

Determinación y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigénicos a partir de alimentos

Ingrid L. Perdomo y Pilar Meléndez*

Resumen

Se realizó un estudio encaminado a determinar y aislar *S. aureus* y *C. perfringens* enterotoxigénicos, mediante el análisis microbiológico de 112 muestras recolectadas en las cafeterías y casetas de la Ciudad Universitaria. Se seleccionaron los alimentos de alto riesgo y se tomaron tres muestras por tipo de alimento, de conformidad con el programa estadístico de muestreo de dos clases. Los resultados mostraron que predomina el *S. aureus* y que es escaso el hallazgo de *C. perfringens*. Se encontraron dos aislados *S. aureus* enterotoxigénicos provenientes de pizza cruda y ninguna de *C. perfringens*. El aislamiento de *S. aureus* enterotoxigénicos, establece la evidencia de los riesgos potenciales. A partir de los resultados obtenidos a nivel de laboratorio se concluye que hay deficiencias en: la calidad microbiológica de las materias primas con las que se fabrican los alimentos, la manipulación de los mismos y las condiciones de higiene de los establecimientos (1).

Palabras clave: Seguridad alimentaria, intoxicación alimentaria, *S. aureus*, *C. perfringens*

Summary

Determination and Isolation of *Staphylococcus aureus* and *clostridium perfringens* enterotoxigenic microorganisms from foods

This study aims to determine and isolate enterotoxigenic of *S. aureus* and *C. perfringens*, by analyzing microbiologically 112 samples gathered at the cafeterias and food huts of Ciudad Universitaria. High-risk food was selected and three samples per food type were taken, in accordance with the statistical program of two kinds of sampling. Results showed predominance of *S. aureus* and scarce presence of *C. perfringens*. Two enterotoxigenic *S. aureus* strains were isolated from raw pizza. None of *C. perfringens* was found. Isolation of enterotoxigenic *S. aureus* sets the evidence of potential risks. Results obtained at laboratory lead to the conclusion that there are deficiencies in: the microbiological quality of the raw materials used to prepare the food, the food handling and the hygienic conditions of the shops (1).

Key words: Food Security, food intoxication, *S. aureus*, *C. perfringens*

Recibido para evaluación: 25 de febrero de 2004
Aceptado para publicación: 15 de mayo de 2004

* Departamento de Farmacia. Universidad Nacional de Colombia. E-mail: admelendezm@unal.edu.co

Introducción

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos –ETAs– son causadas por los microorganismos cuyo vehículo son los alimentos; dichas enfermedades pueden tener gran impacto social por tener consecuencias directas sobre la salud de los individuos, sobre el sistema de salud y sobre el sistema económico.

Existen dos categorías de ETAs: las intoxicaciones alimentarias, causadas por toxinas producidas por los microorganismos, y las infecciones alimentarias causadas por el crecimiento de los microorganismos en el cuerpo humano, después de haber ingerido alimentos contaminados. Aunque los mecanismos de acción son diferentes, generalmente se utiliza el término Intoxicación Alimentaria para referirse a cualquiera de los dos casos.

Para la investigación se seleccionaron dos bacterias: *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens*, partiendo de un estudio realizado por INPPAZ–OPS–OMS en ciudades de Latinoamérica (2), donde se concluye que estos dos microorganismos son los de mayor impacto junto con *B. cereus*. Además, la toxina de *S. aureus* tiene la propiedad de ser termoestable y *C. perfringens* produce esporas considerablemente resistentes al tratamiento térmico, características atractivas que convierten a estas dos bacterias en objeto de estudio.

Las enterotoxinas son proteínas antigénicas, las cuales representan una toxicidad por producir una reacción antígeno-anticuerpo, desencadenando el cuadro clínico de la intoxicación. Aunque *C. perfringens* y *S. aureus* comparan, como común denominador, la producción de enterotoxina, los mecanismos de producción presentan diferencias, como se explicará a continuación.

Las enterotoxinas estafilocócicas son de las pocas toxinas bacterianas, de naturaleza proteíca, que son termorresistentes. La intoxicación

estafilocócica se debe a las toxinas preformadas en los alimentos, cuando el organismo causal crece en su interior.

Las esporas de *C. perfringens* presentan una alta resistencia a la temperatura que puede variar desde algunos minutos hasta una hora o más. La producción de la enterotoxina tiene lugar durante el proceso de esporulación en el intestino, es decir que no se encuentra preformada en el alimento en cantidades suficientes para determinar la enfermedad clínica sino que se forma después del consumo del alimento contaminado; sin embargo, los procesos térmicos aplicados al alimento activan las esporas y estimulan su germinación.

