

ESTUDIO DE DISTINTOS BROTES DE INTOXICACIÓN ALIMENTARIA POR TOXINA ESTAFILOCÓCICA PRESENTE EN QUESO CURADO DE OVEJA

CARLOS ARANDA RAMÍREZ¹, ROCÍO MARFIL NAVARRO¹, DIEGO ALMAGRO NIEVAS²

ABSTRACT

At the end of 2012, eight food poisoning outbreaks caused by a staphylococcal toxin were reported to the Andalusian Public Health Alert System. Seven of them related to the same restaurant. Two more outbreaks in the same restaurant were not notified due to the fact that the affected people did not turned to the care services. Maintaining the hypothesis that outbreaks were produced by consuming a cheese made from raw sheep's milk, three case-control studies and one cohort study were performed for the last three outbreaks. 48 out of the 85 surveyed adults became ill and no child did. In the epidemiological survey variables of person, place and time were collected. Food inspections were carried out with precautionary immobilization and sampling of the suspected cheese and the manipulators were studied. Stool cultures were done to patients. The predominant symptoms were diarrhoea, abdominal pain, nausea, vomiting and low fever. The median incubation period was 6 hours. In the multiple logistic regression analysis, it was obtained that those who ate the suspect cheese in any of the three events had a 21 times higher risk than those who did not eat (adjusted OR = 21.33, 95% CI: 2.6-174, 5). In the five cheese samples staphylococcal enterotoxins were found using European method CRL: 2009. The result of the four stool cultures made to patients was negative with respect to viruses and enterobacteria, toxins could not be studied. From the clinical, epidemiological, statistical perspective and using the laboratory data, we can affirm that the source of infection was mature sheep cheese which carried an enterotoxin produced by *Staphylococcus Aureus*. We are not aware of this type of food poisoning with mature sheep cheese in Spain.

Keywords: Food poisoning outbreaks, cheese, *Staphylococcus aureus*, enterotoxin.

¹ UG de Protección de la Salud Distrito Granada-Metropolitano.

² UGC Medicina Preventiva, Vigilancia y Promoción de la Salud Distrito Granada-Metropolitano.

RESUMEN

A finales del año 2012, se notificaron al Sistema de Alertas de Salud Pública de Andalucía ocho brotes de intoxicación alimentaria causados por una toxina estafilocócica. Siete de ellos relacionados con un mismo restaurante. Dos brotes más en el mismo restaurante no fueron notificados por no acudir los afectados a los servicios asistenciales. Tras la hipótesis de que los brotes habían sido producidos por el consumo de un queso hecho de leche de oveja cruda, se realizaron tres estudios de casos y controles y uno de cohortes para los tres últimos brotes. De 85 adultos encuestados enfermaron 48, no se afectaron niños. En la encuesta epidemiológica se recogieron variables de persona, lugar y tiempo. Se realizaron inspecciones alimentarias con inmovilización cautelar y toma de muestras del queso sospechoso y se estudiaron a los manipuladores. Se tomaron coprocultivos a enfermos. La clínica predominante fue diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos y febrícula. El periodo de mediano fue de 6 horas. En el análisis de regresión logística múltiple se obtuvo que los que comieron el queso sospechoso en alguno de los tres eventos tuvieron un riesgo 21 veces superior a que los que no comieron (OR ajustada= 21,33; IC95% 2,6-174,5). En las cinco muestras de queso se encontró la presencia de *enterotoxina estafilocócica* con método europeo CRL:2009. El resultado de los cuatro coprocultivos realizados a enfermos fue negativo a virus y enterobacterias, no se pudieron estudiar toxinas. Desde el punto de vista clínico, epidemiológico, estadístico y de los datos derivados del laboratorio, podemos afirmar que la fuente de infección fue el queso curado de oveja que vehiculaba una *enterotoxina* producida por *Staphylococcus Aureus*. No tenemos conocimiento de este tipo de toxinfeción alimentaria, con queso curado de oveja en España.

Palabras clave: Intoxicación, queso, *Staphylococcus aureus*, enterotoxina.

