

## Brote de enfermedad alimentaria en la localidad de El Huecú, provincia de Neuquén

C. LÓPEZ<sup>4\*</sup>, A. FELTRI<sup>2</sup>, G. LEOTTA<sup>6</sup>, G. GONZÁLEZ<sup>3</sup>, E. MANFREDI<sup>6</sup>, G. GOTTARDI<sup>5</sup>, M. ELDER<sup>4</sup>, S. DE LAS CARRERAS<sup>1</sup>, C. PATRI<sup>1</sup>, F. GUAJARDO<sup>1</sup>, A. SAN MARTÍN<sup>1</sup>, M. RIVAS<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Hospital de Área El Huecú. Guemes s/n (8349) El Huecú (Neuquén); <sup>2</sup>Coordinación de Epidemiología, Zona Sanitaria II. Avda. Trannack 2500 (8340) Zapala (Neuquén); <sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología, Hospital Horacio Heller (Neuquén). Coronel E. Godoy y Lihuen (8300) Neuquén capital; <sup>4</sup>Dirección de Epidemiología, Subsecretaría de Salud de Neuquén. Fotheringam 120 (8300) Neuquén capital; <sup>5</sup>Laboratorio de Microbiología, Dirección de Bromatología, Subsecretaría de Salud de Neuquén. Pinar 37 (8300) Neuquén; <sup>6</sup>Servicio Fisiopatología, Departamento Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Av. Vélez Sarsfield 563 (1281) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\* Correspondencia. E-mail: glaniegon@yahoo.com.ar

### RESUMEN

En febrero de 2006 ocurrió un brote epidémico de gastroenteritis aguda de origen alimentario, en ocasión de un festejo popular en una pequeña localidad de la provincia de Neuquén, Argentina. Aproximadamente 800 personas participaron de un almuerzo en las instalaciones del Gimnasio Municipal, y unas tres horas después de finalizado, cerca de 150 asistentes consultaron al hospital local, afectados por síndrome gastroentérico agudo. Se realizó una investigación epidemiológica caso-control a través de un muestreo representativo no probabilístico. Los resultados epidemiológicos establecieron un brote de ETA a fuente común, con una relación caso-control de 1:1,8. Los principales síntomas fueron cólicos abdominales (88%), vómitos (73,5%) y diarrea (60%). La torta que se sirvió en ese evento fue identificada como el alimento causal (OR 9,79; IC 95%; 2,66-36,00; valor p = 0,0001), sujeto a condiciones higiénico-sanitarias insatisfactorias en los diferentes procesos de elaboración, conservación y manipulación. De una porción de la torta se aisló una cepa de *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus*, coagulasa positiva, enterotoxigénica, con un recuento de 2,4x10<sup>6</sup> UFC/g, y también se aisló este microorganismo de tres muestras de manos y narinas de personas involucradas en la preparación y el servicio. Las cepas aisladas de un operador y de la torta portaron el gen *sea* y presentaron el mismo patrón de *SmaI*-PFGE. Se atribuyó el brote de ETA a la contaminación durante el proceso de preparación de la torta consumida durante ese almuerzo popular, lo que podría estar relacionado con deficiencias en aspectos higiénicos y con la falta de refrigeración y de mantenimiento de la cadena de frío.

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico, brote de enfermedad alimentaria; estudio de casos y controles

### ABSTRACT

**Foodborne disease outbreak in El Huecú community, province of Neuquén.** In the summer of 2006, an epidemic outbreak of acute gastrointestinal illness related to food consumption occurred in a small town in the province of Neuquén, Argentina. During a popular feast, approximately 800 local residents attended lunch held in the facilities of the Municipal Gymnasium. About three hours later, nearly 150 attendees sought medical assistance at the local hospital due to acute gastroenteritis. A case-control epidemiological investigation was conducted using representative non-probability sampling. The epidemiological investigation showed a common-source foodborne disease outbreak with a case-control ratio of 1:1.8. The main symptoms were abdominal cramps (88%), vomiting (73.5%) and diarrhea (60%). The cake was identified as the source of infection (OR 9.79; IC 95%, 2.66-36.00; p = 0.0001), and unsatisfactory hygienic conditions in food production, conservation and handling steps were identified. Coagulase positive, enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*, subspecies *aureus* was detected in a piece of cake, with a count of 2.4x10<sup>6</sup> CFU/g, and in samples from the hands and nostrils of three people involved in food preparation and service. The strains isolated from both the cake and one of the food handlers carried the *sea* gene, and presented the same *SmaI*-PFGE pattern. The foodborne disease outbreak was considered to be due to contamination in the preparation process of the cake consumed at the feast, which was related to inadequate hygienic conditions, lack of refrigeration and cold chain disruption.