Los tipos de toxina que produce el *S. aureus* se clasifican en A, B, C, D y E –siendo la más frecuentemente implicada en casos de intoxicación la enterotoxina A–, y el *C. perfringens* se clasifica en A, B, C, D y E –siendo el *C. perfringens* de tipo A productor de una enfermedad leve y el de tipo C el agente causal de intoxicación alimentaria de manera más grave pero menos común–.

En términos generales, las características de los microorganismos pueden resumirse de la siguiente manera:

S. aureus es un microorganismo Gram(+), de forma esférica u ovoide, que se agrupa en racimos, de colonia con pigmento dorado, amarilla y a veces blanca; crece mejor en presencia de oxígeno, a temperatura óptima de 30-37°C, en un rango de pH entre 7.0-7.5, en concentración de NaCl de 10% (concentración óptima) (3), posee tolerancia frente a compuestos como telurito, cloruro mercurico, neomicina, poliximina y azida sódico. Aunque los primeros estudios pusieron de manifiesto que la mayoría de estafilococos productores de intoxicaciones alimentarias son coagulasa positivos, la relación aún no está clarificada, pues existen trabajos de Omori y col, 1960; Bergdoll y col., 1967 (4)

que demuestran la producción de enterotoxina por parte de estafilococos coagulasa negativos. Sus toxinas tienen un peso molecular de 30.000-35.000 daltons (5). Aunque se asimila los *S. aureus* coagulasa positivo a la intoxicación, se cuenta con trabajos que desvinculan la estricta relación con esta característica (6). El efecto que tiene la temperatura sobre el microorganismo no es tan representativo para la enterotoxina, dando como resultado que la destrucción del patógeno no implique la destrucción de la toxina; por ello, el interés marcado en la detección de la enterotoxina prima sobre la obtención de la evidencia de las células viables del *S. aureus*. La principal fuente del *S. aureus* es el hombre (nariz, garganta, yema de los dedos, brazos, piel afectada con erosión o forúnculos, ojos y tracto intestinal), pero también lo son los animales, en especial las vacas con mastitis, las cuales contaminan la leche y sus derivados. De manera consecuente, los alimentos implicados en la intoxicación son aquellos que cumplen con los parámetros de crecimiento del microorganismo tales como productos cárnicos (jamón y análogos), aves, leche, productos de pastelería con crema y huevo, fundamentalmente (5).

C. perfringens: es un microorganismo bacilar, Gram (+), esporulado, anaerobio estricto; su crecimiento óptimo se presenta en condiciones de temperatura entre 37-45°C; escapaz de proliferar en presencia de NaCl al 2% (pero no al 6.5%) (3); aunque las células vegetativas son fácilmente inactivadas por el calor sus esporas presentan termorresistencia (pueden hervir durante varias horas conservando su viabilidad); la enterotoxina es una proteína con un peso molecular de 36.000 daltons (6), y es liberada de las células en el momento de la lisis determinando el paso excesivo de fluido a la luz intestinal. Las cepas toxiinfecciosas se encuentran en el suelo, agua, moscas, alimentos, polvo,

especies y tracto intestinal tanto del hombre como de otros animales. Los brotes producidos por *C. perfringens* son causados por ingestión de carnes o productos cárnicos preparados, incluyendo las aves, carne cruda de vaca o ternera, salsas o jugos de carnes. La intoxicación por toxina de *C. perfringens* también es llamada “de las cafeterías” (7).

Metodología

Una vez planteado el panorama global de los dos microorganismos considerados para el desarrollo del estudio, se diseñó un muestreo que permitiera obtener resultados estadísticamente representativos.

Consideraciones estadísticas

Universo: se estableció como universo a estudiar todos los expendios de alimentos del campus de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

Número de muestras por tipo de alimento: atendiendo a la clasificación dentro de las principales bacterias patógenas causantes de toxiinfecciones alimentarias, se tiene que tanto el *Clostridium perfringens* como el *Staphylococcus* enterotoxigénico están clasificados en el grupo III Moderadamente Peligrosos: Difusión Limitada (8).

