

LA INTOXICACION DE ORIGEN ESTAFILOCOCCICO Y SU PROFILAXIS *

G. SUAREZ FERNANDEZ

(Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Barcelona)

Colegas y amigos:

No pasar por alto un deber tradicional —por ejemplo, el de presentar y saludar a un honroso invitado— representa o simboliza un momento grato, una gran satisfacción y asimismo lo que distingue. El profesor Guillermo Suárez es insigne por su labor científica —conocida de todos— y el rito académico de dedicarle unas palabras iniciales de salutación enaltece la función secretarial, para mí única en su género.

Quien a renglón seguido va a exponer los resultados de una investigación, tiene la carrera de Veterinaria y es catedrático de Microbiología en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona. Dirige el Departamento correspondiente y, en el quehacer administrativo, ha sido Vicedecano y Decano en funciones.

Explica con claridad, soltura y eficiencia suma su asignatura, investiga sin pausa lo relacionado con la Bromatología y la salud ambiental de nuestros días, publica trabajos de grandísimo valor, interviene en Congresos y sanciona Tesis Doctorales.

Es, en suma, un auténtico maestro, rodeado de discípulos que siguen fielmente sus directrices y que le quieren por su paternalismo.

Becario —para ampliación de estudios— en Inglaterra y los EE.UU. de América, visita a menudo y se le tiene la más alta consideración en esos países cultos y rígidos en la crítica de la trayectoria de los maestros y de los investigadores.

El profesor Suárez es un legítimo especialista en "bromatología" y sus inquietudes de erudito le llevan a adentrarse en los predios tan ubérrimos de la biología y de la farmacia.

Para nuestra Academia de Medicina —que tanto veneramos en su discurrir brillante y útil— la postura escogida por Guillermo Suárez es de verdadero intercambio de directrices o de ayuda en tareas quizá comunes.

Nos importa de cada vez más —por obligada en la misión que se nos otorga— averiguar y describir la epidemiología catalana, en su sentido restricto o más lato, e indicar y tutelar el desarrollo de Tesis Doctorales que obedezcan a un pensamiento de geografía médica regional.

El y nosotros hemos coincidido en los propósitos con una alteza de miras sobresaliente. Y sus colaboradores son los nuestros y éstos, indisintamente, son los suyos. Muchas gracias, en público, dado el gesto coordinador y esfuerzo mutuos.

Las intoxicaciones alimentarias, sobrevenidas accidentalmente, nos interesan, acaso tanto como a él mismo, investigador en la cátedra. Pues bien, va a ilustrarnos sobre el famoso suceso de las "monas de Pascua" de Manresa, un problema vinculado a su laboratorio universitario y a lo que quepa afirmar, en polémica docta aquí.

Pero ese es, tan sólo, uno de los temas que pueden motivar una acción conjunta del investigador objetivo y del teórico que imagina y diserta sobre líneas de trabajo intra y extra muros.

A las razones fundamentales de la presencia entre nosotros del profesor Guillermo Suárez, leonés de cuna y alumno que fue de su Facultad de Veterinaria, se une la circunstancia de que el Presidente, profesor Pedro Domingo, es el máximo representante hoy de "Antibióticos", industria químico-farmacéutica ubicada en León, y que mi padre, médico radicado siempre en Barcelona, había nacido en la capital del viejo Reino de León.

Profesor Guillermo Suárez, reitero las gracias por aceptar la invitación de darnos una conferencia magistral y, con la venia de nuestro Presidente, le ruego use de la palabra.

B. RODRÍGUEZ ARIAS

Hemos elegido un tema del máximo interés dentro del cada día más importante capítulo de las toxi-infecciones de origen alimentario. En efecto, las infecciones e intoxicaciones humanas originadas por el consumo de alimentos han venido incrementando su frecuencia, de una forma paradójica, puesto que el hecho coincide con un mejoramiento del nivel de vida y de las circunstancias higiénico-sanitarias de las poblaciones.

Ahora bien, al analizar en profundidad este fenómeno, con un criterio microbiológico, se ponen de manifiesto algunas causas.

Las modificaciones de unos hábitos culinarios, en general bastante arraigados por regiones y bien conocidos, en aras de una evolución social que exige economizar tiempo en quehaceres domésticos, ha traído nuevas formas de alimentarse.

El uso creciente de diferentes tipos de semiconservas de alimentos pasteu-

rizados, de platos precocinados significa, sin duda, una evidente ventaja en el momento actual pero manifiesta también una serie de peligros ante cualquier deficiencia en la producción, manejo y conservación de estos alimentos.

Cuando un alimento pasteurizado se recontamina, por ejemplo, el peligro es mayor que en un alimento natural ya que nos falta, o queda anulado en gran parte, ese mecanismo inhibitorio que es la competición microbiana.

Cuando en un plato precocinado ocurre un hecho semejante y existen diferentes sustratos nutritivos, bien mezclados o en compartimentos separados, la probabilidad de que un germen pueda encontrar las condiciones adecuadas a su multiplicación se elevan notablemente ya que dispone de una variedad de posibilidades en cuanto a nutrientes esenciales, actividad de agua, pH, grado de acrobiosis, etc.

tétanos !



CON JERINGA Y AGUJA ESTERILES

GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTITETANICA

DOSIS PROFILACTICA DE SEGURIDAD EN NIÑOS Y ADULTOS

(Véase mayor información al dorso)

GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTITETANICA

Anticuerpos específicos homólogos

PRESENTACION Y FORMULA

Frasco con tapón de goma perforable, conteniendo globulina gamma humana equivalente a 500 U.I. de antitoxina tetánica. Adjunto una ampolla de disolvente especial. Se acompaña jeringuilla y aguja, estériles, para su aplicación, de un solo uso. P.V.P. 491,10 Ptas.

DOSIFICACION

Profilaxis: El contenido de un frasco, 500 U.I., por vía intramuscular profunda en una sola inyección tanto en adultos como en niños. No existiendo problemas de dosificación estas dosis pueden ser aumentadas o reiteradas si se estima que hay grave peligro de contaminación o un tiempo de incubación muy prolongado.

Tratamiento: De 6.000 a 8.000 U.I., por vía intramuscular, dosis que pueden aumentarse o reiterarse según la gravedad del caso y siempre a juicio facultativo.

ADMINISTRACION

La vía de administración debe ser sólo la intramuscular profunda, debiendo cerciorarse de que la aguja no se encuentre en la luz de un vaso sanguíneo, aspirando ligeramente mediante el émbolo de la jeringa.

INDICACIONES

La inmunidad proporcionada por GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTITETANICA se mantiene a niveles óptimos alrededor de 30 días, confiriendo una eficaz protección a los pacientes que presentan heridas o traumatismos con riesgo de contaminación.

Si se estima conveniente puede simultanearse su administración con anatoxina al objeto de conseguir una inmunidad activa que complemente a la pasiva proporcionada por la gamma globulina, debe en estos casos efectuarse la administración de la vacuna con distinta jeringuilla y en lugar alejado del que se ha practicado la inyección de gamma globulina.

