

Artículo original

Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumana – Venezuela

Nailec Valdiviezo Lugo^{a,*}, Luz Bettina Villalobos de B^b, Rosa Martínez Nazaret^b

^aDepartamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias

^bPostgrado en Biología Aplicada

Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre
Cumaná - Venezuela

Recibido 06 de marzo de 2006; aceptado 20 de julio de 2006

Resumen: Se evaluó la calidad microbiológica de los manipuladores de alimentos de tres comedores colectivos de la ciudad de Cumaná. Se analizaron muestras de manos por contacto directo en agar Vogel-Jhonson (Merck) para la detección de *S. aureus* y en agar McConkey (Merck) y SS (Merck) para la detección de enterobacterias. Muestras nasales se utilizaron para la detección de *S. aureus* en placas con agar Baird-Parker (Merck) y muestras de heces para la observación de parásitos y la detección de *E. coli* enteropatógena. Los promedios de UFC/cm² de *Staphylococcus spp.* en las manos de los manipuladores fueron estadísticamente significativo. *S. aureus* termonucleasa positiva fue identificado en 13,3% de las muestras de manos y 33,3% en muestras nasales. *Enterobacter cloacae* seguida de *E. coli* fueron las especies con mayor aislamiento en muestras de manos. *Blastocystis hominis* se encontró en 18,33% y *E. coli* enteropatógena en 19,56% de las muestras de heces analizadas.

Palabras claves: Manipuladores de alimentos, *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias

Microbiological evaluation in food handle from three public dining rooms in Cumana - Venezuela

Abstract: The quality of food handlers of three collective dining rooms in the city of Cumaná was evaluated. Samples of hands were analyzed by direct contact in agar Vogel-Jhonson (Merck) for detection of *S. aureus* and in agar McConkey (Merck) and SS (Merck) for enterobacteria detection. Nasal samples were used to detect *S. aureus* in agar Baird-Parker (Merck) and stool samples for the observation of parasites and isolation of enteropathogenic *E. coli*. The results showed that the average of UFC/cm² of *Staphylococcus sp.* in hands was statistically significant. Termonuclease positive strains of *S. aureus* was identified in 13.3% of hand samples and 33.3% in nose samples. *Enterobacter cloacae* followed by *E. coli* was the species with more isolation in samples of hands. In stool samples *Blastocystis hominis* was identified in 18.33%, and enteropathogenic *E. coli*, was found in 19.56% of the analyzed samples.

Keywords: food handlers, *Staphylococcus aureus*, enterobacteria

* Correspondencia:

E-mail: naivaldiviezo@hotmail.com

Introducción

Uno de los factores que en mayor medida afectan a la salud pública es la falta de higiene de los alimentos, especialmente en los comedores colectivos, ya que cada vez es mayor el porcentaje de personas que utilizan estos servicios [1].

El término manipulador de alimentos incluye a toda aquella persona que interviene en alguna de las fases de elaboración de una comida o que puede entrar en contacto directo con un producto alimenticio en cualquier etapa de la cadena alimentaria, desde la producción hasta el servicio. Uno de los principales riesgos de contaminación de

los alimentos está en el personal que los manipula, debido a que las personas actúan como puente entre los microorganismos y los alimentos [2].

Está demostrada la relación existente entre una inadecuada manipulación de los alimentos y la producción de enfermedades transmitidas a través de éstos. Las medidas más eficaces en la prevención de estas enfermedades son las higiénicas, ya que en la mayoría de los casos es el manipulador el que interviene como vehículo de transmisión, por actuaciones incorrectas, en la contaminación de los alimentos [3].

La intoxicación alimentaria por estafilococos se conoce como estafiloenterotoxiosis o estafiloenterotoxemia y se produce como consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen toxinas preformadas. Los estafilococos una vez que llegan a los alimentos, si las circunstancias lo permiten, se multiplican y producen toxinas. La contaminación de los alimentos en la mayoría de los casos suele ocurrir después de ser cocidos, cuando no son conservados adecuadamente, lo que favorece la multiplicación de los estafilococos [4].