Teniendo en cuenta estas consideraciones, y atendiendo a que los dos microorganismos en estudio son clasificados en la categoría 9, en la escala de 1 a 15, donde la categoría 15 corresponde al programa más severo, se optó por un programa de muestreo “de dos clases”, con un $C=0$ (C: número de muestras en las que se permite un resultado adverso) (8). Se seleccionó como número mínimo de muestras a tomar $n=3$, con una cantidad de muestra igual a 50.0g, debido a que los resultados no

determinaban el rechazo de un lote y que contar con 50.0g, en vez de 25.0g, representaba un incremento en la posibilidad de hallazgo.

Selección de los tipos de alimentos a estudiar

Este procedimiento se realizó a través de un tamizaje de la información así: recolección de datos, tabulación de la totalidad de alimentos vendidos en todos y cada uno de los expendios, exclusión de los alimentos que se comercializan con envoltura desde su punto de elaboración hasta la entrega del consumidor sin destaparlos. Fueron incluidas muestras procedentes de almuerzos, fabricadas in-situ, teniendo en cuenta muestrear por lo menos 3 fracciones de la composición total del menú del día. También se incluyó el muestreo de tamales por sus componentes cárnicos. Finalmente, de los alimentos pre-seleccionados, se seleccionaron aquellos de alto riesgo de contener uno o los dos microorganismos en estudio. Aunque el diseño de muestreo involucraba sólo alimentos listos para su consumo, se tuvo en cuenta muestrear pizza cruda como parámetro de comparación en los resultados. De esta manera, se contó con un inventario de muestras que aportaran una probabilidad de hallazgo por características propias del alimento, manipulación, contaminación medioambiental, o por almacenamiento indebido.

Recolección de muestras

Cada muestra fue rotulada de manera individual. El muestreo fue realizado al azar, en términos de recolección de tipo de alimento, es decir que las tres muestras por tipo de alimento se recolectaron en días aleatorios (diferentes o coincidentes). Las muestras fueron procesadas inmediatamente después de su recolección. El número total de muestras analizadas fue 112.

Análisis microbiológico de las muestras

Para el análisis de muestras, se siguió el procedimiento descrito según el Método 1 de Preparación y Dilución de los Homogenizados de los Alimentos, especificado por la ICMSF (6).

A cada muestra se aplicaron los procedimientos de análisis especificados tanto para *S. aureus* como *C. perfringens*:

S. aureus: de la dilución, se inoculó 1.0ml en tres cajas con agar Baird Parker– Telurito de potasio-yema de huevo (B.P), a 35°C durante 48h (9). Las colonias con actividad lecitinasa en B.P (Figura 1) fueron sometidas a recuento y luego a investigación de actividad coagulasa en plasma humano (1-5 colonias), previo cultivo en caldo BHI, de manera separada. Los cultivos que resultaron tener actividad coagulasa (en escala de 1+ a 4+, de menor a mayor producción de la enzima, respectivamente, fueron aisladas por agotamiento en B.P (Figura 2). Finalmente, se evaluó la producción de enterotoxina incluyendo aquellos casos donde la coagulasa presentó un valor de 1+. Esta última etapa se desarrolló utilizando el ensayo RPLA.

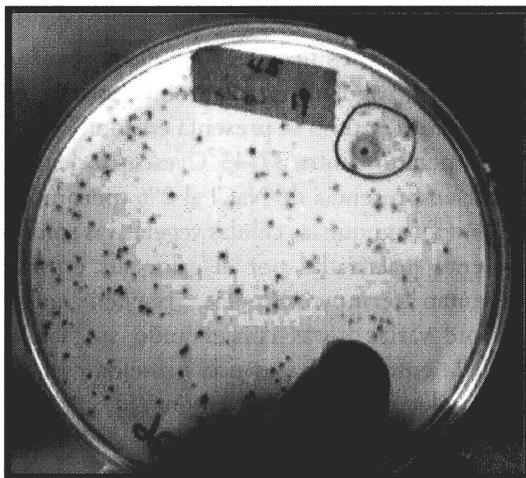


Figura 1. Formación de halo por actividad lecitinasa en agar Baird Parker – Telurito de potasio – yema de huevo

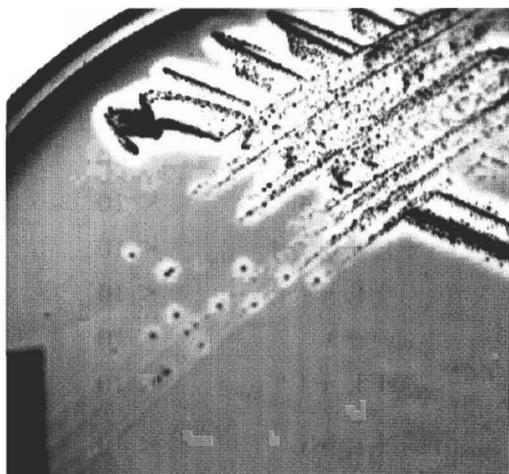


Figura 2. Aislamiento de colonias en agar Baird Parker – Telurito de potasio – yema de huevo.

