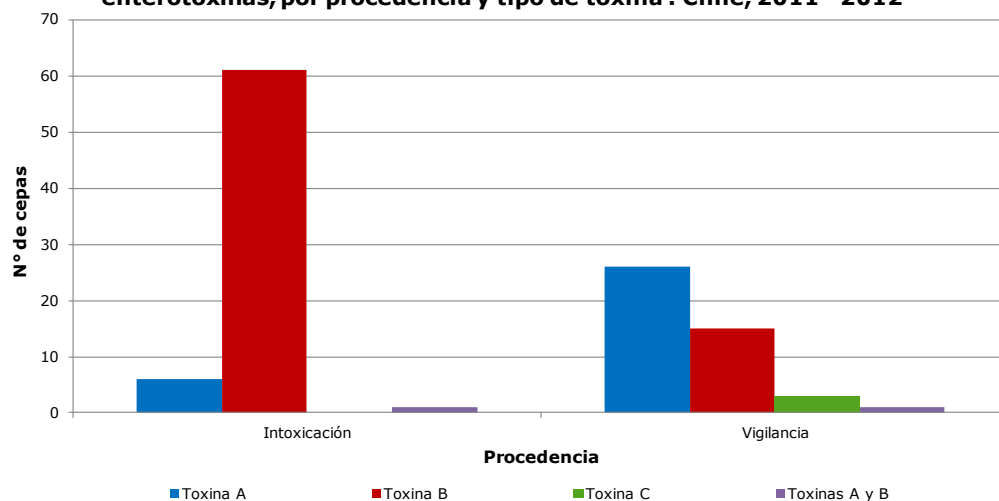
Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.
* Información hasta Octubre 2012.

Enterotoxinas detectadas en cepas de *S. aureus*, por procedencia

En el total de cepas confirmadas de *S. aureus* con enterotoxinas, las toxinas más frecuentes fueron la SEB y SEA, con frecuencias porcentuales de 67,3% (76/113) y 28,3% (32/113), respectivamente.

De las cepa con detección de SE provenientes de casos de intoxicación alimentaria, en el 89,7% (61/68) se detectó la SEB, en un 8,8% (6/68) la SEA, y en una cepa se detectó la presencia de ambas toxinas A y B. En las cepas provenientes del programa de vigilancia, la toxina más frecuente fue la SEA (57,8%; 26/45), seguida de las SEB (33,3%; 15/45) y SEC (6,7%; 3/45), además se detectó una cepa con presencia de SEA y SEB (figura6).

Figura 6: Cepas de *Staphylococcus aureus* con presencia de enterotoxinas, por procedencia y tipo de toxina . Chile, 2011 - 2012*

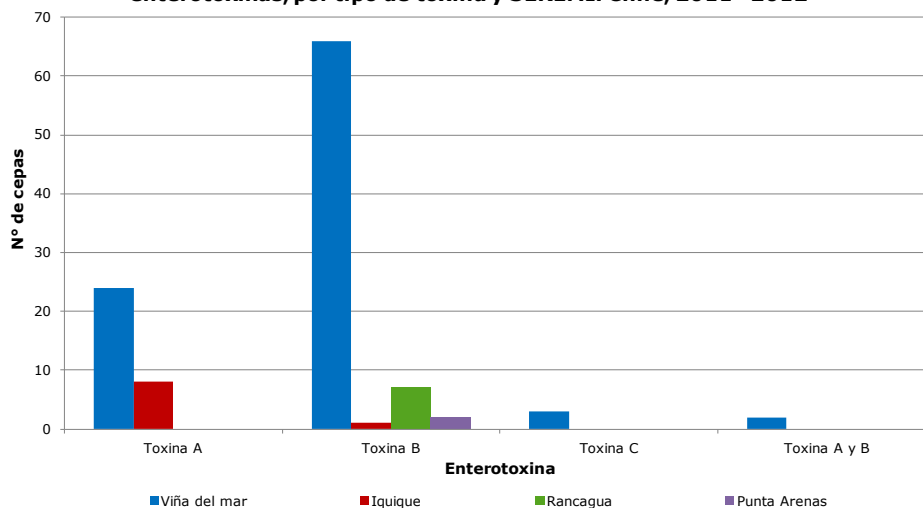


Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.
* Información hasta Octubre 2012.