En el tratamiento de la infección declarada, esta globulina gamma específica se ha mostrado altamente eficaz unida a las medidas terapéuticas clásicas, limpieza quirúrgica del foco, sedación, antibióticos, etc.

CONTRAINDICACIONES

No existen contraindicaciones.

EFFECTOS SECUNDARIOS

La administración del preparado puede dar lugar en raras ocasiones a un cierto dolor local, en función de la sensibilidad del paciente, que cede espontáneamente en poco tiempo. Una ligera y leve reacción febril puede, asimismo, presentarse en casos esporádicos consecuentemente a la aplicación de esta fracción plasmática, sin que alcance más trascendencia ni obligue a tratamiento alguno.

El método de fraccionamiento empleado para la obtención de esta especialidad, así como las garantías y controles analíticos a que se somete a los donadores, eliminan totalmente el riesgo de transmisión de enfermedades víricas.

INCOMPATIBILIDADES

No existen incompatibilidades conocidas a la terapéutica con globulina gamma.

LABORATORIOS HUBBER, S. A.

Fábrica y Laboratorio de Productos Biológicos y Farmacéuticos
Berlín, 38-48 - Tel. *321 72 00 - Barcelona-15 (España)

Cuando se reconstituye un alimento deshidratado existe un doble peligro: la propia contaminación del producto, en cualquier fase de elaboración o manejo, lo convierte en peligroso una vez reconstituido si se mantiene a temperatura ambiente y, por otra parte, pueden persistir en él toxinas termorresistentes formadas con anterioridad.

Son éstos algunos ejemplos que nos permiten comprender el porqué de la creciente importancia, a que nos referíamos, del tema de las toxi-infecciones alimentarias y el esfuerzo superior que nos va a exigir el corregir dicho problema.

Concretándonos ya a la intoxicación de origen estafilocócico debida al consumo de alimentos que contienen exotoxinas preformadas, de carácter enterotóxico, producidas por un número apreciables de estirpes de *Staphylococcus aureus* podremos adelantar que es, sin duda, la más frecuente en nuestro país y por lo que respecta a Cataluña en poco más de dos años, hemos tenido la oportunidad de estudiar en nuestro laboratorio, a partir de muestras remitidas por la Jefatura Provincial de Sanidad, una serie de brotes tóxicos de diversa magnitud que tuvieron lugar en Caldas de Montbuy, Tiana-Mongat, Llagostá, Montornés y Sabadell, Manresa y doce localidades más, como mínimo, por consumo en este último caso del mismo tipo de alimento, las famosas «monas» de Pascua.

Sobre este punto volveremos más adelante, pero antes vamos a precisar

cuál es, realmente, el alcance sanitario de un proceso de este tipo.

Esta enfermedad de sintomatología aparatosa resulta siempre una desagradable experiencia a que el hombre puede encontrarse sometido, y aunque su terminación raramente concluye con el fallecimiento de las personas afectadas, en ocasiones han llegado a producirse bajas, especialmente en niños, ancianos y personas de salud delicada.

Nosotros mismos tuvimos la oportunidad de analizar, entonces, una erupción tóxica grave producida en Vallecas (Madrid) en el verano de 1963, con varios centenares de personas afectadas, registrándose el fallecimiento de un niño a causa de una encefalopatía y gastroenteritis tóxicas, originada por el consumo de leche natural fuertemente contaminada con estafilococos.

Los síntomas aparecen, generalmente, dos o tres horas después de la ingestión de alimentos, con salivación seguida de náuseas, vómitos, diarrea intensa, dolores de cólico renal y presión arterial, en ocasiones, muy baja.

En los casos graves puede haber postración, pero la mayoría de los enfermos se recobran en un día o dos, dependiendo de la duración de la enfermedad y la gravedad de los síntomas, de la cantidad de enterotoxina ingerida y de la susceptibilidad a la toxina.

No es raro encontrar individuos indemnes en casos de intoxicaciones masivas.

Aunque no nos sea posible, en este

momento, citar un aval numérico de garantía en apoyo de nuestra opinión, relativa a la frecuencia de presentación y por lo que a España se refiere, dado que no es una enfermedad de declaración obligatoria, tenemos la impresión, algunas veces confirmada, de que una gran parte de los incidentes de intoxicación que recoge la prensa diaria serían causados por la enterotoxina estafilocócica.

Hay que pensar también que los casos aislados curan, la mayoría de las veces, sin intervención del médico y solamente las explosiones tóxicas que afectan a gran número de personas merecen la debida atención por parte de los profesionales y funcionarios encargados de velar por la salud pública. Todo ello contribuye a que desconozcamos con la debida precisión la verdadera incidencia del problema en nuestro país.

Existe un aspecto diferente al que comienza a prestarse una debida atención. Es bien sabido que las infecciones hospitalarias en niños, producidas por estafilococos, a veces en forma epidémica, cursan con diarrea y han originado siempre numerosas bajas. Se venía pensando que el proceso era puramente infeccioso, pero, en la actualidad, se ha llamado la atención sobre el hecho de que la mayor parte de las cepas de estafilococos aisladas de tales epidemias son fuertes productoras de enterotoxinas, lo que sugiere, con gran probabilidad, que la enterotoxina juega un importante papel en la patogenia del proceso.

En otro orden de ideas la presen-

tación de esta intoxicación afectando a numerosas personas, a veces varios centenares, en escuelas, campamentos, celebraciones en restaurantes, origina problemas de gran trascendencia desde el punto de vista social, debido a la aparente gravedad de la sintomatología, con hospitalización inmediata y bloqueo total en ocasiones de las dependencias sanitarias.

Quizás uno de los casos más peculiares referentes a este tipo de intoxicación haya ocurrido en este último año y resultaron afectadas 197 personas en un vuelo de Tokyo a Copenhague, con escala en Anchorage. Los típicos síntomas aparecieron a mitad de camino entre Anchorage y Copenhague.

Se comprobó más tarde que la enfermedad se debía a la presencia de enterotoxina tipo D en tortillas y jamón servidos, como parte del desayuno, en vuelo.

Idéntico microorganismo al que se hallaba presente en los restos de alimentos se logró aislar de una herida inflamada en un dedo de uno de los cocineros que prepararon el alimento.

Enterotoxina estafilocócica

Casi de manera exclusiva el agente productor de enterotoxina ha de ser una estirpe de estafilococo perteneciente a la especie *S. aureus*, siendo la probabilidad de que posea este carácter inferior al 75 % cualesquiera que sea su origen. En muy contadas ocasiones se ha podido atribuir la forma-

ción de enterotoxina a especies diferentes de estafilococos.

Hay una serie de aspectos muy bien conocidos en la actualidad referentes a la naturaleza, tipos, producción en alimentos o con fines experimentales, propiedades físico-químicas, purificación, estabilidad, resistencia, propiedades antigénicas, modo de acción, etcétera, de la enterotoxina estafilocócica. En nuestra referencia a estos puntos hemos de ser muy breves a fin de hacer el debido énfasis en la prevención y control del proceso, dado el carácter aplicativo que pretendemos dar a nuestra exposición.