***C. perfringens*:** se inoculó en profundidad 1.0ml de la dilución en 2 cajas con agar TSN y se cultivó a 45°C durante 18h en condiciones de anaerobiosis (11). Las colonias características obtenidas, fueron sometidas a recuento y cultivadas (1-5 colonias) en medio fluido Tio-glicolato a 35°C por 24h, de manera independiente, y luego fueron almacenadas en condiciones de refrigeración. Para evaluar la presencia de enterotoxina, mediante ensayo RPLA, se realizó un cultivo previo en caldo carne cocida a 35°C por 24h.

La investigación de la presencia de enterotoxina se realizó utilizando los kits rápidos RPLA de Oxoid, específicos para cada microorganismo y el procedimiento asumido fue el indicado por el fabricante (12, 13). En este ensayo, se obtiene como respuesta positiva a la presencia de la enterotoxina, la aglutinación de las partículas de látex, en un tiempo de 20-24h, debido a la formación de una estructura enmallada, la cual forma una capa difusa sobre la base de la celda. Si la enterotoxina está ausente o a una concentración por debajo del nivel de detección del ensayo, no se forma la estructura

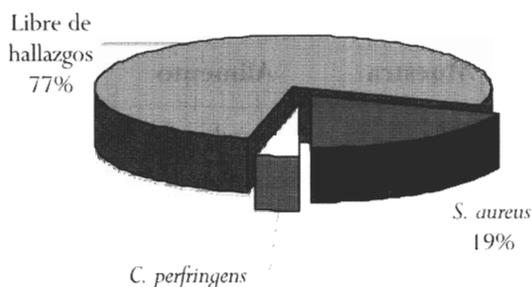


Figura 3. Composición de Hallazgos Totales

enmallada, y se observa un punto firme en el fondo de la celda. Verticalmente se evalúan, de manera separada, las diferentes enterotoxinas que el kit permite detectar: enterotoxinas A, B, C y D para *S. aureus*, y enterotoxina A para *C. perfringens*.

Resultados y discusión

Del total de las 112 muestras recogidas, se obtuvieron los siguientes hallazgos: 22 muestras con recuentos para *S. aureus* y 4 muestras con recuentos para *C. perfringens*, que corresponden a 19.47% y 3.54%, respectivamente (Figura 3). La fracción restante pertenece a los casos donde no se evidenció crecimiento de los patógenos, objeto del estudio, dando como resultado un recuento < 10 ufc/g.

Los tipos de alimentos donde se obtuvo recuento < 10 ufc/g, tanto para *S. aureus* como para *C. perfringens*, fueron los siguientes: arepa de choclo con queso, arepa de queso, arepa de huevo, arroz blanco, arroz con pollo, arroz mixto, carne asada, carne a la bolognesa, carne en salsa, carne molida, chorizo, empanada chilena, empanada de pollo, ensalada de guacamole, goulash, hamburguesa, jugo natural de agrás, jugo natural de mora, mantecada, milhoja, papa rellena -de carne y papa-, pasta cocida, pastel de yuca, pastel de pollo, pescado apanado, pizza horneada,