Entre los años 1993 y 2000, en América Latina ocurrieron 191 brotes por intoxicación estafilocócica con 6.433 afectados y 2 muertes [5]. De estos brotes, 48 correspondieron a Venezuela, de los cuales en 40 casos, el queso fue el alimento involucrado, afectando a un gran número de personas [5].

Entre otras especies, la familia *Enterobacteriaceae* está involucrada en enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), en especial *Escherichia coli*. Esta bacteria, como parte de la flora comensal del tubo digestivo, es eliminada por las heces al exterior. No es infrecuente que se encuentre en el medio ambiente, donde es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento constituye un indicador de contaminación fecal reciente [6,7].

La diferencia entre las intoxicaciones alimentarias causadas por microorganismos productores de toxinas y por agentes patógenos invasivos es importante desde el punto de vista clínico y epidemiológico. Las enfermedades debidas a los microorganismos que forman toxinas como *S. aureus* tienen un período de incubación breve y se caracterizan por molestias gastrointestinales altas, como las náuseas y vómitos. En contraste, las intoxicaciones alimentarias debidas a microorganismos invasivos, como la *Salmonella*, por lo común tienen un período de incubación más prolongado y se caracterizan por fiebre, escalofríos y molestias gastrointestinales bajas [4].

En vista de que los manipuladores de alimentos han sido reportados como posibles fuentes de contaminación de dichos productos con parásitos y bacterias, este estudio evaluó la presencia de algunos patógenos en manipuladores de los tres comedores colectivos en la ciudad de Cumaná, mediante el aislamiento e identificación de microorganismos reconocidos como indicadores de una higiene deficiente. Al mismo tiempo, se estableció la relación entre la manipulación de los alimentos y el cumplimiento de las medidas sanitarias por parte del personal, lo que nos per-

mite proponer finalmente medidas encaminadas a mejorar la calidad del servicio en estos comedores públicos.

Materiales y Métodos

Población

La población estuvo conformada por 60 manipuladores de ambos sexos, distribuidos de la siguiente manera: 30 procedentes de un comedor estudiantil (A), 12 de un comedor municipal (B), y 18 de un comedor hospitalario (C) de la ciudad de Cumaná, los cuales se encontraban en su sitio de trabajo en el momento de la toma de muestra. Para el presente estudio se excluyeron a todos aquellos individuos que hubiesen recibido en los últimos tres meses tratamiento con antibióticos o desparasitantes. A la población escogida se le realizó una encuesta con la finalidad de describir las características demográficas, clínicas y sociales. Las muestras fueron tomadas antes de iniciar las labores de trabajo.

Obtención de las muestras

De cada uno de los 60 individuos se colectaron tres muestras: una de las fosas nasales, una de la mano de uso predominante (derecha) y una de heces, bajo previas instrucciones de recolección.

Análisis de las muestras

Fosas Nasales

Las muestras nasales se tomaron por hisopado rotatorio de las fosas con culturettes (Merck) se sembraron utilizando la técnica de estriado en placas con agar Baird-Parker (Merck) [8].

Manos

Se determinó *S. aureus* mediante la utilización de placas con agar Vogel-Jhonson (Merck). La muestra se tomó por contacto directo del medio de cultivo con la mano de uso predominante. El promedio de las UFC/cm² se calculó colocando un papel milimetrado debajo de las placas, posteriormente se realizó el conteo de las colonias.

Enterobacterias en manos

Se determinaron mediante la utilización de placas con agar McConkey (Merck) y agar SS (Merck). La muestra se tomó de la mano de uso predominante por contacto directo con el medio de cultivo.