En el momento actual se conocen siete tipos diferentes de enterotoxinas A, B, C₁, C₂, D, E y F, si bien el último no se ha logrado purificar siquiera sea parcialmente y permanece, todavía, sin identificar.

Podemos definir las como proteínas puras, con pesos moleculares que oscilan entre 28.000 y 35.000, son higroscópicas y fácilmente solubles en agua y soluciones salinas. Las cadenas polipeptídicas contienen cantidades relativamente elevadas de lisina, tirosina, ácido aspártico y ácido glutámico así como residuos de cistina y triptófano.

Disponen las enterotoxinas de un escaso poder antigénico y sin embargo ha sido, precisamente, en base a ese precario carácter antigénico, como se han identificado los distintos tipos. Es más, a medida que se han perfeccionado los métodos serológicos de diagnóstico se han podido comprobar ciertas relaciones antigénicas entre las enterotoxinas B y C así como entre

las A y E. Existen indicaciones de que el tipo D presenta propiedades comunes con este último grupo, si bien la investigación con esta toxina es escasa, puesto que no ha sido purificada aún, lo mismo que la F de más reciente hallazgo.

Al mismo tiempo que la finura de las reacciones antígeno-anticuerpo nos han ido mostrando los diferentes tipos de enterotoxina, los estudios de secuencias de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas nos han revelado la conformación estructural en la composición de aminoácidos entre las enterotoxinas A y E, cuyas relaciones antigénicas se habían señalado, así como entre la B, C₁ y C₂.

Las ideas anteriores nos sugieren que las enterotoxinas pueden separarse en dos grupos principales A y E por una parte y B y C por otra, y ello nos llevaría a considerar la posibilidad de obtención de anticuerpos específicos para cada grupo.

Esto simplificaría el problema que presenta el determinar si un estafilococo es o no enterotoxigénico, puesto que la detección de la toxina depende del uso de anticuerpos específicos para cada enterotoxina y se supone que alguna de las enterotoxinas no ha sido todavía tipificada.

Las enterotoxinas, cualesquiera que sea su tipo, pueden detectarse también mediante pruebas biológicas, si bien éstas no son aceptables como método de rutina.

El problema quedaría resuelto con el empleo de un suero específico para todas las enterotoxinas.

El suero polivalente por mezcla de monovalentes frente a los distintos tipos no es suficientemente sensible frente a pequeñas concentraciones de enterotoxina, y un suero monoespecífico habría de obtenerse frente a un antígeno común a todas las enterotoxinas. En efecto, todas las enterotoxinas tienen un área estructural común que coincide con la zona en donde se sitúa la molécula unida de cistina, zona que se ha dado en llamar del lazo de la cistina y que parece desempeñar un papel esencial en la toxicidad. Pues bien, si esta zona tuviese carácter antigénico aisladamente, lo que desafortunadamente no se ha podido confirmar, a partir de ella podría obtenerse un antisuero específico. Sin embargo, resulta más prometedor, por el momento, hablar de dos fracciones antigénicas comunes, de dos grupos de enterotoxinas y de la propiedad de preparar dos antisueros, cada uno específico para un grupo.

En otro orden de ideas y, considerando a los tipos de enterotoxina A y B como representantes de los mencionados grupos antigénicos, se observan entre ambos marcadas diferencias muy particularmente en el aspecto de síntesis.

Las estirpes productoras de enterotoxina B son, comparativamente, las de más elevado rendimiento. Las de tipo A, por el contrario, de más baja productividad.

Sin embargo, parece bien asegurado que el tipo A de enterotoxina es el agente etiológico más común en los casos espontáneos de intoxicación es-

tafilocócica y, probablemente, esta frecuencia es superior a la del conjunto de todas las demás clases de enterotoxinas conocidas. Respecto a la enterotoxina B no se conocía absolutamente ningún incidente tóxico humano por ingestión de alimentos hasta 1973 en que se diagnosticaron tres brotes tóxicos de este origen en Milwaukee (Wisconsin). Venía siendo una enterotoxina únicamente utilizada en el campo experimental en virtud de su fácil producción y elevado rendimiento.

Los principios anteriores pueden parecer, en alguna medida, un contrasentido, pero no lo son si pensamos que las enterotoxinas A y B no siguen el mismo mecanismo de síntesis. Que este mecanismo es distinto nos lo prueba el que solamente las formas L que proceden de cepas productoras de enterotoxina A son capaces de sintetizar la toxina, pero en ningún caso las cepas productoras del tipo B.

Ello lleva a pensar, aunque no haya sido demostrado, que la producción de enterotoxina B se relaciona con la superficie celular, probablemente con la pared celular, mientras que esto no sucede en el caso del tipo A.

Posiblemente la enterotoxina A es un metabolito primario en tanto que la B lo es secundario.

La enterotoxina A se produciría en la fase exponencial del crecimiento microbiano en tanto que la B se formaría al principio de la fase estacionaria. Esta sería una explicación válida de la mayor incidencia de casos de intoxicación por la enterotoxina A, al aparecer este tipo de toxina mucho

antes sobre el alimento contaminado que el B.

Otra razón sería la extremada sensibilidad del tipo B de enterotoxina a diversas sustancias empleadas en la industria alimentaria como aditivos, condimentos o conservadores.

Respecto a los alimentos capaces de favorecer la multiplicación de *S. aureus* con formación simultánea de enterotoxina suponen un número elevado y entre ellos cabe destacar distintos preparados de carne (jamón cocido, embutidos, hamburguesas), carne de ave, pasteles rellenos de crema, conservas de pescado, ensaladilla, leche, queso y diferentes derivados lácteos.

Todos estos alimentos se han visto implicados repetidamente en casos de intoxicación humana de origen estafilocócico y utilizándolos como sustrato se ha logrado producir enterotoxina en diferentes laboratorios, en condiciones experimentales, si bien hay que señalar que la producción reglada y controlada, en especial la destinada a estudios físico-químicos y de purificación ha requerido siempre la utilización de medios de cultivo especiales a fin de disponer de elevados rendimientos.

Resulta obvio señalar que la purificación de las enterotoxinas ha sido el paso decisivo que permitió, en definitiva, conocer su naturaleza, estudiar, sin interferencias, sus propiedades, precisar en detalle su estructura y conformación, relacionándolas con la antigenicidad y toxicidad.

El conocimiento logrado como consecuencia del estudio de un producto

puro o parcialmente purificado encontró rápidamente una primera vía aplicativa al resultar posible un diagnóstico específico mediante la reacción antígeno-anticuerpo. Una de las consecuencias más importantes de la purificación de la toxina fue la preparación de un suero (antitoxina) con propiedades neutralizantes, para aquella, con lo que se demostró, sin lugar a dudas, su carácter antigénico puesto en tela de juicio, con anterioridad a la década de los sesenta, por algunos autores, basándose en la pérdida de poder inmunizante de la toxina modificada por la acción del formol al 3 por 1.000 durante diez días a 37° C. Este criterio se hallaba influenciado, sin duda, por el concepto clásico de toxinas al estilo de la tetánica, diftérica o botulínica.

