

STAPHYLOCOCCUS AUREUS COAGULASA POSITIVA: ESTADO PORTADOR EN MANIPULADORES DE ALIMENTOS DEL SENA REGIONAL CALDAS EN MANIZALES.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS COAGULASE POSITIVE: CARRIER STATUS IN FOOD HANDLERS OF SENA REGIONAL CALDAS IN MANIZALES.

Luz Adriana Ocampo Henao¹

Daniela Castaño Hernández²

Lina María Castaño³

Recibido: 27 de julio de 2017

Aceptado: 09 de octubre de 2017

Resumen

En este trabajo se determinó la prevalencia del estado portador de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo en manipuladores de alimentos, para ello se analizaron 35 muestras de hisopado de pulpejos bajo las uñas y exudados nasales mediante pruebas bioquímicas. Las muestras obtenidas fueron sembradas sobre Baird Parker Agar suplementado con telurito de potasio, dando como resultado 61 cepas características del microorganismo (29 de manos y 32 de fosas nasales), se confirmó la morfología microscópica de éstas por medio de tinción de Gram y se caracterizaron bioquímicamente los aislamientos, para completar la identificación de *S. aureus* mediante la realización de prueba de determinación de coagulasa, catalasa, termonucleasa, tolerancia a la sal, fermentación de manitol y actividad hemolítica. Con la realización de las pruebas bioquímicas se obtuvo 4 aislamientos procedentes de manos (13,79%) y 14 aislamientos procedentes de fosas nasales (43,75%) que fueron positivos ante las pruebas realizadas, confirmando la presencia de *S. aureus* con un elevado potencial patógeno procedente de los manipuladores de alimentos, con lo cual se establece la prevalencia del estado portador en 15 de los manipuladores muestreados, de los cuales 4 (12,5%) son portadores

1. Colombiana. Ingeniera de Alimentos, Especialista en Microbiología Industrial, Maestría en Nutrición y Biotecnología Alimentaria. Servicio Nacional de Aprendizaje SENA del Centro para la Formación Cafetera del SENA. Instructora e investigadora Grupo BIOSAN. email: laocampo22@misena.edu.co
2. Colombiana. Tecnóloga en Control de Calidad de Alimentos. Servicio Nacional de Aprendizaje SENA del Centro para la Formación Cafetera del SENA. Aprendiz e investigadora Grupo BIOSAN. email: dcastano47@misena.edu.co
3. Colombiana. Tecnóloga en Procesos Biotecnológicos Aplicados a la Industria. Servicio Nacional de Aprendizaje SENA del Centro para la Formación Cafetera del SENA. Aprendiz e investigadora Grupo BIOSAN. email: lmcastano235@misena.edu.co



del microorganismo en sus manos, 14 (43,75%) son portadores en sus fosas nasales y 3 (9,3%) son portadores tanto en manos como en fosas nasales.

Palabras clave: Coagulasa, enfermedad alimentaria, patógeno, prevalencia, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

In this work it was determined the prevalence of the carrier state of *Staphylococcus aureus* coagulase positive in food handlers, for this were analyzed 35 samples of hyssop of fleshy part under the nails and nasal exudates using biochemical test. The samples obtained were sown on Agar Baird Parker supplemented with tellurite of potassium, getting 61 characteristic strains of the microorganism (29 of hands and 32 of pits nasal), it was confirmed the microscopic morphology of the strains by means of Gram staining and they were characterized biochemically the isolates, to complete the identification of *S.aureus* through the determination test of coagulase, catalase, thermo nuclease, tolerance to the salt, fermentation of mannitol and hemolytic activity. With the completion of biochemical tests 4 isolates were obtained from hands (13.79%) and 14 isolates from nasal pits (43.75%) that were positive to the tests performed, confirming the presence of *S. aureus* with a high pathogens potential from food handlers, with which the prevalence of the carrier state is set to 15 of sampled handlers, from which 4 are carriers of the organism in their hands (12.5%), 14 (43.75%) are carriers in their nostrils and 3 (9.3%) are carriers in both hands and nostrils.

Key words: Coagulase, food disease, pathogen, prevalence, *Staphylococcus aureus*.