Enterotoxinas detectadas en cepas de *S. aureus*, por Laboratorio ambiental de SEREMI de Salud

Del total de cepas confirmadas de *S. aureus* con enterotoxinas, el 84,1% provenían del Laboratorio Ambiental de Viña del Mar, el 7,9% de Iquique, el 6,2% de Rancagua, y 1,8% (2 cepas) de Punta Arenas (figura 7).

Figura 7: Cepas de *Staphylococcus aureus* con presencia de enterotoxinas, por tipo de toxina y SEREMI. Chile, 2011 - 2012*



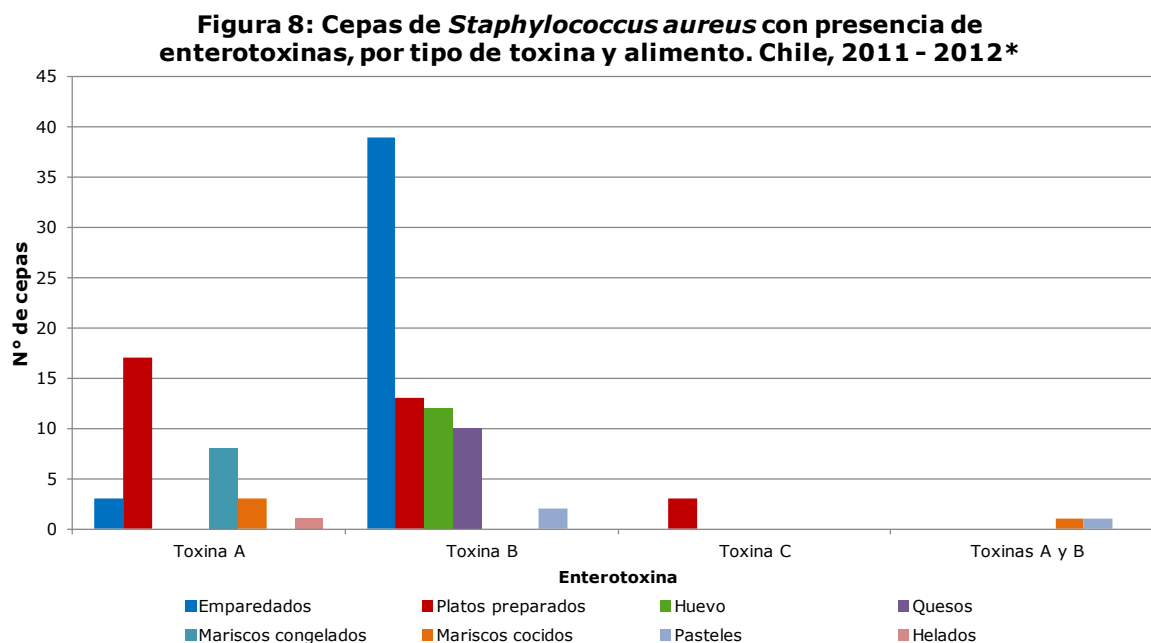
Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.
* Información hasta Octubre 2012.

Enterotoxinas detectadas en cepas de *S. aureus*, por alimento

En el total de cepas confirmadas de *S. aureus* con enterotoxinas, los alimentos de procedencia más frecuentes fueron emparedados y platos preparados (37,2% y 29,2% respectivamente).

En las cepas de *S. aureus* en las que se detectó SEA, predominaron las cepas provenientes de platos preparados, seguidos de mariscos congelados y emparedados, mientras que en las cepas con SEB predominaron las cepas provenientes de emparedados, platos preparados y huevo.

La SEC se detectó solo en cepas provenientes de platos preparados y las dos cepas en las que se detectaron SEA y SEB, provenían de mariscos cocidos y pasteles (figura 8).



Fuente: Sección Microbiología de Alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile. 2012.

* Información hasta Octubre 2012.