Un aspecto por demás interesante es el que hace referencia al modo de acción de esta toxina, puesto que, a decir verdad, no se ha precisado todavía el mecanismo de acción de la enterotoxina estafilocócica.

La tendencia actual es la de considerar que la toxina ejerce su efecto directamente sobre el tracto intestinal en los casos de intoxicación alimentaria.

La razón por la cual la molécula de enterotoxina dispone de un efecto adverso sobre el intestino se desconoce.

No puede compararse, en modo alguno, con la acción debida a las endotoxinas microbianas ya que éstas son lipopolisacáridos y las enterotoxinas son de naturaleza proteica, como queda dicho.

En todo caso, si existe, como se ha pretendido, una similitud en el modo de acción de ambas toxinas, puede deberse a una coincidencia simplemente.

Nuestra propia experimentación sobre tan sugestivo tema nos permitió comprobar en cultivos de estafilococos coagulasa positivos, aislados de leche natural, una cierta acción antihistamínica detectable sobre intestino (íleon) de cobayo en baño nutritivo. Esta acción se apreciaba tanto en las estirpes enterotoxina positivas como en las negativas, siempre que fuesen positivas a la prueba de coagulasa, pero no se apreciaba en estafilococos coagulasa negativos del mismo origen.

Cabían dos interpretaciones: a) La acción se debía a sustancias metabólicas distintas a las enterotoxinas producidas por estafilococos de mayor actividad enzimática. b) Los estafilococos coagulasa positivos y enterotoxina negativos no serían estrictamente negativos sino «escasamente productores de enterotoxina» y difícilmente detectables, por tanto, por medio de pruebas específicas de sensibilidad media.

A fin de intentar aclarar estas dudas, programamos idéntica experimentación con enterotoxinas B purificadas, procedentes del Instituto de Investigación alimentaria adscrito a la Universidad de Wisconsin en USA. En estas condiciones no pudo observarse estímulo definido alguno sobre intestino de cobayo perfundido.

Cabía pensar, por tanto, que algunos productos del metabolismo bacteriano del género *Staphylococcus*, carentes por sí mismos de una acción

enterotóxica suficiente para provocar un cuadro clínico natural o experimental, podrían cooperar con la acción específica de la enterotoxina en el establecimiento de una sintomatología gastrointestinal típica.

Profilaxis en este tipo de intoxicación

Aspectos muy importantes, en este momento, para nosotros, son aquellos que se refieren al Control y Prevención de la enfermedad.

La profilaxis de una intoxicación alimentaria de origen bacteriano resulta siempre un interesante capítulo de epidemiología y medicina preventiva.

En el caso que nos ocupa, la intoxicación estafilocócica, habremos de referirnos al brote tóxico de más frecuente presentación entre los de este tipo.

Uno de los factores que explica su elevada incidencia es el de la susceptibilidad humana.

Puede decirse que el hombre es muy sensible a la enterotoxina estafilocócica, si bien la sensibilidad varía entre grandes límites, de individuo a individuo, hecho repetidamente comprobado tanto en casos de intoxicaciones espontáneas como en experiencias con voluntarios. Aunque no se conoce con la máxima certeza cuál es la dosis mínima de toxina con efectos eméticos para el consumidor, se coincide, sin embargo, en señalar la cifra de 1 microgramo o inferior como dosis suficiente para producir la enfermedad en el hombre. Tanto el estudio epide-

miológico de casos concretos de intoxicación humana como ciertas consideraciones de carácter especulativo, así como la experimentación en monos, coinciden en el citado valor.

Si consideramos como normal el consumo de 50-100 gramos de alimento por individuo y que es suficiente ingerir con esa cantidad de 0,5 a 1 microgramo de enterotoxina, tenemos ya una explicación parcial, por lo que respecta al factor susceptibilidad humana, de la frecuencia con que se presente este incidente tóxico.

En cuanto se refiere a la profilaxis del proceso vamos a distinguir tres capítulos importantes: La formación de toxina en el alimento, la investigación de la enterotoxina y la profilaxis propiamente dicha de la intoxicación.

El primer aspecto, la formación de toxina, se halla determinado tanto por una serie de factores que influyen en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y la producción de enterotoxinas, como por la propia estabilidad de la enterotoxina en el alimento.

Los factores a que nos referimos son la estirpe microbiana, el grado de contaminación, el efecto del pH, la acción del cloruro sódico, la actividad de agua, la temperatura, la acción de aditivos y conservadores, la competición microbiana, la atmósfera que facilita un determinado tipo de envasado.

El porcentaje de estafilococos, coagulasa positivos, capaces de producir enterotoxina varía, de acuerdo con el origen de 25 a 75 por cien.

En algunas estirpes es necesario

concentrar al máximo los sobrenadantes o filtrados para detectar la enterotoxina. No se conoce bien el significado de estos pequeños productores de enterotoxina, aunque resulte lógico pensar que con un nivel alto de contaminación en el alimento puedan producir enterotoxina suficiente para originar la intoxicación.

En definitiva, el grado de contaminación inicial del alimento viene a resultar un parámetro muy importante y, juntamente con la calidad toxigénica de la estirpe microbiana son determinantes del rango de actuación de los factores ambientales para que tenga por resultado la producción de enterotoxina.

Se ha estimado, en líneas generales, que la enterotoxina puede producirse y mantener cierta estabilidad en valores de pH comprendidos entre 4 y 10. Este amplio rango de valores de pH es mucho más limitado cuando el inoculum microbiano inicial, la tensión de oxígeno, la temperatura óptima descienden, o cuando se incrementa la concentración salina.

El tipo de toxina parece ser, por último, un factor importante por cuanto el tipo A parece hallarse menos influenciado por variaciones de pH hacia la zona ácida.

Se ha comprobado, por otra parte, que un 10 % de ClNa es una concentración máxima para la producción de enterotoxina, tanto en medios de laboratorio como en diversos alimentos.

Asimismo, el valor de a_w (actividad de agua) debe ser superior a 0,95 para

que tenga lugar la síntesis de enterotoxina en un alimento.

La temperatura y, en relación con ella, el tiempo de incubación, resulta también un factor básico, estimándose como óptima la de 40° C, siendo los límites 46° C y 10° C, que no coinciden exactamente con los límites de crecimiento puesto que *S. aureus* puede crecer hasta los 6,7° C.

Los nitritos al inhibir el crecimiento de los estafilococos evitan la síntesis de la toxina, pero únicamente en condiciones de anaerobiosis y pH ácido ya que en otro caso sería necesario recurrir a concentraciones superiores a los 200 ppm de nitrito sódico.

Los microorganismos del género *Staphylococcus* poseen escaso poder de competición con otras bacterias presentes en los alimentos y por ello la mayoría de los brotes de intoxicación estafilocócica se deben a la ingestión de alimentos en los que la flora microbiana se ha reducido sustancialmente desapareciendo estos efectos inhibitorios.