1. Introducción

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva, muy resistente en el medio ambiente y ampliamente distribuida en la naturaleza. Los seres humanos representan su mayor reservorio, encontrándose que aproximadamente entre el 10% y el 40% de niños y adultos son portadores nasales del microorganismo (Villafañe, Mavianis, Carpintero, Cueto, & Solís, 2013), también presentes en la piel, heces y orofaringe (Castro, 2014). *S. aureus* es la principal especie patógena de su género y puede causar una gran cantidad de enfermedades relacionadas con morbi-mortalidad, como son infecciones de heridas en la piel, osteomielitis, endocarditis, celulitis, síndrome de choque tóxico y bacteremias. Además, es el patógeno aislado con mayor frecuencia en casos de intoxicaciones alimentarias (Rodriguez & Jimenez, 2014) es considerado la primera causa de infecciones de tejidos blandos adquiridas en la comunidad y la segunda causa de bacteremia nosocomial en Estados Unidos y Colombia (Villafañe et al., 2013); (Tortora, Funke, & Case, 2007). Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se encuentran muy extendidas y constituyen un importante problema de salud pública a nivel mundial, tanto en países desarrollados como en aquellos en vía de desarrollo y se asocian con la contaminación microbiana introducida por manipuladores de alimentos, la utilización de materia prima contaminada o el incumplimiento de las buenas prácticas de manufactura (Jordá, Marucci, Guida, Pires, & Manfredi, 2012). El personal manipulador de alimentos es un eslabón muy importante en la transmisión del microorganismo, debido a que pueden ser portadores sanos de cepas de

S. aureus en sus fosas nasales y/o en sus manos, facilitando la persistencia de la bacteria en el organismo, razón por la cual son considerados como la principal fuente de contaminación de los alimentos, a través del contacto manual o mediante las secreciones respiratorias (Burguet & Trimiño, 2012); (Cervantes, García, & Salazar, 2014).

Los portadores de *S. aureus* sirven como reservorio de esta bacteria, ayudan a que se pueda diseminar fácilmente, causando enfermedad entre la comunidad (Baker, 2009); (Sejas et al., 2016). La tasa de colonización varía en función del individuo y de la población estudiada, así entre la población adulta sana se pueden distinguir 3 patrones de portación de *S. aureus* característicos: 20% de los individuos son portadores persistentes, 60% son portadores intermitentes y 20% no son portadores, estos patrones de portación dependen de factores tanto del huésped como del microorganismo y no son permanentes en un mismo individuo sino transitorios, razón por la cual pueden mostrar cambios con el paso del tiempo (Fosch, Yones, Trossero, Grosso, & Nepote, 2012).

En este trabajo se busca evidenciar la presencia de microorganismos patógenos como *S. aureus* coagulasa positivo en manos y fosas nasales del 42,85 % de los individuos muestreados, con lo cual se logra establecer la alta prevalencia del estado portador en manipuladores de alimentos y su posible impacto sobre la inocuidad de los productos.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales:

En el desarrollo de este trabajo se utilizó Baird

Parker Agar (Scharlau S.L., España), caldo Brain Heart Infusion BHI (Scharlab S.L., España), agar sal manitol (OXOID, Inglaterra), agar sangre base (OXOID, Inglaterra), agar DNASE (Scharlau, España), Kit de gram: cristal violeta-lugol, alcohol acetona, safranina (Bioquigen, Colombia), peróxido de hidrógeno 30% (Bioquigen, Colombia), BBL coagulase plasma rabbit with EDTA (Becton, Dickinson and Company, USA), telurito de potasio 1% (Britanialab, Argentina).

2.2. Métodos:

2.2.1. Tipo de estudio: Estudio descriptivo

Analítico con una fase experimental, donde se determinó la prevalencia del estado portador de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos del SENA Regional Caldas en Manizales.

2.2.2. Diseño del proceso de muestreo (Arriaza, 2006):

Población objeto de estudio: El estudio incluyó 35 aprendices manipuladores de alimentos del SENA Regional Caldas, pertenecientes a los programas de control de calidad y procesamiento de alimentos. El total de los aprendices que hicieron parte de la población objeto del estudio fueron 75.