Examen parasitológico y bacteriológico de las muestras de heces

Las muestras de heces fueron analizadas macroscópicamente mediante observación simple del aspecto, consistencia, color, olor, presencia de restos alimenticios y pre-

sencia de moco y/o sangre [9]. Para el examen microscópico directo se montaron dos láminas por cada muestra, utilizando una gota de solución salina fisiológica al 0,85 % y una gota de lugol, colocadas por separado en láminas portaobjetos. Posteriormente, se cubrió cada preparación con laminillas 22x22 mm y se observó con los objetivos de 10 y 40x. Las mismas muestras fueron sembradas directamente por duplicado directamente en los medios selectivos agar Mac Conkey (Difco) y agar XLD (Difco). Otra porción de las heces, fué enriquecida en caldo selenito (Difco) para el aislamiento de *Salmonella* sp [8].

En la identificación de las bacterias para confirmar y obtener resultados más confiables se utilizaron las galerías API Staph y galerías ID 32E del sistema de identificación automatizado ATB Expresión (Programa ATB PLUS) de la Bio Mérieux (Laboratorio Gambaro, Caracas, Venezuela).

Serología

La caracterización serológica de las cepas aisladas de *E. coli*, se llevó a cabo mediante la técnica de la aglutinación en lámina con antisueros polivalentes elaborados por FUVESIN. Los antisueros utilizados estuvieron conformados por cuatro polivalentes con anticuerpos específicos para serogrupos enteropatógenos de *E. coli*. El polivalente I incluye los serogrupos 026, 055, 0111 y 0145; el polivalente II 086, 0119, 0127 y 088, el polivalente III, los serogrupos 0125, 0126 y 0128 y el polivalente IV, con los serogrupos 0114, 0142 y 0158.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron expresados en tablas de frecuencias, Chi cuadrado para evaluar las posibles asociaciones entre diversos factores como comedor de origen de la muestra, vs. el número de cepas de *S. aureus* aisladas de los manipuladores de alimentos y Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía; seguido de una prueba *a posteriori* Student-Newman-Keuls (SNK) con un intervalo de confianza de 95% [10].

Resultados y Discusión

Aislamiento e identificación de *S. aureus* en manos y nariz

El análisis estadístico mediante el Anova señaló que existen diferencias altamente significativas entre los valores medios de los tres comedores según la abundancia de *Staphylococcus* sp en las manos de los manipuladores

El análisis *a posteriori* (SNK al 95%) indicó la presencia de dos grupos separados: el primero formado por los manipuladores del comedor B, presentaron el valor medio más bajo, ($14,10 \pm 4,89$) mientras que los manipuladores de los comedores A ($142,6 \pm 111,04$) y C ($104,0 \pm 78,96$)

integraron el segundo grupo con los valores medios más altos.

Del total de las 60 cepas de *S. aureus* aisladas de la nariz, 24 (40%) resultaron coagulasa positiva y 20 (33, 3%) resultaron termonucleasa positiva (Figura 1). Mientras que de las cepas aisladas de las manos 12 (20%), fueron coagulasa positiva y sólo 8 (13, 3%) de las cepas resultaron positivas a la prueba de la termonucleasa. Según Kluytmans y cols. [11] la prevalencia de portadores nasales de *S. aureus* en la población general es en promedio cercana a 37 %, con un rango entre 19 y 55 %. Soto y cols. [12] han demostrado diferentes tasas dependiendo de la población estudiada encontrándose 35,6 % de *S. aureus* en manipuladores de alimentos.

Aislamiento e identificación de enterobacterias en manos y heces

Los resultados obtenidos en los tres comedores reflejaron un predominio de las especies *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli* (Tabla 1). La presencia de estos géneros bacterianos y de otras bacterias fecales en las manos de los manipuladores, son indicadores de la contaminación producida por una fuente fecal y por ende, de una higiene deficiente en la manipulación de los mismos. Estos resultados coinciden con los reportados en un estudio realizado en Argentina por Arzú y cols. [13] donde resultó predominante la presencia de coliformes fecales en la superficie de manos de operarios en 43 %, asimismo el aislamiento de *Escherichia coli* en 11 %.