**Key words:** enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*; foodborne disease outbreak; case and control studies

### INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen uno de los problemas de salud más relevantes. Entre sus causas más frecuentes se encuentra el

consumo de alimentos que sufrieron contaminación biológica (20). Se considera que la gran mayoría de los brotes de ETA no son detectados como tales, y que existe un subregistro y una subnotificación de ellos en el proceso de vigilancia epidemiológica, además de una deficiente

respuesta interinstitucional para su adecuada prevención y control, en resguardo de la salud de la población.

Los pequeños brotes familiares son diagnosticados como enfermedades gastrointestinales, diarreas o enterocolitis identificadas en las consultas que se realizan en los establecimientos asistenciales. Sin embargo, no es habitual poder establecer los nexos epidemiológicos ni efectuar las investigaciones correspondientes más allá del estudio y el tratamiento individual del paciente (15).

Las ETA de origen infeccioso pueden estar vinculadas con agentes virales, parasitarios y bacterianos. Entre las bacterias asociadas a ETA se incluyen *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens*.

*Staphylococcus aureus* es un microorganismo que coloniza la piel, la mucosa y la nasofaringe de hombres y animales (10). Su presencia en los alimentos procesados se debe a la contaminación introducida por los operadores debido a prácticas de manufactura inadecuadas, o bien a la utilización de materia prima contaminada (1).

En la población adulta sana se pueden distinguir tres tipos de portación asociada a factores del huésped y del microorganismo: a) portadores intermitentes (60% de los individuos), b) portadores persistentes (20%), y c) no portadores (20%) (12, 25, 22). La contaminación puede ocurrir también por contacto del producto alimenticio con superficies expuestas a materia prima contaminada. Entre los alimentos implicados en brotes de ETA asociados a *S. aureus* se encuentran la leche y sus derivados, como queso, crema, yogur y helados. También la carne vacuna, la carne cocida cortada en rebanadas, las aves, los pescados, la mayonesa, los productos de pastelería, los sándwiches, las ensaladas y los flanes, entre otros. La multiplicación de *S. aureus* en el alimento está favorecida por determinadas condiciones, entre ellas, temperatura de almacenamiento  $>10^{\circ}\text{C}$ , actividad acuosa  $>0,86$  y  $\text{pH} > 5$  (24).

Los principales factores de virulencia de *S. aureus* son las enterotoxinas SE, proteínas simples de bajo peso molecular (26.000-34.000) (2, 4) y termotolerantes (6). Hasta hace unos años se reconocían 5 tipos de enterotoxinas por inmunodifusión: SEA, SEB, SEC, SED y SEE. Posteriormente se identificaron 13 nuevos tipos: SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER y SEU; en la actualidad se reconocen 18 tipos de SE, además de SEC1, SEC2 y SEC3 (3, 7, 11, 14, 16, 19, 21, 23, 26).

Después de la ingesta de alimentos que contienen enterotoxinas se produce un breve período de incubación de 1-6 h, y luego comienzan los síntomas clínicos. Estos aparecen en forma brusca y habitualmente son vómitos, náuseas, dolor abdominal, malestar general, debilidad, postración, calambres y diarrea moderada. La mayoría de los enfermos se recuperan en 24-48 h sin necesidad de tratamiento, aunque personas en mayor riesgo, como

niños y ancianos, pueden requerir atención hospitalaria. Los casos fatales son infrecuentes (9).

En el presente trabajo se describe la investigación de un brote de ETA ocurrido el 16 de febrero de 2006 en El Huecú, provincia de Neuquén, en ocasión de un festejo popular.