Técnica de muestreo: Muestreo aleatorio simple (MAS)

Cálculo del tamaño de la muestra conociendo el tamaño de la población: Para calcular el tamaño de la muestra cuando se conoce el tamaño de la población se utilizó la siguiente fórmula (Torres, Paz, & Salazar, 2006)



$$n = \frac{N \times Z_a^2 \times p \times q}{d^2 \times (N-1) + Z_a^2 \times p \times q}$$

Dónde:

N = tamaño de la población

Z = nivel de confianza

p = probabilidad de éxito o proporción esperada

q = probabilidad de fracaso

d = precisión (Error máximo admisible en términos de proporción)

Para determinar el tamaño de muestra de manipuladores de alimentos, se usaron los siguientes valores:

N=75

Z= 1.962 (seguridad del 95%)

p = proporción esperada (5% = 0.05)

q = 1 – p (1 – 0.05 = 0.95)

d = precisión (5%)

$$n = \frac{75 \times (1.962)^2 \times 0,05 \times 0,95}{(0,05)^2 (75-1) + (1.962)^2 \times 0,05 \times 0,95} = 35$$

2.2.3. Técnicas y procedimientos.

Cada aprendiz incluido en el estudio, leyó y firmó un consentimiento informado, donde se explicó el riesgo asociado al estudio realizado.

Toma de muestra: A cada aprendiz se le tomó muestra de fosas nasales y pulpejos bajo las uñas, utilizando hisopo de algodón humedecido con solución salina al 0,8%. Las muestras se sembraron sobre Baird Parker Agar suplementado con telurito de potasio, se incubaron a 37°C durante 24-48 horas, para determinar la presencia de colonias típicas de *S. aureus*.

Caracterización microscópica: Para confirmar la morfología de *S. aureus* se realizó caracterización microscópica por medio de tinción de Gram (Molina & Uribarren, 2015) a las colonias sospechosas que presentaron crecimiento sobre Baird Parker Agar suplementado con telurito de potasio (Gutierrez, Revollo, Espada, & Quispe, 2007).

Pruebas bioquímicas: Para completar la identificación de *S. aureus* aislados de manipuladores de alimentos, a las colonias con morfología de racimos de cocos Gram positivos se realizaron pruebas de determinación de coagulasa, catalasa, termonucleasa, tolerancia a la sal, fermentación de manitol y actividad hemolítica (Figueroa, Navarrete, Caro, Troncoso, & Faúndez, 2002); (Zendejas, Avalos, & Soto, 2014); (Molin et al., 2016)

3. Resultados

Se muestrearon 35 manipuladores y *S. aureus* fue aislado de 29 muestras de pulpejos bajo las uñas y de 32 muestras nasales (ver tabla 1), es decir que 82,85% de los manipuladores analizados estaban colonizados por este microorganismo en sus manos, el 91,42% estaban colonizados por el microorganismo en sus fosas nasales, el 80% lo presentaron tanto en sus manos como en sus fosas nasales y únicamente 2 manipuladores equivalentes al 5,71% estaban libres del microorganismo.

Al realizar la tinción de Gram, todos los aislamientos fueron positivos y presentaron características típicas del *S. aureus*, por lo tanto se puede confirmar la presencia del microorganismo en los manipuladores (Molin et al., 2016).

De acuerdo a los resultados obtenidos tras las pruebas bioquímicas (ver tablas 2 y 3), se puede evidenciar la presencia de *S. aureus* coagulasa positiva en 4 aislamientos procedentes de manos (13,7%) y en 14 aislamientos procedentes de fosas nasales (43,75%), con lo cual se establece la prevalencia del estado portador de *S. aureus*

en 15 de los 35 manipuladores muestreados, de los cuales 4 (12,5%) son portadores del microorganismo en sus manos, 14 (43,75%) son portadores en sus fosas nasales y 3 (9,3%) son portadores tanto en manos como en fosas nasales.

Tabla 1. Resultados muestreo pulpejos bajo las uñas y fosas nasales.

NÚMERO DE MUESTRA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
Manos (M)	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fosas nasales (FN)	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fuente: Los autores.

Tabla 2. Resultados pruebas bioquímicas para muestras de pulpejos bajo las uñas.

Numero aislamiento	Catalasa	Coagulasa	Actividad Hemolítica	Dnasa	Fermentación de manitol	Tolerancia a la sal
1	+	-	+	-	+	+
6	+	-	-	-	-	+
8	+	-	+	-		+
10	+	-	+	-	-	+
11	+	+++	+	+	+	+
12	+	-	+	+	+	+
13	+	-	-	-	-	+
14	+	-	-	-	-	+
15	+	+	-	-	-	+
16	+	+	+	+	+	+
17	+	+	+	-	-	+
18	+	+	+	-	-	+
19	+	-	+	-	+	+
20	+	+	-	-	+	+
21	+	-	+	-	+	+
22	+	+	-	-	+	+
23	+	-	+	-	-	+
24	+	-	-	+	+	+
25	+	-	-	-	+	+
26	+	+	-	-	+	+
27	+	+	+	-	+	+
28	+	+	+	-	+	+
29	+	+	+	-	+	+
30	+	+	+	+	+	+
31	+	+	+	-	+	+
32	+	+	+	-	-	+
33	+	+	+	+	-	+
34	+	+	+	-	-	+
35	+	+	+	+	+	+

Fuente: Los autores.