1) INTRODUCCIÓN

La intoxicación alimentaria estafilocócica es una de las más extendidas en todo el mundo, si bien se desconoce su verdadera incidencia por la corta duración de la enfermedad (1). Según la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (2), de los 293 brotes por toxina estafilocócica declarados en 2009 en el ámbito de la UE, el alimento más implicado fue el queso (21,6% de los brotes). Aunque el reservorio suele ser humano, en el caso del queso, la contaminación es generalmente de origen animal (2,3,4). El modo de transmisión es por la ingestión de enterotoxinas estafilocócicas preformadas en los alimentos por estafilococos de cepas enterotoxigénicas, principalmente por la especie *Estafilococos aureus* (5). Como las enterotoxinas estafilocócicas son termoresistentes, pueden estar presentes en los alimentos aun cuando los *Estafilococos aureus* estén ausentes (6). El Reglamento (CE) N°2073/2005 (7), establece como criterios de higiene un máximo de 10^5 UFC/g de estafilococos coagulasa positivos en quesos hechos a base de leche cruda y la ausencia de enterotoxina estafilocócica en 25 gramos en queso en los productos comercializados durante su vida útil. Según

Dictamen del Comité Científico Veterinario (8), sobre enterotoxinas estafilocócicas en productos lácteos, se considera que la carga microbiana para producir un brote es de 10^5 UFC/ g de estafilococos coagulasa positivos y a partir del inicio del proceso de maduración del queso, el germen va desapareciendo mientras que la toxina inicial puede perdurar hasta el final de la vida comercial del queso. Por tanto, el diagnóstico de la enfermedad se basa en el corto periodo de incubación, la descripción de la sintomatología que presentan los enfermos y la demostración de las enterotoxinas en el alimento sospechoso (9).

En octubre, noviembre y diciembre de 2012 fueron notificados al Sistema de Alertas en Salud Pública de Andalucía, ocho brotes de intoxicación alimentaria, siete de ellos relacionados con un solo restaurante. Otros dos brotes más relacionados con el mismo restaurante no llegaron a notificarse por no acudir los afectados a los servicios sanitarios. Como el periodo de incubación era de horas y la clínica que presentaban los enfermos era de vómitos, dolor abdominal y en menor medida diarrea y fiebre, se pensó en una *toxina estafilocócica* o de *Clostridium perfringens*. En los primeros brotes los enfermos eran escasos en relación a los expuestos, lo que dificultó la investigación y la definición de una hipótesis causal.

El objetivo de este estudio fue describir y analizar desde el punto de vista clínico, epidemiológico, y microbiológico los brotes de intoxicación alimentaria ocurridos a finales de 2012.

2) MÉTODOS

Ámbito de estudio: Restaurante.

La confección de los menús era acordada entre el gerente del restaurante y los anfitriones de las celebraciones y se componía de unos entrantes, primer plato, segundo plato a elegir entre cuatro diferentes y el postre. En un primer momento, en base a la sintomatología, a la poca cantidad de enfermos y al hecho de que en el año 2009 en el establecimiento afectado ya tuvo lugar una toxiinfección alimentaria por *C. perfringens* posiblemente por una contaminación cruzada, nos planteamos como hipótesis el consumo de verduras para la guarnición, ya que al consumirse en el último plato, justificaría la poca cantidad de enfermos.

Diseño de estudio: Descriptivo, tres estudios de caso/control y uno de cohortes para los tres últimos brotes.

En los seis primeros brotes se realizó una descripción sin poder realizar ningún estudio analítico por el escaso número de enfermos recogidos. El periodo epidémico se calculó desde el primer brote que fue notificado el 21 de octubre hasta el 16 de diciembre de 2012 que fue el segundo fin de semana con ausencia de brotes. Todos los brotes ocurrieron durante los fines de semanas.

Para la primera hipótesis, se utilizó la definición de caso sospechoso como: todo comensal que asistió a cualquier celebración desde el día 21 de octubre de 2012 y que presentó posteriormente síntomas de gastroenteritis aguda (vómitos, diarrea, dolor abdominal, fiebre, náuseas y malestar general) dentro de las siguientes 24 horas de la celebración correspondiente. Como controles se tomaron todos los que asistieron a las celebraciones y no enfermaron. Los casos confirmados se identificaron como personas que cumplen la definición de casos con confirmación microbiológica de un organismo causante de gastroenteritis en una muestra de heces.

Las variables independientes analizadas fueron: edad, sexo, día y hora de inicio de síntomas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, fiebre, náuseas y malestar general. Los alimentos investigados fueron los menús elaborados. Como no hubo niños que enfermaron, se tomó la decisión de no incluirlos en el estudio.