## MATERIALES Y METODOS

### Descripción del lugar

La localidad de El Huecú es la capital del Departamento Ñorquín, se encuentra a 1200 m sobre el nivel del mar y a 380 km al noroeste de la ciudad de Neuquén. Cuenta con una población de 1399 habitantes y el clima es predominantemente frío.

### Descripción del brote

Entre las 18 h del 16 de febrero y las 12 h del 17 de febrero de 2006 se atendieron en la guardia del Hospital de Área El Huecú 140 pacientes de diversas edades, quienes presentaron signos y síntomas de una enfermedad gastrointestinal. Los pacientes refirieron en común la concurrencia el día 16 de febrero a un almuerzo organizado por la Municipalidad con motivo del aniversario del pueblo, al que asistieron entre 800 y 1000 personas. Los cuadros clínicos fueron de mayor intensidad en adultos, y se trataron y controlaron adecuadamente con medicación antiemética e hidratación oral o endo-venosa.

### Investigación del brote

Se realizó un estudio caso-control mediante un muestreo cualitativamente representativo no probabilístico, debido a la continuidad de los festejos en el pueblo. Se realizó el cálculo de la muestra considerando una distribución uniforme, con una tasa de ataque (17,5%) calculada sobre la base del número de consultas (140) y la estimación de concurrentes (800), con un intervalo de confianza del 95%. Se definió como "población fuente" a todos los concurrentes al almuerzo popular. Se consideraron "expuestas" todas las personas que concurren al almuerzo popular el mediodía del 16 de febrero o que consumieron algún alimento en el Gimnasio Municipal entre las 12.30 y las 16 h de ese día, o bien que consumieron en su domicilio algún alimento proveniente del almuerzo, en horas posteriores. Se consideró "población de estudio" a los 147 pobladores entrevistados los días 17 y 18 de febrero en sus domicilios, lugares de trabajo o en la vía pública, dada la continuidad de los festejos durante los tres días posteriores al almuerzo popular. Se efectuaron encuestas a los pobladores utilizando un cuestionario estructurado, con concurrencia a los domicilios de las personas, en horarios convenientes, en los diferentes barrios de la localidad. Asimismo, dadas las actividades organizadas para celebrar el aniversario, se realizaron encuestas en la plaza principal, a concurrentes ocasionales de diversas procedencias. Se ubicaron en un plano de la localidad los lugares de residencia de todas las personas entrevistadas que habían concurrido al almuerzo popular, tanto enfermos como no enfermos.

Se definió como "caso" a toda persona con al menos uno de los siguientes signos o síntomas: dolor cólico abdominal, diarrea o vómitos a partir del mediodía del día 16 de febrero y que hubiera consumido algún alimento elaborado para el evento. Se definió como "control" a toda persona que hubiera concurrido al almuerzo popular o que hubiera consumido algún alimento elaborado para el evento sin desarrollar los síntomas.

Se realizó un análisis bivariado con ajuste por sexo y edad para controlar factores de confusión relacionados con el tipo y la cantidad de alimento consumido.

En el momento de la entrevista se identificaron casos y controles. Se respetó una distribución espacial según el barrio de residencia de los entrevistados. La encuesta se complementó con entrevistas a los organizadores y colaboradores del evento.

Los bloques de la encuesta/cuestionario consistieron en: 1- datos filiatorios, 2- datos sociodemográficos, 3- concurrencia al evento y consumo de alimentos, 4- ubicación espacial dentro del salón 5- tipo de participación en la organización previa, 6- presentación y caracterización de los síntomas, 7- sospecha de alimento involucrado.

Se conformó la base de datos y se realizó el análisis estadístico utilizando el programa EPI\_Info versión 6.0X. Finalmente, se inspeccionaron las instalaciones y los equipos utilizados para preparar y conservar los alimentos consumidos el día 16 de febrero de 2006.