Tabla 3. Resultados pruebas bioquímicas para muestras de fosas nasales.

Numero aislamiento	Catalasa	Coagulasa	Actividad Hemolítica	Dnasa	Fermentación de manitol	Tolerancia a la sal
2	+	-	+	-	+	+
3	+	-	+	-	-	+
4	+	-	+	-	-	+
5	+	-	+	-	-	+
6	+	-	+	-	+	+
8	+	-	-	-	+	+
10	+	+++	+	+	+	+
11	+	+++	+	+	+	+
12	+	+++	+	+	+	+
13	+	+++	+	+	+	+
14	+	+++	+	+	+	+
15	+	-	+	-	-	+
16	+	+++	+	+	+	+
17	+	-	+	-	-	+
18	+	-	-	-	-	+
19	+	-	+	-	+	+
20	+	-	+	+	+	+
21	+	+++	+	+	+	+
22	+	+++	+	+	+	+
23	+	+++	+	+	+	+
24	+	+++	+	+	+	+
25	+	-	+	-	+	+
26	+	+++	+	+	+	+
27	+	-	+	-	+	+
28	+	+++	+	+	+	+
29	+	-	+	-	+	+
30	+	-	-	-	-	+
31	+	-	-	-	+	+
32	+	+++	+	+	+	+
33	+	-	+	-	-	+
34	+	-	+	-	+	+
35	+	+++	+	+	+	+

Fuente: Los autores.



Las muestras positivas para *S. aureus* fueron conservadas en agua destilada estéril y en glicerol al 10% (Escobar, Flórez, Ocampo, & Franco, 2016) para futuros estudios sobre el potencial patógeno de este microorganismo y su impacto sobre la salud humana e inocuidad alimentaria.

4. Discusión y conclusiones

En el presente estudio se pudo evidenciar una prevalencia de estado portador en 42,85% de los manipuladores muestreados, lo cual se asemeja a los resultados obtenidos en la investigación realizada en la provincia de Misiones en Buenos Aires Argentina, en la cual el 37,5% de los individuos analizados eran portadores de *S. aureus* (Jordá et al., 2012).

La colonización en manos por *S. aureus*, coagulasa y termonucleasa positiva obtenida en este estudio fue de 12,5%, estos resultados se asemejan a los obtenidos por (Gubbay et al., 2003), cuando analizaron 184 hisopados de manos en manipuladores de alimentos, aislando 16 cepas las cuales resultaron ser coagulasa y termonucleasa positiva, alcanzando una prevalencia de 9% en manos.

Con respecto a la portación nasal de *S. aureus*, en el presente estudio se obtuvo un 43,75%, encontrándose por encima de los valores obtenidos por (Achón, Cabral, & Walde, 2012), quienes revelaron una portación nasal de 33,3%, en 35 de los 105 manipuladores de alimentos muestreados en el mercado número 4 de Asunción Paraguay.

De acuerdo con lo manifestado por Villafañe et al., (2013), el porcentaje de portación nasal en adultos se encuentra entre 10% y 40% y (Fosch et al., 2012) manifiestan que entre el 20% y el 60% de los individuos son portadores persistentes o intermitentes del microorganismo y 20% no son portadores (Figueroa et al., 2002). De acuerdo a lo anterior, podemos observar que nuestros resultados coinciden con los rangos mencionados.

Los datos obtenidos son similares a los reportados en otras investigaciones para la población general, lo que representa un alto factor de riesgo, ya que los manipuladores pueden fácilmente contaminar los alimentos por contacto directo o por medio de sus secreciones siendo generadores de enfermedades de origen alimentario. Sin embargo, es de gran importancia identificar y profundizar los factores asociados al microorganismo y al huésped que pueden inferir en la colonización e infección asociada a la portación de *S. aureus*.

De los datos obtenidos se puede concluir que el principal nicho que alberga *S. aureus* lo constituyen las fosas nasales, encontrándose allí un potencial foco de infección y un factor elevado de riesgo para enfermedades e infecciones invasivas.