En la Tabla 2 se muestran las especies bacterianas aisladas con mayor frecuencia de las heces de los manipuladores de alimentos en los tres comedores estudiados. Es importante señalar el hecho, de que todos los individuos son portadores asintomáticos de estos microorganismos. *Escherichia coli*, mostró el mayor porcentaje de aislamientos, principalmente los procedentes del comedor A (45,1 %).

Las pruebas confirmatorias para *E. coli* con antisueros Fuvesin, mostraron que cepas enteropatógenas de *E. coli* estaban presentes en las muestras de heces de los manipuladores de los tres comedores estudiados. De los serogrupos identificados, predominaron los polivalentes III (0125, 0126 y 0128) y polivalente IV (0114, 0142 y 0158).

Los serogrupos de *E. coli* enteropatógena que con mayor frecuencia son asociados con procesos entéricos humanos, son los pertenecientes al O26, O55, O111 y O128 y los que aparecen con una frecuencia intermedia son los O86, O119, O124, O125 y O126, datos reportados por Yamamoto [14]. Estos índices concuerdan con los serogrupos encontrados en este estudio, lo que hace suponer que la presencia de estas cepas patógenas pueden intervenir como patógenos verdaderos en la producción de cuadros de diarrea o como oportunistas en infecciones extraintestinales diversas.

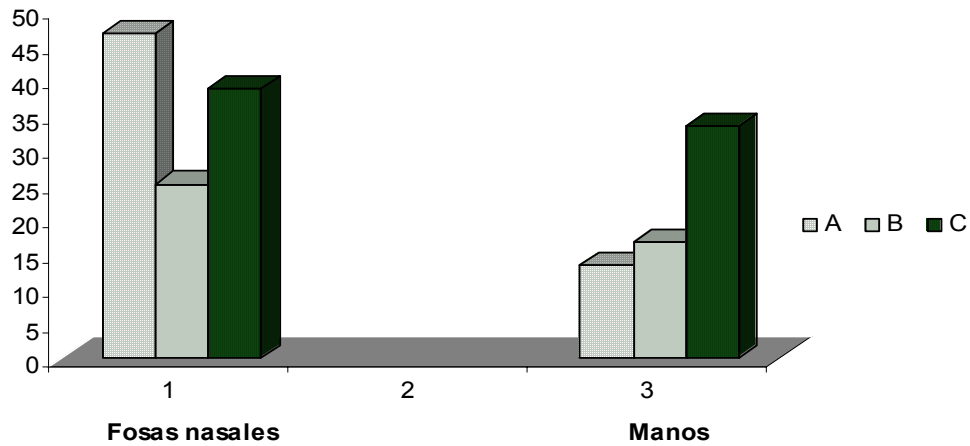


Figura 1. *Staphylococcus aureus* en muestras de fosas nasales y manos de 60 manipuladores de alimentos en tres comedores públicos.

Tabla 1. Enterobacterias aisladas de manos de manipuladores de alimentos en tres comedores públicos.

Bacterias	Comedor A		Comedor B		Comedor C	
	Nº cepas aisladas	%	Nº cepas aisladas	%	Nº cepas Aisladas	%
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	37,5	9	36,0	13	43,3
<i>Escherichia coli</i>	11	34,4	8	32,0	12	40,0
<i>Klebsiella ozaenae</i>	9	28,1	8	32,0	5	16,7
Total	32	100,0	25	100,0	30	100,0

Se considera necesario que el personal adquiera conocimientos básicos de los microorganismos patógenos que pueden transmitirse por los alimentos y las enfermedades que ellos pueden causar, mediante el establecimiento de políticas de educación y capacitación para evitar la transmisión de patógenos al alimento.