## Análisis microbiológico

### Toma de muestras

Ante la presunción de un brote de ETA a fuente común con origen en el almuerzo del 16 de febrero, se tomaron tres tipos de muestras: 1) alimentos, 2) especímenes clínicos, 3) de los operadores. Entre los días 17 y 20 de febrero, la Dirección de Bromatología recibió un total de seis muestras de alimentos consumidos el día del almuerzo: torta con trozos de fruta y crema chantilly, jugo artificial de naranja, peras con cáscara, resto de polvo para preparar crema chantilly utilizada en la torta, carne vacuna asada y agua de hielo. El 17 de febrero se entregaron recipientes para la recolección de muestras clínicas, aunque sólo se recolectó una muestra de material de vómito de una paciente. El día 22 de febrero, mediante la utilización de hisopos estériles, se tomaron muestras de manos y narinas a siete operadores de alimentos, 1 cocinero, 2 reposteros y 4 mozos. Las muestras de los operadores (hisopados de manos y narinas) fueron colocadas en medio de transporte Stuart (Laboratorios Britania) hasta su procesamiento.

### Procesamiento de las muestras de alimentos

Las seis muestras de alimentos fueron procesadas para la detección y el aislamiento de *S. aureus*, *B. cereus*, *Salmonella* spp., *E. coli*, *Shigella* spp. y *Clostridium perfringens*. La metodología analítica empleada se basó en el manual de procedimientos propio, sustentado en los lineamientos normativos del ICMSF año 1996 (10). En las muestras de pera se investigó la eventual presencia de residuos de plaguicidas, en un laboratorio de Toxicología de la ciudad de Cipolletti (Río Negro).

### Procesamiento de las muestras clínicas

La única muestra de vómito recibida se sembró en agar sangre (Agar Base Tripticasa Soja, Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina) y agar Baird Parker (Becton Dickinson, Le Pont de Claix, EE.UU.) para la búsqueda de patógenos de transmisión alimentaria.

### Procesamiento de las muestras de operadores

Una vez en el laboratorio, los hisopos fueron colocados en tubos con 2 ml de caldo nutritivo (Laboratorios Britania) y se incubaron durante 18-20 h a 35 °C; luego se sembraron en placas de agar Baird Parker que se incubaron durante 24 h a 35 °C en atmósfera normal. Las colonias compatibles con *Staphylococcus* spp. fueron reaisladas en agar sangre y tipificadas por pruebas bioquímicas (según el manual de procedimientos propio).

## Caracterización y subtipificación de los aislamientos de *Staphylococcus aureus*

### Caracterización fenotípica

Los aislamientos fueron sembrados en agar Baird Parker (Becton Dickinson), en el que se evaluó la reducción de telurito de potasio y la producción de lecitinasa. Se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas según Koneman (13): catalasa, coagulasa en tubo, DNAsa (Laboratorios Britania), producción de acetofina (caldo RM/VP, Laboratorios Britania) y reducción de nitrato (caldo cerebro corazón 2,5%, KNO<sub>3</sub> 0,1%, Standard, EE.UU.). Luego se ensayó la fermentación de azúcares al 1% en caldo base de rojo fenol (Becton Dickinson). Los azúcares

probados fueron: trehalosa, lactosa y manosa (ICN Biomedicals Inc., Ohio, EE.UU.). Simultáneamente, se utilizó el sistema automatizado miniVIDAS (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Francia) y el equipo de inmunoensayo TECRA (International Pty Ltd, Australia), a fin de determinar la capacidad de los aislamientos para producir el *pool* de enterotoxinas SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED y SEE.

### Caracterización genotípica

Para la detección de los genes *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* y 16S ARNr, se utilizaron los protocolos para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) descritos por Monday y col. (18) y Lovseth y col. (17).

### Subtipificación molecular

La técnica de PFGE fue realizada según el protocolo descrito por Chung y col. (5), con algunas modificaciones. Los bloques de agarosa con el ADN de cada cepa fueron digeridos con 15 U de la enzima de restricción *Sma*I (Promega, Madison, WI, EE.UU.). El marcador de peso molecular utilizado fue Lambda Ladder PFGE Marker (New England Biolabs, Beverly, MA, EE.UU.). Los fragmentos de ADN fueron separados en un gel de agarosa al 1% (Seakem LE Agarose, Rockland, ME, EE.UU.) en buffer tris borato EDTA 0,5X a 11,3 °C, en una cámara de electroforesis CHEF-DR III system (BioRad, Hercules, CA, EE.UU.). El análisis de los geles se realizó con el programa Doc-It Image Acquisition (UVP) y con el software BioNumerics versión 3.5 (Applied Maths, Kortrijk, Bélgica). La relación entre los perfiles fue estimada por la proporción de bandas compartidas aplicando el coeficiente de Dice y generando dendrogramas basados en el método UPGMA. Los patrones moleculares obtenidos por *Sma*I-PFGE fueron agrupados en grupos clonales con una similitud del 100%.