Tabla 1. Resultados: recuentos y ensayo de coagulasa

Nº Muestra	Alimento	Recuentos de <i>S. aureus</i> (ufc/g)	Coagulasa	Recuentos de <i>C. perfringens</i> (ufc/g)
5	Queso de cabeza	63x10 ²	+3	< 10
10	Fresas con crema	40	+1, +4	< 10
12	Lasaña	8 0	+1, +2, +4	< 10
13	Pizza cruda	2 0	+1, +4	< 10
19	Queso campesino	2 0	+3	< 10
21	Ensalada de frutas	16 x10 ¹	+3, +4	< 10
22	Sándwich jamón y queso	3 0	+1, +3	< 10
45	Pizza cruda	10	+4	< 10
55	Empanada	< 10		23 x10 ²
64	Salpicón	< 10		10
65	Pizza cruda	20	+4	< 10
76	Jugo natural mango	< 10		10
77	Lasaña	30 x10 ¹	+2	< 10
78	Lasaña	23 x10 ¹	+2	< 10
83	Fresas con crema	22 x10 ¹	+3	< 10
84	Fresas con crema	30	+3	< 10
88	Coliflor a la crema	36 x10 ¹	+3, +4	< 10
90	Papa al perejil	19 x10 ¹	+3, +4	< 10
92	Salpicón	28 x10 ¹	+3	< 10
93	Queso de cabeza	45 x10 ²	+3	< 10
94	Queso de cabeza	66 x10 ²	+3	10
97	Ensalada rusa	2 0	+2	< 10
102	Ensalada de almuerzo	10	+2	< 10
105	Ensalada de almuerzo	11 x10 ¹	+2, +3	< 10
108	Verdura con mayonesa	25 x10 ¹	+3	< 10

Nota: se precisa la composición de las siguientes muestras:

102: ensalada de espinaca, lechuga, cebolla, vinagreta, ajo, aceite.

105: ensalada de rábano y lechuga.

Muestras pertenecientes a componentes de almuerzo: papa al perejil (90), ensalada rusa (97), ensalada (102), ensalada (105), verdura con mayonesa (108).

queso crema, queso relleno con bocadillo, queso pera, queso pera ahumado, queso crema tajado, salchichón, sándwich de atún, tamal, torta de banana, torta de choclo, torta de chocolate, torta de ciruela, torta de queso. Los demás recuentos, se muestran en detalle en la Tabla 1.

El cultivo en medio selectivo para *S. aureus* (B.P), permitió el crecimiento de colonias con actividad lecitinasa y reducción de telurito, pero fueron desvinculadas del recuento de *S. aureus* por no cumplir con la condición morfológica, es decir que no eran cocos.

S. aureus: Se evidenció crecimiento en muestras de: fracciones componentes de almuerzo, queso de cabeza, pizza cruda, lasaña, fresas con crema, salpicón, ensalada de frutas, sándwich y queso campesino. La frecuencia con la que se encontraron colonias de *S. aureus* en las muestras puede ser observada en la Figura 4. Se obtuvo hallazgo del 100% en las muestras de queso de cabeza, fresas con crema, pizza cruda y ensaladas de almuerzos. Con respecto a las fracciones componentes de almuerzo, se destaca que la contaminación está centrada sobre las ensaladas y verduras manipuladas después de su cocción, fundamentalmente, lo cual lleva a decir que estas preparaciones no están siendo elaboradas bajo condiciones de higiene que las

haga aptas para su consumo. Es de destacar el caso del “coliflor a la crema”, pues es un alimento que por haber sido sometido a un proceso de cocción, debería contar con una marcada reducción de la carga microbiana.

Al hallazgo del 100% en las muestras de queso de cabeza debe sumársele el evento de una contaminación simultánea de *S. aureus* y *C. perfringens*, lo que resalta su condición de alimento de alto riesgo. La contaminación evidenciada en las muestras de fresas con crema, salpicón y ensalada de frutas debe ser atribuida directamente a la manipulación y calidad microbiológica del producto. El crecimiento microbiano en la lasaña lista para calentar y consumir es de destacar, pues es un indicador directo de materias primas de deficiente calidad, manipulación inadecuada y elaboración en condiciones desfavorables de higiene. Los resultados de sándwich y queso campesino son atribuibles al componente proteico y/o manipulación inadecuada.

El muestreo de pizza cruda representa una excepción en este estudio puesto que fue el único alimento muestreado antes y después de su cocción; el hallazgo sólo en el alimento crudo demuestra claramente que la destrucción del viable impide su hallazgo en el producto terminado, pero no elimina la enterotoxina preformada, que es la causante de la intoxicación. En este sentido, se demuestra que aunque la normatividad establece límites permitidos para *S. aureus* coagulasa positivos, existe el riesgo potencial porque no se garantiza la inocuidad del producto.

Una vez confirmada la actividad de la coagulasa del microorganismo (Figuras 5 y 6), el último procedimiento realizado fue la aplicación del test RPLA para *S. aureus*, con el fin de determinar la presencia de enterotoxinas A, B, C y D en los aislados. De la realización de dicho test, se obtuvieron los siguientes resultados: ausencia de enterotoxina en niveles detectables

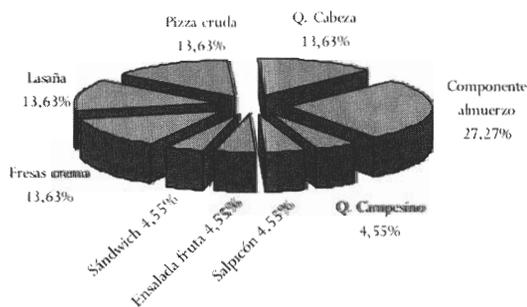


Figura 4. Composición de hallazgos de *S. aureus*.