Esta capacitación debe estar orientada a la enseñanza de normas básicas de higiene como el lavado frecuente de las manos y el uso de mascarillas.

Conclusiones y recomendaciones

- Se evidencia que los manipuladores estudiados a pesar de ser portadores sanos, son un vehículo importante de cepas capaces de generar enfermedad en los comensales.

Tabla 2. Enterobacterias aisladas de muestras de heces de manipuladores de alimentos de tres comedores.

Bacterias	Comedor A		Comedor B		Comedor C	
	Nº cepas aisladas	%	Nº cepas aisladas	%	Nº cepas aisladas	%
<i>Escherichia coli</i>	28	70,0	9	60,0	18	50,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	9	22,5	6	40,0	18	50,0
<i>Salmonella</i> sp.	3	7,5	-	-	-	-
Total	40	100,0	15	100,0	36	100,0

- La factibilidad de posible contaminación fecal de los alimentos a través de las manos de los manipuladores que laboran en los tres comedores públicos, deja entrever que microorganismos de importancia en salud pública, tales como: *Escherichia coli* pueden fácilmente llegar a los comensales.

- Queda demostrado que es necesario establecer métodos de evaluación que faciliten la observación de los hábitos de manipulación de alimentos y un protocolo de inspección que refleje dichos extremos.

- Se debe orientar a los manipuladores sobre los riesgos que corren los consumidores al ingerir alimentos contaminados por microorganismos.

Referencias

- [1] Pérez-Silva M, Belmonte S y Martínez J. Estudio microbiológico de los alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo. Rev Esp Sal Pú 1998;1:72-4.
- [2] Legomin M. y Arcia J. Riesgos en la venta de alimentos en las calles. Rev Cubana Aliment Nutr 1997;11(2):79 - 83.
- [3] Gubbay, L, Galanternik, L, Galan, G, Cabrera, J y Durango, M. *Staphylococcus aureus*: Sensibilidad antibiótica y detección de enterotoxinas de cepas aisladas de alimentos y manos de manipuladores. Rev de Cien 2004; 30:12-4.
- [4] Bécquer A, Leyva V, Lara C y Mota L. *Staphylococcus aureus*, actividad termonucleasa y enterotoxinas en alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr 1997;11(2):89-93.
- [5] Díaz C. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Rev Sal Cum Propositum Vitae 2001; 2: 3 - 5.
- [6] Margall N, Domínguez A, Prats G y Sallera L. *Escherichia coli* enterohemorrágica. Rev Esp Sal Pú 1997;5: 71-5.
- [7] Gómez A. Síndrome diarreico agudo: Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico. Rev. Chil Infect 2002; 19:2 - 4.
- [8] Koneman E, Schrekeberger P, Janda A. Diagnóstico Microbiológico. 3ra ed. Argentina: Editorial Panamericana 1997.
- [9] Bauer D. Análisis Clínicos. Métodos e Interpretaciones. 1ª ed. Barcelona España: Editorial Reverté 1986.
- [10] Sokal R. y Rohlf F. Biometry. San Francisco. U.S A: W. H. Freeman and Company 1980.
- [11] Kluytmans J, Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Rev Clin Microbiol 1997;10:20-3.
- [12] Soto A, Saldías ME, Oviedo P, Fernández M. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos de una universidad de la Región Metropolitana. Rev Med Chile 1996;124: 2-6.
- [13] Arzú O, Peiretti H, Rolla R y Roibón W. Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del Nordeste Argentino. Publicación de la Cátedra de Bromatología e Higiene Alimentaria - Facultad de Cs. Veterinarias - UNNE. 2000; 17: 6-10.
- [14] Yamamoto T, Kaneko M, Changchawalit S, Serichantalergs O, Ijuin S, Echeverría P. Actin accumulation associated with clustered and localized adherence in *Escherichia coli* isolated from patients with diarrhea. Infect Immunol 1994; 6 (2): 2917-29.