## RESULTADOS

### Investigación del brote

Las 147 personas identificadas como "expuestas" a partir del cuestionario, se hallaban en un rango de edad de entre 1 y 78 años. La relación mujer-hombre fue de 1,3:1. De las 147 personas, 53 cumplieron la definición de caso, de modo que la relación caso-control fue de 1:1,8. La distribución de casos y controles fue uniforme y no mostró diferencias significativas por sexo ni edad. Se demostró que la exposición al riesgo de enfermar no estuvo relacionada con las diferentes ubicaciones en el salón donde ocurrió el evento.

La curva epidémica correspondiente a los casos (Figura 1) muestra las características de una fuente común. El período de incubación se estimó en una media de 7 h 24 min (IC 95%; 6 h 8 min- 8 h 45 min) y no mostró diferencias estadísticamente significativas según sexo o grupo de edad ( $p = 0,42$  con test para 2 muestras de Mann Whitney/Wilcoxon). En relación con la presentación de síntomas, predominaron los dolores cólicos (88%), seguidos en orden de frecuencia por los vómitos (73,5%) y la diarrea (60%). Del total de entrevistados que enfermaron, el 62% consultó al servicio de salud.

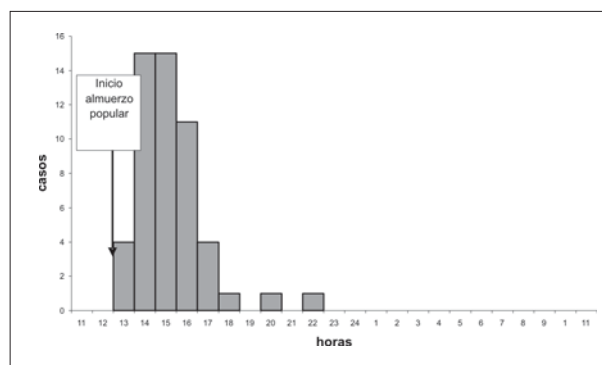
A través del análisis epidemiológico ajustado por sexo y edad se demostró que el principal alimento asociado con la intoxicación alimentaria fue la torta (OR 9,79; IC 95%; 2,66 - 36,0;  $p = 0,0001$ ), siguiéndole la pera (OR 2,71; IC 95%; 1,13-6,48;  $p = 0,023$ ) (Tabla 1). La tasa de ataque fue estimada en 17,5%, calculada sobre la base

de las consultas hospitalarias y de una "población fuente" estimada en 800 personas. Dicho ajuste se realizó para controlar sesgos relacionados con el tipo y la cantidad de alimentos consumidos según la edad y el sexo.

En la inspección posterior al brote se identificaron variables ambientales, de elaboración y de distribución de los alimentos que pudieron haber contribuido a su contaminación. Se constató un contexto predisponente desfavorable en el que se destacó la pérdida de la cadena de frío; la utilización de envases reciclados y no herméticos para los jugos; una deficiente provisión de elementos de higiene en los sanitarios del salón; la presencia de moscas en diversos ámbitos; una temperatura ambiental superior a los 30 °C en horas diurnas; y una amplia participación y colaboración de actores comunitarios para el desarrollo del aspecto gastronómico del evento.

### Análisis de las muestras de alimentos

En la porción de carne asada se confirmó la presencia de *E. coli* (< 10 UFC/g). En la porción de torta (T) se



**Figura 1.** Curva epidémica de 53 casos asociados al brote de intoxicación alimentaria. El Huecú, provincia de Neuquén. Febrero de 2006.

detectó *S. aureus* coagulasa positiva ( $2,4 \times 10^6$  UFC/g). El resto de los alimentos analizados (el jugo artificial de naranja, el polvo para preparar la crema chantilly utilizada en la torta, las peras con cáscara y el agua de hielo) fueron negativos desde el punto de vista microbiológico. El informe del laboratorio de Toxicología informó que en la cáscara y la pulpa de las peras no había plaguicidas organofosforados o carbámicos, u otro compuesto que pudiera haber ocasionado la sintomatología descrita.