La prevalencia de esta bacteria en las fosas nasales de los manipuladores de alimentos, es un factor de riesgo, debido a que se pueden desarrollar infecciones y ser transmitas a la comunidad por medio de los alimentos.

La alta proporción de cepas patógenas aisladas de los manipuladores de alimentos, resalta la importancia de la capacitación continua en hábitos de higiene personal y buenas prácticas

de manufactura, evitando ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Referencias

- Achón, F., Cabral, L., & Walde, J. (2012). Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos del Mercado No 4 de Asunción, Paraguay, 6(4), 14–17.
- Arriaza, M. (2006). Guía Práctica De Análisis De Datos. Ideagonal diseño gráfico.
- Baker, C. RED BOOK (2009): Atlas de Enfermedades Infecciosas en Pediatría. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Burguet, N., & Trimiño, J. (2012). *Staphylococcus aureus* y la detección de portadores entre el personal que labora en la producción de parenterales. Revista Cubana de Higiene Y Epidemiología, vol 50 (3), 26.
- Castro, A. (2014). Bacteriología médica basada en problemas (Vol. 2). México: El Manual Moderno.
- Cervantes, E., García, R., & Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*, 61(1), 28–40.
- Escobar, L., Flórez, D., Ocampo, M., & Franco, M. (2016). Colección de cepas microbianas usadas en formación y proyectos de investigación aplicada en el Centro para la Formación Cafetera SENA Regional Caldas. Revista NOVA, 2(2).
- Figueroa, G., Navarrete, P., Caro, M., Troncoso, M., & Faúndez, G. (2002). Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos. Revista Médica de Chile, 130 (8), 859–864.
- Fosch, S., Yones, C., Trossero, M., Grosso, O., & Nepote, A. (2012). Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en individuos de la comunidad: factores epidemiológicos. Acta Bioquím Clín Latinoam, 46 (1), 59–67.
- Gubbay, L., Galanternik, L., Galan, G., Cabrera, J., Galas, M., Degrossi, C., & Malbrán, G. (2003). *Staphylococcus aureus*: Sensibilidad antibiótica y detección de enterotoxinas de cepas aisladas de alimentos y manos de manipuladores. Buenos Aires, Argentina: Universidad de Belgrano.
- Gutierrez, G., Revollo, S., Espada, A., & Quispe, S. (2007). Identificación mediante PCR del gen codificante de la enterotoxina de *Staphylococcus aureus* en productos lácteos. Revista Visión Científica, 1 (2), 2–5.
- Jordá, G., Marucci, R., Guida, A., Pires, P., & Manfredi, E. (2012). Portación y caracterización de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos. Revista Argentina de Microbiología, 2 (44), 101–104.
- Molin, C., Ortiz, E., Barrios, P., Sánchez, S., González, M., Ayala, S., Cantero, L. (2016). Prevalencia de portación nasal de *Staphylococcus aureus* en niños con discapacidad. Revista Facultad de Ciencias de La Salud UDES, 3 (1), 35–40.
- Molina, L., & Uribarren, B. (2015). Generalidades de bacterias. Recursos en Bacteriología. México: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México.



- Rodriguez, E., & Jimenez, J. (2014). Factores relacionados con la colonización por *Staphylococcus aureus*. *Iatreia*, 28(1), Pág. 66-77. Retrieved from <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/iatreia/article/view/18007>.
- Sejas, A., Zurita, B., Rodríguez, M., Jhasmany, Espinoza, J., & Sejas, M. (2016). Prevalencia de *Staphylococcus aureus* en portadores nasales del personal de enfermería - Hospital VIEDMA. *Revista Científica Ciencia Médica*, 19 (1), 29–33.
- Torres, M., Paz, K., & Salazar, F. (2006). Tamaño de una muestra para una investigación de mercado. *Boletín Electrónico Facultad de Ingeniería. Universidad Rafael Landívar*, (2), 1–13. Retrieved from http://www.fsalazar.bizland.com/URL_INGENIERIA_PRIMERO/URL_02_BAS02.pdf.
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- Villafañe, L., Mavianis, P., Carpintero, Y., Cueto, V., & Solís, Y. (2013). Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en estudiantes de Bacteriología. *Salud Uninorte*, 29 (2), 151–159.
- Zendejas, G., Avalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25 (3), 129–143.