Toda la recogida de datos se realizó con encuesta específica cumplimentada por vía telefónica y en persona por los epidemiólogos de atención primaria y técnicos de protección de la salud del Distrito Granada y Metropolitano. El cuestionario que se utilizó fue el que se aprobó y validó en un protocolo de intervención para toxiinfecciones alimentarias y que se vienen utilizando en todos los brotes.

Análisis de datos: Proporciones, medias y medianas. Tasas de ataque para alimentos consumidos. OR y RR con sus IC al 95%.

En los siete primeros brotes se realizó una descripción sin poder llevar a cabo ningún estudio analítico por el escaso número de enfermos recogidos. El periodo epidémico se calculó desde el primer brote que fue notificado el 21 de octubre hasta el 16 de diciembre de 2012 que fue el segundo fin de semana con ausencia de brotes.

Con los tres últimos brotes se realizó un estudio descriptivo, tablas de contingencia y test exacto de Fisher y dos estudios de casos y controles con el cálculo de odds ratio cruda y de intervalos de confianza al 95% (ORc; IC95%) y un estudio de cohorte, debido a que se pudo obtener el listado completo de invitados, con el cálculo del riesgo relativo y de intervalos de confianza (RR; IC95%). Estos estudios analíticos se basaron en la hipótesis del consumo de queso como fuente de la intoxicación. La búsqueda activa de casos a través de familiares y anfitriones permitió detectar un mayor número de enfermos, ya que, al padecer la sintomatología de forma más leve, no acudían a los servicios sanitarios.

Con la población de las tres últimas celebraciones se planificó un estudio de caso control como si fuese un brote único con el cálculo de la ORc y posteriormente ajustada (ORa IC al 95%) utilizando la regresión logística múltiple con el método condicional hacia adelante. En este análisis, los alimentos comunes, que se sirvieron en las tres celebraciones, se analizaron como una variable única y común. Los programas utilizados fueron Excel y SPSS/PC v.15

Intervenciones:

- Se realiza encuesta epidemiológica con variables de lugar (provincia), tiempo (fecha de inicio de los síntomas) y persona (edad, sexo, síntomas).

- Encuesta alimentaria: Se tomó la medida de retirar el queso de los menús y para confirmar la hipótesis de que con la retirada del alimento no habría más brotes, se valoraron todas las celebraciones desde el inicio del periodo epidémico, investigándose en qué celebraciones se consumían queso y si era del mismo tipo y lote que el sospechoso. Se realizó un análisis de bivalente con el cálculo ORc y su IC95%.

- Actuaciones sobre las condiciones higiénico-sanitarias del establecimiento por Técnicos de Protección de la Salud

Tras las primeras intoxicaciones alimentarias, en primer lugar se procedió a revisar toda la documentación relacionada con las actuaciones realizadas por las unidades provinciales de alertas actuantes. Paralelamente, mediante una Auditoría de Seguridad Alimentaria, los Técnicos de Protección de la Salud realizaron comprobaciones sobre la viabilidad y eficacia del Sistema de Autocontrol implantado, desde una revisión documental hasta la comprobación "in situ" de la seguridad de los procesos y eficacia de los controles llevados a cabo en todas las fases de elaboración. Durante esta Auditoría se obtienen una serie de evidencias de no conformidad en

todo el ámbito supervisado. Debido a la inexistencia de algunos controles y a malas prácticas detectadas en determinados manipuladores, se instó al establecimiento para que adoptase de forma inmediata acciones correctoras sobre el estado higiénico de instalaciones, procesos de abatimiento, determinadas prácticas de manipulación incorrectas, y controles de temperatura. En inspección realizada a los dos días, se constató que se habían subsanado las deficiencias detectadas que podrían afectar a la seguridad de los productos.

Después de realizar nuevas investigaciones epidemiológicas, se concluye que el posible alimento implicado en toxiinfecciones alimentarias es un queso de leche cruda de oveja añejo que se recibió en un único lote dos días antes de la primera toxiinfección y exceptuando un día, solamente se sirve los fines de semana. En base a esto, se procedió a la inmovilización cautelar de la partida de quesos del mismo lote que todavía se almacenaba en el establecimiento y a la toma de muestras reglamentaria (n=5), con un número de muestras representativo. Se enviaron muestras para investigación de Estafilococos coagulasa positivos a distintos laboratorios de Salud Pública y en concreto a un Laboratorio Acreditado para la determinación de enterotoxina según Método europeo CRL:2009 establecido en la normativa comunitaria aplicable.