Un aspecto destacado en este capítulo es el de la estabilidad térmica de la propia enterotoxina.

Es bien conocida la parcial termo-resistencia de las enterotoxinas; el hecho de que se presentasen casos de intoxicación por ingestión de alimentos sometidos a tratamiento térmico y sin una microflora viable en el momento del consumo llamó poderosamente la atención desde un principio.

El valor Z para la enterotoxina B purificada es de 58,3. La enterotoxina A es mucho más sensible al calor

que la B, siendo la C de una sensibilidad media entre las dos.

La investigación de la enterotoxina constituye otro tema del mayor interés como medida de control y diagnóstico y se basa en la determinación del número de estafilococos por gramo de producto y en la enterotoxigenicidad de las cepas aisladas, como métodos más simples e indirectos o bien en el aislamiento e identificación de la toxina presente en el propio alimento.

La determinación del número de estafilococos es todavía el único realizable en la mayoría de laboratorios españoles dependientes de organismos que tienen encomendada la misión de velar por la salud pública.

No puede considerarse carente de valor científico si se valoran los resultados de forma correcta.

Cuando se trata de un brote de intoxicación en el que han resultado afectadas varias personas, el estudio epidemiológico, período de incubación y sintomatología de la enfermedad son de un valor inapreciable cuando se valoran conjuntamente con la enumeración de estafilococos coagulasa positivos por gramo de alimento inculcado como causa de intoxicación. El diagnóstico será de gran probabilidad cuando la cifra de estafilococos se eleve a 100 millones de gérmenes por gramo, máxime si se trata de una estirpe productora de coagulasa, capaz de fermentar el manitol en anaerobiosis y formadora de termonucleasas, resistentes a la temperatura de 100° C durante 15 minutos.

Hay que tener en cuenta que hasta

el momento presente no se ha ideado el medio que permita el crecimiento exclusivo de los estafilococos coagulasa positivos y por tanto la enumeración de la especie *S. aureus* ha de hacerse diferenciando las colonias de probables coagulasa positivos y negativos, lo que requiere experiencia, habilidad y perfecto conocimiento práctico del medio de cultivo selectivo que se utilice.

La indagación de propiedades enterotóxicas en las estirpes aisladas requiere los siguientes pasos:

a) Ensayo de producción de toxinas en medios de laboratorio.

b) Reacciones serológicas frente a los tipos de enterotoxinas conocidos mediante el empleo de sueros específicos.

c) Inoculación de gatitos por vía intraperitoneal, de gatos adultos por vía intravenosa o monos macacos por vía oral.

No hay que olvidar que nos venimos refiriendo a métodos indirectos de diagnóstico, los cuales van a facilitar, únicamente, un diagnóstico con una determinada probabilidad, pero únicamente la demostración de la enterotoxina en el propio alimento nos da la seguridad absoluta de que ha sido la causa de una intoxicación.

Como quiera que son frecuentes las reacciones inespecíficas, se hace preciso realizar una extracción y purificación de la toxina antes de poner en práctica la prueba de diagnóstico ele-

gida y ésta debe ser lo suficientemente sensible para detectar concentraciones aproximadas e inferiores a un microgramo de enterotoxina por cien gramos de alimento.

Es siempre posible concentrar los sobrenadantes o filtrados extraídos, pero esto obliga a una especial purificación a fin de evitar interferencias.

Se consideran como pruebas más sensibles el micrométodo de precipitación por difusión en gel sobre porta-objetos, ensayado hace años en nuestro laboratorio con excelentes resultados que permite una sensibilidad de 0,2 microgramos por ml.

El método de Ouchterlony en placas de Petri de 50 mm con una sensibilidad óptima se usa bastante actualmente si bien no alcanza la sensibilidad del anterior.

La hemoaglutinación inversa, pasiva, ha sido propuesta hace casi una década como método muy sensible para detectar enterotoxina en alimentos.

El método se basa en la adsorción de anticuerpos frente a la enterotoxina sobre glóbulos rojos de ovino tratados con ácido tánico seguido de la aglutinación de estas células sensibilizadas por la enterotoxina. La sensibilidad del método alcanza 0,0015 miligramos por mililitro, es decir, casi 100 veces superior a los métodos de difusión en gel.

Existen algunos problemas por los que esta prueba no ha entrado en la práctica debidamente. En primer lugar las dificultades para unir el anticuerpo a los glóbulos rojos, requirién-

dose títulos muy elevados de anticuerpo. El segundo problema importante se debería a la aglutinación inespecífica de las células sensibilizadas por los extractos de alimentos, en particular con derivados cárnicos.

El radioinmunoensayo en fase sólida se usa actualmente en diversos laboratorios para la investigación de enterotoxina en extractos de alimentos.

El procedimiento consiste en adsorber el anticuerpo específico en la superficie interior de tubos de plástico. Luego se añade una mezcla de enterotoxina tratada con yodo radioactivo y la enterotoxina problema. Después de un tiempo adecuado de reacción (8-10 horas) se extrae el contenido del tubo y se mide la radioactividad que permanece en éste. La cantidad de toxina presente se deduce de la cantidad de toxina radioactiva inhibida en su fijación.

Es un método muy sensible, comparable al de hemoaglutinación descrita y será sin duda el método de elección en el futuro para aquellos laboratorios que puedan disponer de él. Durante este verano hemos tenido ocasión de valorar este método directamente en el Food Research Institute adscrito a la Universidad de Wisconsin.

Las desventajas que apreciamos afectan únicamente a los laboratorios modestos y serían lo costoso del equipo (espectrofotómetro gamma, contadores de radioactividad), la autorización especial para manejo de materiales radioactivos, el que cada laboratorio debe preparar su propia toxina

radioactiva y el elevado grado de pureza requerido para la toxina.

En cuanto a la prevención de este tipo de intoxicación alimentaria debemos tener presente que deben darse una serie de condiciones para que este accidente tenga lugar y vamos a resumirlas en cinco puntos:

a) Presencia de una estirpe enterotoxigénica de *Staphylococcus aureus* en el ambiente en que se prepara el alimento. La carne con abscesos y la leche procedente de vacas con mastitis constituyen, por ejemplo, un origen, repetidamente comprobado, de estas variedades toxigénicas. Los manipuladores de alimentos, portadores, constituyen también un probado peligro.

b) El alimento contaminado habrá de resultar un sustrato capaz de soportar un activo crecimiento microbiano.

c) El microorganismo contaminante puede ser transferido del ambiente origen al alimento directa o indirectamente.

d) El alimento deberá permanecer, después de contaminado, a un rango de temperatura adecuado para el desarrollo del estafilococo y durante tiempo suficiente para permitir la proliferación del microorganismo y la producción de enterotoxinas.

e) La cantidad de toxina producida en el alimento y el volumen del alimento ingerido deben ser suficientes para determinar la aparición de los síntomas específicos de intoxicación.

El análisis de estas condiciones nos ha de conducir al conocimiento de las normas de profilaxis de este tipo de brote tóxico.