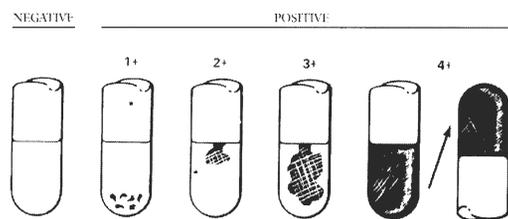


Figura 5. Ensayo de coagulasa.

(0.5 ng/ml) en la mayoría de las muestras, excepto en dos muestras correspondientes a pizza cruda. Se determinó la presencia de enterotoxina D en la “primera” de ellas y en “segunda” se determinó presencia de enterotoxina C y dudosa presencia de enterotoxina D. Los resultados y sus patrones de interpretación se muestran en las Figuras 7, 8, 9 y 10.

Pero ahora veamos los resultados preliminares y su relación con la presencia de enterotoxina: Es de resaltar que los aislados enterotoxigénicos no eran precisamente los de mayor recuento, lo cual lleva a concluir que la producción de la toxina y el número de ufc/g no están relacionadas.

En el ensayo de producción de coagulasa se encontró, en repetidas ocasiones, que entre las 5 colonias tomadas había variación en cuanto a la producción de coagulasa lo cual se interpreta como presencia de aislados distintos, como

puede observarse en la Tabla 1. Por tanto, para los subsiguientes ensayos, las colonias de una misma muestra fueron codificadas y trabajadas como subcolonias (por ejemplo, 10(1), 10(2), etc.). La clasificación, según el ensayo de coagulasa fue 1+, 2+, 3+, 4+ (Figuras 5 y 6); pese a que la técnica específica que 1+ no es un resultado positivo para coagulasa, se experimentó con estas muestras para corroborar el precepto teórico. En la experimentación se obtuvo que los aislados que dieron positivo en el ensayo de RPLA también tenían valor de coagulasa 4+.

En algunos casos se presentó pérdida de la actividad lecitinasas al ser repicadas en B.P, y por tanto, el aislamiento por agotamiento no fue favorable. Sin embargo, ello no implicó el descarte del cultivo hasta investigar la presencia o ausencia de enterotoxina. Se observó que los aislados que mostraron presencia de enterotoxina no perdieron su actividad lecitinasas durante los repiques, pero no puede decirse que este comportamiento sea concluyente.

C. perfringens. Los casos en los cuales se obtuvo crecimiento de colonias características fueron 4 muestras, de las 112: empanada, salpicón, jugo de mango y queso de cabeza, con una participación individual del 25% del total de los hallazgos para este microorganismo. Los recuentos se presentan en la Tabla 1. El procedimiento seguido es el mencionado en la metodología.

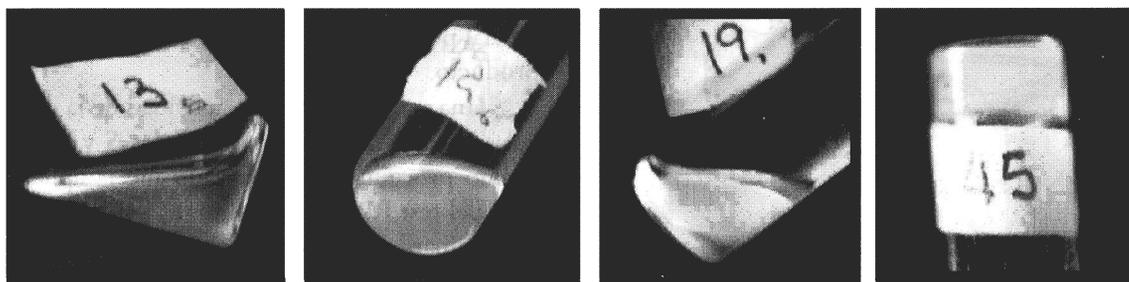


Figura 6. Resultados del ensayo de coagulasa en plasma humano de menor a mayor 1+, 2+, 3+, 4+ (números 13, 12, 19 y 45, respectivamente).