4. Conclusiones

En el periodo entre enero 2011 y octubre 2012 se recibieron 253 cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de 129 muestras para confirmación de enterotoxinas. Un total de 116 cepas provenían de casos de intoxicación alimentaria y 137 provenían de alimentos del programa de vigilancia.

En el 44,7% de las cepas se detectaron enterotoxinas; éstas provienen en un 59% de alimentos involucrados en casos de intoxicación alimentaria y en un 33% del programa de vigilancia.

En el caso de las cepas provenientes de casos de intoxicación alimentaria, el porcentaje de cepas con enterotoxinas aumentó en 74% entre 2011 y 2012, mientras que en las cepas aisladas de alimentos del programa de vigilancia, este porcentaje disminuyó en 20%.

La mayoría de las cepas provinieron del Laboratorio Ambiental de Viña del Mar (75,5%), tanto en las cepas provenientes de casos de intoxicación alimentaria como del programa de vigilancia, seguido de los laboratorios ambientales de Iquique y Rancagua. Esta situación refleja, la necesidad de reforzar la vigilancia de laboratorio a nivel nacional y del envío de las cepas de *Staphylococcus aureus* al Laboratorio de Referencia, principalmente aquellas aisladas desde alimentos involucrados en brotes de intoxicación alimentaria, cuando corresponda.

Los alimentos de procedencia de las cepas de *S. aureus* más frecuentes fueron los platos preparados, quesos, emparedados y pasteles.

Las enterotoxinas detectadas con mayor frecuencia fueron las toxinas A y B, con porcentajes de 67,3% y 28,3%. Se detectó la presencia de la toxina C en 3 cepas, y en 2 cepas se detectaron ambas toxinas A y B. En las cepas provenientes del programa de vigilancia predominó la toxina A (57,8%) y en las provenientes de estudios de brotes de intoxicación alimentaria predominó la toxina B (89,7%). Esta situación es diferente a lo descrito en la literatura que indica el predominio de SEA en intoxicaciones alimentarias, razón por la

cual se estima necesario reforzar la vigilancia de laboratorio de este agente y sus toxinas, con el objetivo de ampliar el universo de estudio y conocer la situación a nivel nacional.

5. Bibliografía

1. Kanafani ZA, Fowler VG. Staphylococcus aureus infections: new challenges from an old pathogen. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2006;24(3):182.
2. Halpin-Dohnalek MI, Marth EH. Staphylococcus aureus: production of extracellular compounds and behavior in foods: a review. *Journal of food protection* [Internet]. 1989 Apr [visitado 2012 Dec 27];v. 52(4) p. 267-282. Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=1989/US/US89555.xml;US8911834>
3. Cremonesi P, Perez G, Pisoni G, Moroni P, Morandi S, Luzzana M, et al. Detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolates in raw milk cheese. *Letters in applied microbiology*. 2007;45(6):586–91.
4. Doyle ME, Hartmann FA, Lee Wong AC. Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply? *Animal Health Research Reviews*. 2012 Dec 20;13(02):157–80.
5. Pinto B, Chenoll E, Aznar R. Identification and typing of food-borne Staphylococcus aureus by PCR-based techniques. *Systematic and Applied Microbiology*. 2005 Jun;28(4):340–52.
6. This IFT. Bacteria Associated with Foodborne Diseases. [visitado 2013 Jan 2]; Disponible en: http://www4.ift.org/Knowledge-Center/Read-IFT-Publications/Science-Reports/Scientific-Status-Summaries/~media/Knowledge%20Center/Science%20Reports/Scientific%20Status%20Summaries/bacteriafoodborne_0704.pdf
7. Hennekinne J-A, De Buyser M-L, Dragacci S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*. 2012 Jul;36(4):815–36.
8. Hennekinne J-A, Guillier F, Perelle S, De Buyser M-L, Dragacci S, Krys S, et al. Intralaboratory validation according to the EN ISO 16 140 Standard of the Vidas SET2 detection kit for use in official controls of staphylococcal enterotoxins in milk products. *Journal of Applied Microbiology*. 2007 May;102(5):1261–72.

Agradecimientos

Agradecemos especialmente a todas las personas que han participado en la recolección, envío, recepción, procesamiento y registro de las muestras, así como aquellas que han participado en la revisión de este documento.