Contaminación con estafilococos enterotoxigénicos

El origen más frecuente de las contaminaciones radica en las personas que manipulan alimentos. En especial si padecen infecciones supuradas, catarrhos o bronquitis.

Repetimos que la leche de vaca con mastitis es especialmente peligrosa e incluso la leche natural procedente de vacas sanas puede contener estafilococos enterotóxicos, como pudimos demostrar nosotros mismos al comienzo de la década de los sesenta.

El control de las contaminaciones se logra extremando las medidas de higiene, en especial con alimentos cocidos o pasteurizados (semiconservas) ya que al no existir una microflora mixta abundante se elimina la posibilidad de competición.

El examen bacteriológico, periódico, de manipuladores, resulta indispensable como medida higiénica.

Composición del alimento

Son muchos los alimentos sobre los que puede crecer y producir enterotoxina el *Staphylococcus aureus* y su enumeración resultaría prolija.

Los preparados que incluyen yema de huevo, leche y derivados, salazones

y semiconservas de carne pueden ser, en determinadas condiciones, excelente sustrato para la producción de toxinas.

No resultan adecuados al desarrollo de estafilococos los alimentos con un pH inferior a 5 o actividad de agua (a_w) inferior a 0,9 como tampoco los de microflora mixta abundante u obtenidos por fermentación, debido al efecto competitivo de microorganismos antagonicos a un germen escasamente competidor como *Staphylococcus aureus*.

Temperatura y tiempos de crecimiento

La velocidad de multiplicación de *S. aureus* declina a medida que la temperatura de incubación se aproxima al mínimo de 6,7° C. La formación de enterotoxina no es presumible que se realice por bajo de los 10° C aun prolongando por meses el almacenamiento del alimento a dicha temperatura.

El tiempo que se requiere para la formación de enterotoxina en los alimentos es función de una serie amplia de factores, quizá desconocidos algunos y otros considerados como fundamentales, tales como estirpe, grado de contaminación inicial, pH, a_w y composición del alimento.

En condiciones favorables puede originarse enterotoxina suficiente para producir intoxicación en el hombre en el reducido espacio de cuatro horas.

Naturalmente, es en esta circunstancia cuando la temperatura de incubación ha de acercarse al óptimo de

40° C, caso poco frecuente en las condiciones normales de almacenaje.

Existen, no obstante, casos de intoxicación humana espontánea en que los alimentos inculcados no permanecieron bajo condiciones ambientales por espacio superior a las cuatro horas.

Destrucción térmica y preservación del alimento por el frío

Las temperaturas de pasteurización destruyen a los estafilococos patógenos, pero no se debe olvidar que los alimentos pasteurizados constituyen un sustrato idóneo, sin competición, para el desarrollo del *S. aureus*. Evitar las contaminaciones posteriores a la pasteurización resulta, por lo tanto, obligado.

Las temperaturas inferiores a 6,7° C no permiten el desarrollo de los estafilococos en los alimentos, por tanto una cadena de frío ininterrumpida, de la producción al consumo, utilizando simplemente temperaturas de refrigeración es suficiente para evitar este tipo de intoxicación. El cumplimiento estricto de esta medida resulta muy difícil por el momento.

Las temperaturas superiores a 100° C no garantizan completamente la destrucción de la toxina, parcialmente estable a las elevaciones térmicas de esterilización industrial aplicadas a la obtención de conservas de alimentos.

Existen, de hecho, innumerables casos de intoxicación humana, registrados en la literatura, producidos por el

consumo de diferentes tipos de conserva.

La investigación de enterotoxina sobre las materias primas más vulnerables, destinadas a conservación térmica, debe constituir una aspiración no realizable por el momento.

Control bacteriológico

Un control sistemático de alimentos, encaminado a descubrir la enterotoxina, sigue siendo irrealizable por el momento en nuestro país.

Únicamente parece aconsejable emplear esta investigación a gran escala en casos de una evidencia epidemiológica de la enfermedad, a fin de autorizar la utilización para el consumo humano de determinadas partidas del producto sospechoso.

El método recomendado a este fin sería el de precipitación por doble difusión en agar sobre portaobjetos, lo que permite economizar al máximo los antiseros tipo específicos tan difíciles de conseguir.

Hay que destacar el hecho de que la producción masiva de los elementos que intervienen en la prueba requiere una gran riqueza de medios, sólo al alcance de unos pocos laboratorios.

En la actualidad, el punto de partida de una investigación de este tipo suele ser el estudio de un brote tóxico importante.

El control bacteriológico con fines preventivos no es aplicable, a nuestro juicio, en tanto no se disponga de una técnica de diagnóstico sencilla y se-

gura utilizable como método de rutina en la investigación de enterotoxina.

No parece a la luz de las investigaciones actuales que pueda disponerse de un método de estas características en un futuro próximo.

Estudio de estirpes de Staphylococcus aureus implicadas en casos recientes de intoxicación humana

Hemos tenido la oportunidad de estudiar últimamente una serie de estirpes de *S. aureus* que nos fueron remitidos por los servicios sanitarios competentes en cada caso, bien espontáneamente o a requerimiento nuestro y sospechosas de originar brotes amplios de intoxicación en colectividades humanas.

Concretamente se trata de las intoxicaciones de origen alimentario que tuvieron lugar en León, el 31 de agosto de 1974, en tres banquetes de boda con más de 200 personas afectadas. En Caldas de Montbuy (Barcelona) el 16 de octubre de 1974, con 11 casos de toxiinfección alimentaria originada en un restaurante de la localidad entonces recientemente inaugurado.

En la comarca del Vallés (Barcelona), Tiana-Mongat, Llagosta-Montornés y Sabadell en que en los días 21 al 24 de noviembre de 1974 aparecen sucesivamente 22 casos de intoxicación humana y cuya causa es, sin duda, la ingestión de un queso fresco elaborado por una industria de la región valenciana.

En Valladolid tiene lugar una intoxicación de este tipo el 11 de julio de 1975 que afectó a 16 productores de la empresa Safem-Michelin.

Por último, el 18 de abril, domingo de Pascua de 1976, tiene lugar en Manresa un brote tóxico con 259 personas afectadas y simultáneamente aparecen en Artés, 42 casos; Cardona, 46; Navarclés, 21; Puigreig, 8; Sampedor, 22; San Fructuoso de Bages, 31; San Juan de Torruella, 11; Suria, 98; Moyá, 2; Moncada-Reixach, 7 y Barcelona capital, 36; con un total de 583 personas afectadas de intoxicación por enterotoxina estafilocócica al consumir las clásicas «monas de Pascua» elaboradas en el mismo establecimiento ubicado en Manresa.

Parece ser que esta intoxicación se extendió a las provincias de Lérida, Zaragoza y Huesca, pero no disponemos de datos precisos.

Por las mismas fechas aparece en Vich un foco que afecta a 14 personas y que resulta diferente del anterior.