-Se tomaron cuatro muestras de heces de enfermos que fueron remitidas al Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada para estudio de enterobacterias (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* y *Shigella*) y virus (*Adenovirus*, *Astrovirus*, *Norovirus* y *Rotavirus*). Como no existía en este hospital técnica para detectar *toxina estafilocócica* y de *clostridium perfringens*, las muestras también se remitieron al Centro Nacional de Microbiología.

- Frotis nasales: en base a la hipótesis de que los manipuladores de alimentos fuesen el origen de la intoxicación, se procedió a encuestarlos y se tomaron muestras de frotis nasal para investigación de la presencia de *Staphylococcus aureus*, incluyendo a los manipuladores contratados eventualmente.

3) RESULTADOS

1.- Estudio descriptivo de los diez brotes detectados.

En la tabla 1 se recoge la descripción de los 10 brotes detectados. Se confirmó que todos los brotes ocurrieron durante los fines de semana. La tasa de ataque media fue del 6,96%, oscilando entre el 100% con pocos comensales y el 2,98% con muchos comensales. El periodo de incubación mediano fue de 6 horas para todos brotes y

osciló entre 1 y 11 horas. La clínica por orden de frecuencia fue diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos y pocos casos con fiebre. Los brotes 2 y 4 no fueron declarados.

Tabla 1: Características de los brotes.

Brote	Fecha inicio de síntomas	Expuestos	Afectados	Tasa de Ataque	PI mediano (horas)
1	21-10-12	24	6	25,0%	6
2	29-10-12	3	3	100,0%	6
3	1-11-12	2	2	100,0%	6
4	10-11-12	33	7	21,2%	-
5	10-11-12	6	3	50,0%	11
6	11-11-12	302	9	3,0%	4
7	25-11-12	329	11	3,3%	3
8	1-12-12	27	7	25,9%	6
9	2-12-12	28	9	32,1%	5
10	2-12-12	30	18	60,0%	5

2.- Estudio analítico de los tres últimos brotes notificados.

La notificación de los brotes fue directamente al Distrito el día 3 de diciembre de 2012. Cada brote fue investigado por un epidemiólogo distinto. La evolución del cuadro clínico fue hacia la curación en menos de 24-48 horas. En ninguno hubo diferencias significativas entre la edad y el género. Para confirmar la hipótesis del queso, se preguntó por el contenido y consumo individual de los embutidos que componían los entremeses.

2.1.- BROTE N° 8.- El periodo de incubación fue de un mínimo de 4 horas y hasta un máximo de 16 horas con una mediana de 6 horas. No se tomaron muestras de heces. El diagnóstico de sospecha fue de *intoxicación Estafilococica* o de *C. perfringens*. Ningún enfermo acudió a un centro sanitario. Los alimentos del menú fueron entremeses (jamón, queso curado, y lomo embuchado), ensalada, fritura de pescado (chipirones, gambas, cazón y chanquetes), churrasco con patatas, bacalao con tomate, pez espada con patatas y surtido de tartas. Se realizó un estudio de casos control con 7 casos y 10 controles y no se encontró asociación estadística entre enfermar y el consumo de queso con $p=0,11$ y con una OR de 4 (IC95% 0,28-56,56), si bien la OR fue la mayor encontrada entre todos los alimentos. Todos los enfermos comieron queso.

2.2.- BROTE N° 9. El periodo de incubación fue de un mínimo de 1 hora y hasta un máximo de 12 horas con una mediana de 5 horas. Sólo 3 enfermos acudieron a urgencias. El diagnóstico de sospecha fue de intoxicación por *C. perfringens*. Los alimentos del menú fueron almendras, aceitunas, entremeses (jamón, queso curado, y lomo embuchado), ensalada, chipirones, chuletón con verduras, bacalao con tomate y surtido de tartas. Se realizó un estudio de casos-controles con 9 casos y 13 controles y se encontró asociación estadística entre enfermar y el consumo de queso con una $p=0,049$ y una OR de 8,75 (IC 95% 0,74-232,64). Para el resto de alimentos no se observó asociación estadísticamente significativa. Todos los enfermos comieron queso.