### Análisis de las muestras clínicas

El resultado de la muestra de vómito fue negativo para la búsqueda de patógenos de transmisión alimentaria.

### Muestras de operadores

Sobre un total de 28 muestras provenientes de siete operadores, se obtuvieron tres aislamientos de *S. aureus* coagulasa positivos, dos provenientes de las manos de dos reposteros (R1 y R2) y uno de las narinas de un mozo (M).

### Caracterización y subtipificación de los aislamientos de *S. aureus*

Se analizaron cuatro cepas, una proveniente de la torta (T), una proveniente de las narinas de un mozo (M) y dos de las manos de dos reposteros (R1 y R2). Las cuatro cepas fueron identificadas como *S. aureus* subespecie *aureus*. Las cepas T y R2 se caracterizaron por no utilizar lactosa. Se confirmó que las cuatro cepas presentaban la capacidad de producir alguna de las enterotoxinas del pool SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED y SEE. Por PCR se demostró que las cepas T, R2 y M fueron portadoras del gen *sea*. La cepa R1 fue portadora del gen *see*. Sobre un total de cuatro cepas de *S. aureus* analizadas, se establecieron 3 patrones de *SmaI*-PFGE (Figura 2), los cuales presentaron entre 7 y 9 bandas bien definidas de 45 a 630 kb. Las cepas T y R2 (patrón

**Tabla 1.** Estimación del riesgo (bruto y ajustado por edad y sexo) según los alimentos consumidos por las 147 personas identificadas como "expuestas", después del festejo popular de El Huecú, provincia de Neuquén

Alimentos	n	Casos	Controles	OR bruto	OR ajustado (MH)	IC 95%	Valor p <
Asado vacuno	132	43	89	0,24	0,32	0,11-0,97	0,031
Chivo	55	18	37	0,79	0,9	0,44-1,87	0,79
Lechuga	84	33	51	1,39	1,57	0,77-3,19	0,22
Tomate	91	34	57	1,16	1,17	0,57-2,39	0,68
Pera	96	42	54	2,47	2,71	1,13-6,48	0,023
Torta	106	50	56	10,09	9,79	2,66 -36,0	0,0001
Pan	110	30	80	0,23	0,28	0,12-0,61	0,0016
Vino tinto	43	9	34	0,36	0,48	0,19-1,24	0,14
Jugo naranja	121	46	75	1,66	1,15	0,43-3,07	0,78
Otra bebida	16	7	9	1,44	1,38	0,46-4,18	0,58

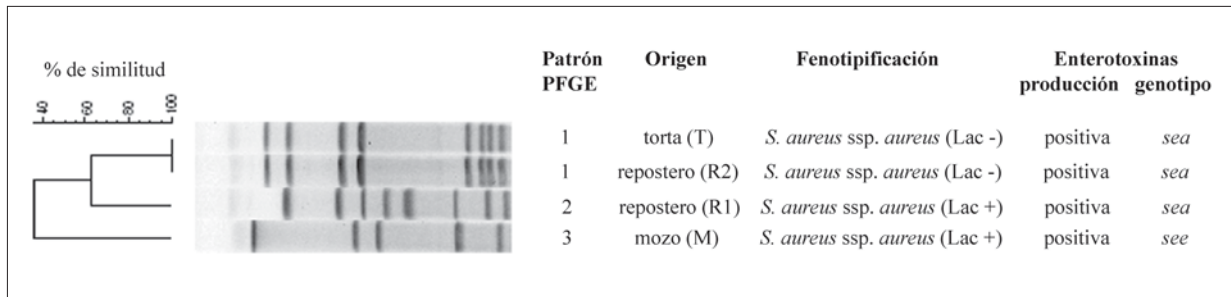


Figura 2. Dendrograma de la relación genética de tres patrones *Smal*-PFGE, origen y perfil feno-genotípico de los aislamientos.