El diagnóstico epidemiológico de estos procesos nos consta que ha sido realizado en los Servicios Oficiales competentes por métodos indirectos, lo que requiere la enumeración y aislamiento de las cepas de estafilococo sospechosas con un posterior ensayo de enterotoxigenicidad y esta comprobación necesita a su vez de los siguientes pasos:

a) Ensayo de producción de toxina en medios de laboratorio.

b) Reacciones serológicas por precipitación en gel usando como antígeno la toxina producida frente a sueros antienterotóxicos, que permiten determinar incluso el tipo de toxina.

Hemos dicho ya, sin embargo, que el aislamiento de estafilococos coagulasa positivos de un alimento implicado en una intoxicación alimentaria constituye únicamente una evidencia circunstancial de que el verdadero agente etiológico ha sido encontrado. La determinación serológica por medio de animales de experimentación, de que una cepa aislada es capaz de producir enterotoxina en los medios artificiales, no prueba que hizo lo mismo en los alimentos.

En definitiva, únicamente la demostración de la enterotoxina en el alimento nos da la seguridad de que ha sido la causa de una intoxicación. Se requiere, como sabemos, realizar una extracción y purificación de la toxina y disponer de una técnica de suficiente sensibilidad.

Toda esta metodología es compleja y no se ha aplicado, por el momento, que nosotros sepamos, al estudio de brotes de intoxicación alimentaria de este origen en nuestro país.

Esto nos lleva a remarcar de nuevo la importancia de una valoración correcta de los resultados de una investigación epidemiológica de esta naturaleza cuando el estudio del brote tóxico se realiza por métodos indirectos.

El presente estudio no ha podido cumplimentar estos aspectos ya que no nos fue posible disponer de alimen-

tos sospechosos más que en dos casos. Para el resto de los brotes nos fueron remitidas, únicamente, series de estafilococos de distintos orígenes en relación con el estudio epidemiológico que se pretendía.

A nosotros nos correspondía, en consecuencia, determinar el tipo de enterotoxina de las estirpes productoras, así como el posible origen de la infección por comparación de propiedades bioquímicas y modelo lítico frente a bacteriófagos en todas las cepas que nos fueron enviadas en cada caso.

Analizaremos cada brote tóxico por separado:

a) La Jefatura Provincial de Sanidad de León nos remite 6 estirpes de *Staphylococcus aureus*, 4 de ellas aisladas de tartas de una determinada confitería y 2 de personas empleadas en el obrador de la propia confitería.

En una primera resiembra, a fin de purificar las cepas, sobre un medio propio para cultivo y aislamiento de estafilococos muestran aspecto semejante las correspondientes a los números 1, 3 y 5 y, por otra parte, los números 2 y 4.

Este parentesco o similitud se confirma mediante una serie de pruebas bioquímicas (coagulasa, fosfatasa, nucleasa termorresistente, fermentación anaeróbica del manitol, reducción del telurito potásico y fermentación de la maltosa, xilosa y lactosa).

El modelo lítico frente a bacteriófagos resultó ser, a la dosis de rutina por cien, 94 para las estirpes 1, 3 y 5

y 29/52 para las 2 y 4. La tipificación fue realizada en el Laboratorio de Referencia de Infecciones en Colindale, Londres.

Cabe hablar de dos únicas estirpes aparentemente, una de ellas presente en las muestras de tarta y otra perteneciente a los empleados posibles portadores. En condiciones experimentales, sobre un medio de cultivo óptimo ninguna producía enterotoxina detectable por precipitación por difusión en gel frente a distintos tipos de suero, aunque la número 1 producía, sin embargo, débiles manifestaciones de vómito en gatos inoculados.

¿Se trata de un nuevo tipo de enterotoxina? La estirpe fue enviada con estos antecedentes al Food Research Institute de Wisconsin y el Dr. Bergdoll la considera como una «pequeña productora de enterotoxina del tipo A».

Produciendo cantidades mínimas de enterotoxina A no es probable que fuese la causa de una intoxicación que afectó a numerosas personas. La certeza absoluta nos la hubiera dado el aislamiento de un mismo tipo de toxina del alimento y la producción bajo condiciones experimentales, de toxina, empleando idéntico sustrato nutritivo.

b) Se nos remiten por la Jefatura Provincial de Sanidad de Barcelona 8 cepas de estafilococos, 4 procedentes de leche embotellada y crema elaborada con la misma y 4 procedentes de manipuladores de alimentos del restaurante en que se originó el brote tóxico en Caldas de Montbuy.

Las 4 primeras, realizado un estudio

comparativo de propiedades de cultivo y bioquímicas, muestran caracteres homogéneos y finalmente, sometidas a la tipificación por fagos, empleando la serie Internacional frente a *S. aureus*, muestran el fagotipo 29/42E/47/57/81.

Las 4 capas procedentes de manipuladores se clasifican, 3 como *S. epidermidis* y 1 como *S. aureus* cuyo modelo de lisis por fagos resultó ser 29/52/52A/79/80.

Ninguno de los gérmenes de este grupo mostró la más leve indicación de producir enterotoxinas en condiciones de experimentación sobre el medio de Casman y Bennett ya que tanto las pruebas biológicas de inoculación como las reacciones serológicas utilizadas resultaron negativas.

Tanto el período de incubación como la sintomatología a que se hacía referencia en el informe de la Jefatura Provincial de Sanidad de Barcelona eran los típicos de una intoxicación de este origen, y si aceptamos ésta como probable nos queda un interrogante múltiple: ¿perdió la cepa de estafilococo su cualidad de enterotóxica? ¿Es capaz de producir enterotoxina únicamente en unas determinadas condiciones que se daban sin duda en el alimento sospechoso? O bien, lo que es más probable, ¿era la estirpe de *S. aureus* aislada un germen de contaminación posterior al tratamiento térmico, incapaz por supuesto de sobrevivir a dicho tratamiento?

Lo que no debemos olvidar es que la enterotoxina estafilocócica es termorresistente y pudo haber sido ela-

borada antes de la propia pasteurización que destruiría, a su vez, al microorganismo productor de enterotoxina.

c) En este caso recibimos 4 cepas de estafilococos e, independientemente, una muestra de queso fresco inculgado de ser el origen de una intoxicación múltiple con distintos focos en la comarca del Vallés.

De la muestra del queso aislamos un *S. epidermidis* en escaso número y una cepa de *S. aureus* en proporción de unos 200 millones de estafilococos por gramo de queso. Las 4 estirpes de estafilococos restantes pertenecen a la especie *S. epidermidis* y por tanto se continúa la investigación únicamente con la estirpe de *S. aureus* altamente sospechosa en virtud del número tan elevado de estafilococos presentes en el alimento.

Este germen, utilizando los métodos convencionales de diagnóstico serológico, ya tantas veces mencionado, se muestra capaz de producir enterotoxina tipo E. Este es un aspecto que merece ser destacado puesto que raramente se ha encontrado este tipo de enterotoxina en casos de intoxicación humana espontánea.

Sometido el microorganismo a la tipificación por fagos, éste no es sensible a ninguno de los que integran la Serie Internacional frente a *S. aureus*.

Enviada la cepa al Food Research Institute de la Universidad de Wisconsin se nos confirma que, efectivamente, se trata de una estirpe potente productora de enterotoxina E a la vez que nos agradecen el envío ya que

puede ser muy útil al propio Centro de Investigación.