2.3.- BROTE N° 10.- El periodo de incubación fue de un mínimo de 3 horas y de un máximo de 19 horas y con una mediana de 5 horas. Se tomaron dos muestras para coprocultivo con resultado negativo a enterobacterias. El diagnóstico de sospecha fue de intoxicación por *C. perfringens*. Acudieron siete pacientes a urgencias. Los alimentos del menú fueron entremeses (jamón, queso, chorizo, salchichón y lomo de caña), chipirones, gambas, entrecot, chuleta con patatas, bacalao a la vizcaína, pez espada, guarnición y tartas variadas. Se recogen también todos los entremeses según el contenido de embutidos. Se realizó un estudio de cohortes con 12 enfermos y 18 no enfermos y se encontró asociación estadística entre enfermar y el consumo de queso con una $p=0,032$ y un RR de 4,25 (IC 95% 0,69-25,9). Igualmente, debido al número de casos tan bajo, se realizó una diferencia de tasas entre los expuestos y no expuestos a los distintos alimentos donde la más alta fue de un 56% para el queso. Se preguntó sobre la cantidad de lonchas de queso consumidas y se obtuvo una dosis respuesta de 3,84 veces más de riesgo por cada loncha de más consumida (OR=3,84; IC95% 1,05-14,36).

3.- Estudio analítico del conjunto de los tres brotes

En la tabla 2, se observa la relación entre el consumo de los distintos alimentos que componía el menú y la enfermedad. En el análisis de casos-controles nos encontramos con una ORc = 21,33 (IC95% 2,6-174,5) para el consumo de queso. El consumo de lomo embuchado salió como factor protector de enfermar (ORc=0,18; IC95% 0,04-

0,75). El consumo de la guarnición de verduras no fue relacionado estadísticamente con la enfermedad.

Tabla 2: Estudio de casos control de los últimos tres brotes.

Variable N°		Caso		Control		Test de Fisher	Odds ratio ORc (IC95%)
		%	N°	%	p		
Jamón	Sí	30	90,9	30	85,7	0,38	1,66 (0,36-7,6)
	No	3	9,1	5	14,3		
Queso	Sí	31	97	21	60	0,00	21,33 (2,6-174,5)
	No	1	3	14	40		
Lomo	Sí	22	66,7	32	91,4	0,01	0,18 (0,04-0,75)
	No	11	33,3	3	8,6		
Bacalao	Sí	11	33,3	12	34,3	0,56	0,95 (0,35-2,61)
	No	22	66,7	23	65,7		
Chuletón	Sí	8	24,2	9	27,7	0,55	0,92 (0,30-2,77)
	No	25	75,9	26	75		
Guarnición	Sí	19	57,6	20	57,1	0,58	1,01 (0,38-2,66)
	No	14	42,4	15	42,9		
Tartas	Sí	31	93,9	31	88,6	0,36	2 (0,34-611,7)
	No	2	6,1	4	11,4		

Según la interpretación del análisis multivariante, los que comieron queso sospechoso en alguno de los tres eventos tuvieron un riesgo de 25 veces más que los que no lo comieron, controlando por el resto de alimentos comunes (OR ajustada= 24,91; IC95% 2,68-231,19) y el consumo de lomo embuchado se mantenía como protector de enfermar (OR ajustada= 0,15; IC95% 0,03-0,82).

El queso curado era considerado de mayor calidad y se ofertaba sólo los fines de semana y escasamente en raciones de forma diaria. De los 20 eventos que se celebraron en el restaurante durante al período epidémico, en 10 hubo enfermos. En el análisis bivariante obtuvimos una OR= 9,33 (IC95% 1,26-68,87).

4.- ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

4.1.- Las 4 muestras de heces de enfermos analizadas fueron negativas para enterobacterias y virus. Se identificaron dos toxinas *C. perfringens* con el genotipo Cpa (cpa+cpb2+), secuencia del 16 S rRNA de tipo 1, en dos muestras de heces de dos de los casos y que apoyó la hipótesis etiológica. Posteriormente se descartó que fuese la misma toxina por la técnica MLST.

4.2.- El total de manipuladores investigados fueron 28 de los que 12 resultaron positivos a *Staphylococcus aureus* entre ellos 3 en trabajadores eventuales de la cocina y el resto camareros. Se les prescribió tratamiento

4.3.- Las 5 tomas de muestras de queso de oveja de leche cruda y de bacalao con salsa de tomate fueron negativos a *Estafilococos coagulasa +y a C. perfringens* (ufc/g <1x10¹) en el Laboratorio de Salud Pública de Granada. Las mismas muestras se enviaron al del Córdoba para estudio de *enterotoxina estafilococicas* detectándose en una de ellas por el método ELFA. Posteriormente, tras una nueva toma de muestras que se remiten al Laboratorio de la Agencia de Salud Pública de Barcelona, se detectó *enterotoxina estafilococicas* según el Método Europeo CRL:2009, en las 5 unidades muestreadas.