*Smal*-PFGE #1) presentaron un 100% de similitud entre sí, un 62,5% de similitud con la cepa R1 (patrón *Smal*-PFGE #2) y un 34 % de similitud con la cepa M (patrón *Smal*-PFGE #3).

## DISCUSIÓN

La notificación de un brote de ETA se realiza cuando las personas afectadas muestran síntomas, pero la oportunidad de arribar al diagnóstico etiológico, cortar la cadena de transmisión e identificar los factores de protección y riesgo involucrados, en general se pierde, de modo que su estudio muchas veces queda reducido a una descripción de los hechos, con escasas muestras biológicas y de alimentos, o sin ellas. El estudio epidemiológico de caso-control permite identificar varias fuentes simultáneas de exposición, realizar una búsqueda activa y retrospectiva de casos, y detectar aquellas situaciones que condicionaron o determinaron los factores de riesgo y/o de protección.

Considerando las características clínicas de la enfermedad (gastroenteritis aguda), el período de incubación establecido y la duración del brote, se llegó a la conclusión de que existió una fuente común. Se identificó una asociación estadísticamente significativa con el consumo de torta, de manera que se consideró a éste el alimento causal, y por estudios microbiológicos y toxicológicos se descartaron las peras.

El agente etiológico de la intoxicación alimentaria fue identificado como *S. aureus* subespecie *aureus*. Este microorganismo fue aislado de la torta y de tres operadores. Se demostró que todas las cepas estudiadas fueron productoras de enterotoxinas. La cepa aislada de la torta y aquella aislada de las manos de un repostero, ambas productoras de la enterotoxina A, fueron indistinguibles por *Smal*-PFGE y, por lo tanto, pertenecieron a un mismo clon. Este hallazgo permite sugerir que hubo una contaminación durante el proceso de elaboración de la torta. A este hecho se sumó la identificación de varios factores ambientales presentes durante el proceso de elaboración y de distribución de la torta que pudieron

haber contribuido a su contaminación. En efecto, este alimento, posiblemente expuesto a una fuente contaminante durante su preparación, había permanecido a temperatura ambiente hasta el momento de su consumo, lo que en combinación con su matriz nutritiva representó seguramente una condición óptima para la proliferación de *S. aureus* enterotoxigénico. Cabe destacar que las cepas estudiadas podrían ser portadoras de otras enterotoxinas que en este trabajo no fueron estudiadas. De los alimentos implicados en el brote, también se aisló *E. coli* de una muestra de carne con caracteres organolépticos satisfactorios, correctamente cocida, con aspecto y aroma propios. La presencia de *E. coli* indicaría una contaminación poscocción, lo que refuerza la hipótesis de que no hubo condiciones apropiadas para la manipulación de los alimentos, que pudo haber contaminación cruzada con productos crudos o contaminados, o bien una combinación de estos factores.

Si bien *S. aureus* no fue aislado de la única muestra clínica procesada, es interesante mencionar que la sintomatología y las manifestaciones clínicas fueron características de una intoxicación causada por enterotoxinas estafilocócicas. Además, según la FDA (8) para que las enterotoxinas provoquen sintomatología clínica es necesario que *S. aureus* se encuentre en una concentración  $\geq 10^5$  UFC/g de alimento, y en la torta analizada el recuento de *S. aureus* coagulasa positivo fue superior a este límite.

En este trabajo se demostró el gran valor que tiene la investigación epidemiológica de un brote de ETA, incluyendo el trabajo de campo y el análisis epidemiológico de los datos, la toma de muestras y el análisis bacteriológico de los alimentos implicados, así como de muestras procedentes de los operadores que intervienen en la elaboración de los alimentos. También queda demostrado el valor de la caracterización feno-genotípica de los aislamientos y de la utilización de técnicas de epidemiología molecular. La importancia de los resultados obtenidos en este trabajo llevó a proponer recomendaciones tendientes a establecer estrategias de prevención en el Departamento de Ñorquín.