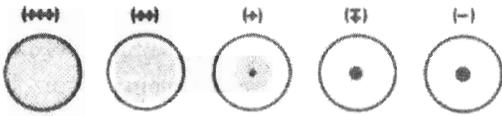


Figura 7. Interpretación de resultados del ensayo RPLA.

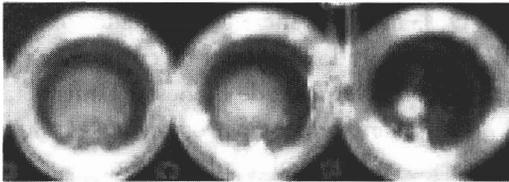


Figura 8. RPLA, utilizando enterotoxina del kit. De izquierda a derecha: (+ +), (+), (-)

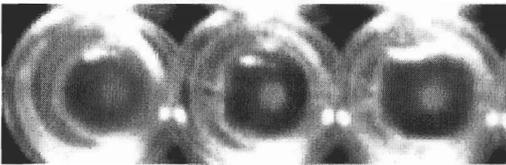


Figura 9. RPLA. Pizza Cruda. "Primera" muestra. De izquierda a derecha: pocillo más concentrado al menos concentrado.

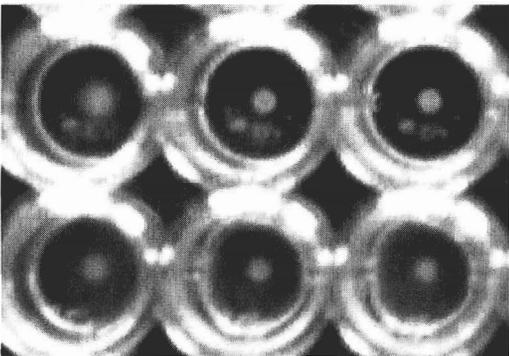


Figura 10. RPLA. Pizza cruda. "Segunda" muestra. Primera fila: evaluación de enterotoxina C; Segunda fila: Evaluación de enterotoxina D. de izquierda a derecha: pocillo más concentrado al menos concentrado.

La obtención de recuentos de este microorganismo fue notablemente baja en 3 de las 4 muestras contaminadas en donde se encontraron viables. Sin embargo, se obtuvo un alto recuento en una muestra de empanada de carne, como puede verse en la Tabla 1.

Para el caso de la empanada, si se consideran las condiciones necesarias para el crecimiento y esporulación del *C. perfringens* y que este alimento cuenta con una cocción previa de sus ingredientes y una fritura final donde se alcanza el punto frío con facilidad y rapidez, debería ser evidente la reducción de la carga microbiana, pero a juzgar por los recuentos obtenidos puede decirse que se presentó una deficiencia en alguna de las etapas involucradas a lo largo de todo el proceso, o a un mal manejo del producto en la disposición para la venta, de manera que la condición de almacenamiento hubiese permitido el crecimiento, lo cual lleva a que este alimento no sea inocuo.

La presencia del organismo en las muestras de salpicón y jugo natural de mango, deja ver condiciones inadecuadas de manipulación y almacenamiento puesto que la contaminación pudo provenir de la tierra y el aire, por lo que las prácticas de higiene y desinfección de las materias primas son fundamentales. Es de destacar que se obtuvieron hallazgos de *S. aureus* y *C. perfringens* en muestras separadas de salpicón, lo que permite considerar que este alimento representa un doble riesgo.

En cuanto al queso de cabeza, puede decirse que el recuento obtenido es bastante bajo debido a que este alimento representa un buen sustrato, pero aquí entran a jugar un papel importante factores como el componente graso, y la presencia de aditivos como el nitrato de potasio que en concentraciones adecuadas impiden el desarrollo de la spora.

El último procedimiento realizado fue la aplicación del test RPLA para *C. perfringens*, examinado a determinar la presencia de toxina

en los cultivos del microorganismo. De la aplicación de este test, se obtuvieron resultados negativos de aglutinación, en todos los casos, lo cual expresa ausencia de enterotoxina A en los niveles detectables (2 ng/ml).

Los resultados obtenidos en este estudio confirman la dificultad que tiene la localización del microorganismo y la detección de su toxina al cultivarlo de manera *in vitro*.

Si bien es cierto que los resultados de análisis microbiológico de *C. perfringens* desvinculan las muestras con un caso de toxiinfección, los recuentos —especialmente para el caso de la empanada— no permiten desvincularlos con el riesgo potencial, puesto que la dosis infectiva de *C. perfringens* es 100 ufc/g (Tabla 1).