En este caso no cabía duda ninguna de que éste había sido el agente productor de la intoxicación alimentaria.

Sin duda es ésta la primera vez que se detecta la enterotoxina tipo E en nuestro país y cuya frecuencia como causa de intoxicación alimentaria desconocemos.

d) Se nos envían desde Valladolid 5 cepas de *S. aureus* procedentes de tomas nasales, de heces de uno de los afectados y de restos de alimentos. Se acompaña una serie de datos bioquímicos y epidemiológicos.

Además de repetir las pruebas bioquímicas iniciales se extiende el estudio a una serie de caracteres diferenciales ya conocidos, así como al ensayo de producción e investigación de la enterotoxina.

Las propiedades bioquímicas y de crecimiento en medio sólido sugieren la existencia de dos tipos de colonias únicamente. Una correspondería a la estirpe procedente de la toma nasal efectuada al pinche de cocina, y otra semejante, aislada de las muestras de heces, salsa mahonesa y ensaladilla rusa.

La tipificación por bacteriófagos confirma la suposición anterior ya que la cepa aislada del portador sospechoso muestra un fagotipo 29/42E en tanto que el resto no se muestra sensible a la serie de fagos del ya mencionado Centro de Referencia en Colindale, Londres.

La propia investigación de enterotoxina resulta ser una prueba diferen-

cial entre las dos estirpes, siendo positivas para los tipos A y C de enterotoxina las 4 cepas aisladas de heces y de alimentos inculpados de ocasionar el brote tóxico mencionado y negativa la estirpe aislada del pinche de cocina.

e) Una vez más debemos a la atención de la Jefatura de Sanidad de Barcelona el envío de una serie de muestras de tartas y «monas de Pascua» manresanas, así como 8 estirpes de estafilococos aisladas, 6 de ellas de los propios productos de pastelería y 2 de manipuladores de alimento.

Realizado el estudio bioquímico y antigénico de las estirpes de *S. aureus* que nos fueron remitidas así como de las tartas enviadas, resumiremos los siguientes resultados:

La única parte contaminada en las tartas recibidas era la veta central de crema, no hallándose estafilococos en la crema superficial ni en la masa. El contenido de *Staphylococcus aureus* en esa zona era de 5 millones por gramo sobre medio de Baird-Parker, observándose la presencia, en otros medios de cultivo, igualmente, de una cantidad ligeramente inferior de *S. epidermidis*.

Así pues, la flora contaminante se hallaba integrada por una mezcla de ambas especies en la crema del centro.

La especie *S. aureus* era totalmente típica en cuanto a características bioquímicas y productora de enterotoxina tipo A.

Respecto a las estirpes recibidas, las contenidas en los tubos 178 (1) y 178 (2) deberían tener el mismo ori-

gen puesto que en ellos se aprecian un contaminante principal de *S. aureus* y un contaminante de *S. epidermidis*, tal y como pasaba en el análisis de la crema central a que nos hemos referido, siendo además la especie *S. epidermidis* de las mismas características bioquímicas y tonalidad de las colonias (blanco nacarado).

La especie *S. aureus* aislada resultó también productora de enterotoxina A.

La estirpe número 6891 procedente de una muestra nasal de un manipulador resulta ser *S. aureus* productor de enterotoxina B.

La cepa 180 se hallaba representada también por la especie *S. aureus* semejante por sus características a la 178 y productora de enterotoxina A.

En el tubo número 6.889 se observa un cultivo de *S. aureus* típico, de color dorado y características bioquímicas de la especie productor débil de enterotoxina A y aparentemente diferente de la anterior.

Las cepas 171, 173 y 174 corresponden a un estafilococo coagulasa negativo que se identifica como *S. epidermidis*.

Sometidas las cepas a una tipificación por bacteriófagos en el Centro de Referencia mencionado parecen tener idéntico origen los números 178 (1) y (2), la 180 y la aislada por nosotros de la parte central cremosa de las tartas recibidas, con un fagotipo 29/52/80.

La cepa 6891 es positiva al fago 29 únicamente a la dosis de rutina por cien y el resto de las estirpes no resulta tipable.

Parece claro que las cepas número 178 (1) y (2), 180 así como la estirpe aislada directamente del alimento implicado, productoras de enterotoxina A deberían ser la causa de la intoxicación masiva que tuvo origen en Manresa y se extendió no sólo a diferentes localidades de la provincia sino a otras provincias limítrofes en la Pascua de Resurrección última.

Esta incidencia, frecuente por lo que parece, de este tipo de intoxicación

en Cataluña nos lleva a pensar de nuevo en las consideraciones iniciales de esta Conferencia, al señalar un mayor peligro en las regiones más desarrolladas y de mayor nivel de vida y conocido esto debe de servirnos de estímulo a todos para tratar de corregir estos percances tan peligrosos y desagradables, a los que sin duda no se ha venido prestando la debida atención hasta el momento presente.

PUBLICACIONES ANTERIORES DEL AUTOR SOBRE EL TEMA

1. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G.: 1966. Microflora estafilocócica de leche natural. An Fac. Vet. León. 12: 11-166.
2. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G.: 1968. Enterotoxinas estafilocócicas. Rev. San. Hig. Publ. 1-2: 47-81.
3. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G.: 1970. Investigaciones sobre modo de acción de la enterotoxina estafilocócica. Laboratorio. 292: 313-319.
4. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G.: 1970. Estudios de letalidad térmica sobre cepas de estafilococos procedentes de alimentos. Medicamenta 478: 151 y Medicamenta (edición farmacéutica) 269: 27-29.
5. OVEJERO DEL AGUA, S., G. SUÁREZ y A. SANTOS: 1971. Significado higiénico de la presencia de estafilococos patógenos o sus toxinas en leche en polvo: Microbiol. España. 24: 287-302.
6. OVEJERO DEL AGUA y G. SUÁREZ: 1971. Recherche de staphylocoques pathogènes dans du lait en poudre. Rev. Le Lait. 505-506: 294-301.
7. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. y S. OVEJERO DEL AGUA: 1974. Intoxicación estafilocócica. Ponencia presentada a la II Reunión Científica de la Sociedad Española de Microbiología (Sección Noroeste).
8. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G.: 1975. Estudio de estirpes de *S. aureus* implicadas en casos de intoxicación humana. Comunicación presentada en el V Congreso Nacional de Microbiología.

9. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. y A. RODRÍGUEZ TORRES: 1976. Estudio de un brote tóxico originado por enterotoxina estafilocócica del tipo mixto A y C. *An. Med. Cirug. Barcelona*. 243: 63-70.
10. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. y S. OVEJERO DEL AGUA: 1976. Intoxicación estafilocócica. Enterotoxinas estafilocócicas. *Cir. Farm. Barcelona*. 250: 42-50.
11. SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. y S. OVEJERO DEL AGUA: 1976. Intoxicación estafilocócica. Prevención y control. *Cir. Farm. Barcelona*. 251: 375-383.