**Agradecimientos:** A todos los integrantes del equipo de Salud del Hospital Área, a las autoridades de la Municipalidad de El Huecú y al Dr. Somaré, a cargo de la Dirección de Zoonosis y Bromatología de la Municipalidad de Zapala, por la amplia colaboración brindada para realizar, de la manera más completa posible, el presente trabajo. En particular, al Intendente a cargo Sr. Simón Ibáñez, a las personas que colaboraron en la obtención de las muestras biológicas y a todos los vecinos que colaboraron voluntariamente en las entrevistas y encuestas y que recibieron en sus domicilios a los encuestadores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bean N, Goulding JS, Lao C, Angulo FJ. Surveillance for foodborne disease outbreaks, United States (1988-1992). *MMWR CDC Surveill. Summ* 1996; 45: 1-66.
2. Bergdoll MS. The enterotoxins. En: Cohen JO, editor. *The Staphylococci*. New York, John Wiley and Sons Inc, 1972, p. 301-31.
3. Bergdoll MS. Enterotoxins. En: Easton CSF, Adlam C, editors. *Staphylococci and Staphylococcal infections*. London, Academic Press 1983, p. 559-98.
4. Bergdoll MS, Huang IY, Schantz EJ. Chemistry of staphylococcal enterotoxins. *J Agricult Food Chem* 1994; 22: 9-13.
5. Chung M, Lencastre H, Matthews P, Tomasz A, Adamsson I, Aires de Sousa M, *et al*. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis: comparison of results obtained in a multilaboratory effort using identical protocols and MRSA strains. *Microbial Drug Resistance* 2000; 6: 189-97
6. Denny CA, Humber JY, Boher CW. Effect of toxin concentration on the heat inactivation of staphylococcal enterotoxin A in beef bouillon and in phosphate buffer. *Appl Microbiol* 1971; 21: 1064-6.
7. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 311-6.
8. Food and Drug Administration - FDA. URL: <http://www.fda.gov>
9. Gilbert RJ, Wieneke AA. Staphylococcal food poisoning with special reference to the detection of enterotoxin in food. En: Hobbs BC, Christian JHB, editors. *The Microbiological Safety of Food*, London, Academic Press, 1973, p. 273.
10. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) *Microorganisms in Foods 5, Microbiological Specifications of Food Pathogens*. London, Blackie Academic and Professional, 1996, p. 299-333.
11. Jarraud MA, Lim A, Tristan M, Bes C, Mougél J, Étienne F. *et al.*, *egc*, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* 2001; 166: 669-77.
12. Kluytmans J, Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 505-20.
13. Koneman EW, Stephen DA, Williams MJ, Schrenberger PC, Washington CW. *Diagnóstico Microbiológico*. 5<sup>ta</sup> ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1999.
14. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I, *et al*. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001; 357: 1225-40.
15. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* 2003; 2: 63-76.
16. Letertre CS, Perelle F, Dilasser, Fach P. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the *egc* cluster of *Staphylococcus aureus*. *J Appl Microbiol* 2003; 95: 38-43.
17. Løvseth A, Loncarevic S, Berdal KG. Modified multiplex PCR method for detection of pyrogenic exotoxin genes in staphylococcal isolates. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3869-72.
18. Monday SR, Bohach GA. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3411-4.
19. Munson SH, Tremaine MT, Betley MJ, Welch RA. Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 1998; 66: 3337-48.
20. Organización Mundial de la Salud. Consultation on prevention and control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections. Report of a WHO Consultation. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 1997.
21. Orwin PM, Fitzgerald JR, Leung DY, Gutierrez JA, Bohach GA, Schlievert PM. Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. *Infect Immun* 2003; 71: 2916-9.
22. Peacock S, De Silva I, Lowy F. What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends Microbiol* 2001; 9: 605-10.
23. Ren K, Bañan JD, Pancholi V, Cheung AL, Robbins JC, Fischetti VA, *et al*. Characterization and biological properties of a new staphylococcal enterotoxin. *J Exp Med* 1994; 180: 1675-83.
24. Rivas M, Moro A. *Staphylococcus aureus* en alimentos. *Rev INFYB* 1981; 313-6
25. Van Der Bergh M, Yzerman E, Van Belkum A, Boelens H, Sijmons M, Verbrugh H. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years; redefining the persistent carrier state. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3133-40.
26. Zhang SJ, landolo JJ, Stewart GC. The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes a second enterotoxin determinant (*sej*). *FEMS Microbiol Lett* 1998; 168: 227-33.