Del trabajo desarrollado se obtienen resultados que sirven como herramienta para establecer que es pertinente seguir la búsqueda de aislados enterotoxigénicos de *Staphylococcus aureus* en alimentos crudos, hasta completar la gama de los microorganismos productores de las diferentes enterotoxinas y luego dar paso a la implementación de la técnica de su detección, de manera que se reduzcan los costos de los análisis y se pueda prestar un servicio externo tanto a entidades distritales, estatales, a la industria o a aquellos que busquen controlar la calidad de sus productos, con el fin de aportar a la inocuidad alimentaria en Colombia.

Por otro lado, es importante investigar para que se logre obtener medios de cultivos cada vez más selectivos y estudiar el comportamiento que tiene el microorganismo en los procesos de aislamiento, y otros factores que afecten la enterotoxina y su producción.

De manera paralela, debe seguirse la investigación en *C. perfringens* trabajando en cooperación con servicios de salud que detecten en sus pacientes el cuadro clínico de la toxiinfección para localizar el microorganismo y continuar con los trabajos que a partir allí puedan

adelantarse tales como estandarizar la técnica, ofrecer el servicio a los interesados, adelantar investigaciones que permitan llegar a correlacionar datos para determinar el número de esporas que producen la toxiinfección, y demás análisis que aporten al conocimiento del microorganismo y sus enterotoxinas.

De la misma manera los resultados obtenidos han permitido establecer un cronograma de trabajo con la División de Bienestar Universitario, a fin de implementar programas de calidad que aseguren la inocuidad de los alimentos que la comunidad universitaria consume en sus instalaciones, así como es el interés trabajar en los programas de epidemiología y salud pública en la Universidad de tal manera que se establezca estadísticamente la incidencia de ETAs y generar modelos que permitan el manejo de los servicios de alimentación.

Agradecimientos

Agradecemos a las Divisiones de Investigación (DIB) y de Bienestar Universitario, oficina de Promoción Estudiantil de la Universidad Nacional de Colombia, a Edelberto Silva, docente del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia, a los administradores de los expendios de la Universidad Nacional de Colombia, al laboratorio clínico de Unisalud de la Universidad Nacional de Colombia, a Oxoid por su asesoría técnica, y a todos aquellos a los que aportaron, de una u otra forma, al desarrollo de la investigación.

Bibliografía

1. I.L. Perdomo, “Determinación y aislamiento de cepas enterotoxigénicas de *S. aureus* y *C. perfringens* a partir de alimentos”,

- Trabajo de Grado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C. 2003.
2. INPPAZ –OPS-OMS, “Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina y características socio-económica de sus vendedores y consumidores”. C.R. Almeida et al., editores, 1996.
3. S. Meter, editor, “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology”, Vol 2, Williams & Wilkins ed., New York, 1986. Págs. 1013-1019, 1141-1182.
4. M.J. James, “Microbiología Moderna de los Alimentos”. Editorial Acribia, Zaragoza, 1973. Págs 190-206, 210-214.
5. T.N. John, J.S. Anthony, “Microbiología de los Alimentos y sus Procesos de Elaboración” Editorial Acribia, Zaragoza, 1978. Págs. 206-209.
6. ICMSE, “Microorganismos de los Alimentos 1, su significado y métodos de enumeración”. Editorial Acribia, Zaragoza, 2000; Págs. 28-32, 35-36, 229-266, 275-284.
7. Universidad de Salamanca, Fundación General, “APPCC Seguridad en los Alimentos”, WebCD, 2002.
8. ICMSE, “Microorganismos de los Alimentos 2, métodos de muestreo para análisis microbiológicos: principios y aplicaciones específicas”, Editorial Acribia, Zaragoza, 2001. Págs. 3-75.
9. Oxoid, “Food Borne Pathogens, Monograph Number 6, *Staphylococcus aureus*” Oxoid Setting Standards.
10. Oxoid, “Food Borne Pathogens, Monograph Number 4, *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*. Oxoid Setting Standards. Págs. 1-20.
11. American Public Health Association (APHA), “Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods”, American Public Health Association, Inc. 1976. Págs 374-415, 437-447.
12. Oxoid. Inserto “Set-RPLA Staphylococcal enterotoxin test kit”
13. Oxoid. Inserto “Pet-RPLA *Clostridium perfringens* enterotoxin test kit”.