5.- Trazabilidad del queso

Los brotes generaron la alerta 2012/172 en el Sistema Coordinado de Intercambio Rápido de Información (SCIRI). Se realizó un seguimiento de los quesos distribuidos por un mayorista que los había adquirido en otra comunidad autónoma, procediéndose a la inmovilización de 2 unidades que todavía existían en esta empresa y no hallándose más producto en los 5 establecimientos donde se había distribuido y donde se vendieron de forma fraccionada a consumidor final.

4. DISCUSIÓN

Este trabajo presenta los resultados de brotes con tasas de ataque pequeñas y una fuente común. Los análisis epidemiológicos, tiempo de incubación, clínica y duración de la enfermedad sugieren que la toxina estafilococia fue el más probable agente causal y la detección de la enterotoxina en las muestras de queso apoya esta conclusión.

Estos brotes con sus fortalezas y debilidades nos han enseñado que las encuestas epidemiológicas han de ser más detalladas. Así mismo, es necesaria una buena coor-

dinación entre todos los profesionales implicados para dar una respuesta rápida en términos de salud pública. Además, hubiese sido recomendable poder mantener una mejor comunicación con los asistentes de eventos muy numerosos que nos hubiese proporcionado un mayor número de controles y así aumentar la potencia estadística de nuestro estudio.

Uno de los principales retos en esta investigación fue la falta de muestras de alimentos positivas y la dificultad en la obtención de muestras de heces de casos. Otra importante limitación fue no poder determinar en los laboratorios de referencia la presencia de toxinas estafilocócicas que hizo que no se investigasen en heces y si en alimentos pero en otros laboratorios. Todo esto provocó diferentes retrasos y centrarnos en hipótesis menos plausibles como fue la presencia de la toxina *C. perfringens* en alguna guarnición de platos. Esta fue apoyada por la evaluación de riesgos alimentarios de seguridad de acuerdo a análisis de peligros y puntos específicos de control críticos (HACCP) y los antecedentes de toxiinfecciones anteriores. A pesar de estas limitaciones, la evidencia epidemiológica y microbiológica es suficiente para establecer una fuerte asociación entre el consumo de los alimentos antes mencionados y la enfermedad gastrointestinal posterior.

En el momento que se realizó la primera hipótesis, la investigación del brote se llevó a cabo con rapidez y de manera oportuna, lo que permitió una rápida implementación de medidas de control y también minimizar el sesgo de recuerdo en las entrevistas, aunque los resultados de los alimentos tardaran más en llegar.

La ausencia de listas de invitados, la necesidad de realizar investigaciones rápidas, el no acudir a los servicios asistenciales y la tasa de ataque de baja hace difícil encontrar controles y casos.

Inicialmente, la baja tasa de ataque hizo sospechar que fuese un alimento que se consumía en pequeñas cantidades. El queso forma parte de un plato de entremeses que llevaba unas seis lonchas para 4 personas y tras comprobar la relación dosis-respuesta explicaba la tasa baja de ataque en los eventos más grandes, amén de las posibles pérdidas. Mediante un análisis multivariado de los alimentos se demostró una asociación significativa entre el consumo de queso y la enfermedad.

La presencia de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en queso elaborado con leche cruda es un peligro conocido para la salud pública (10). Se han notificado numerosos brotes debido al consumo de queso fabricado tanto con leche cruda como pasteurizada (11,12).

Entre las distintas fuentes de contaminación por *S. aureus* presentes en el proceso de elaboración de queso la principal es sin duda de origen animal, siendo además el ovino y caprino las especies lecheras con mayor incidencia de *S. aureus*. Otras posibles fuentes de contaminación son los manipuladores de alimentos, el agua empleada en el proceso de elaboración y las condiciones medioambientales (13).

Durante la elaboración del queso, en la fase de formación del coágulo lácteo, se alcanzan rangos de temperaturas entre 37 – 40°C mantenidos durante periodos de tiempo prolongados, alrededor de 15 - 20 minutos, que favorecen la multiplicación del número inicial de estafilococos presentes en la leche. En un estudio donde inocularon distintas cepas de estafilococos en leche de oveja pasteurizada con la que elaboran queso manchego, observan un incremento considerable en el n° de estafilococos entre la fase de inoculación y la de salado. Posteriormente, a lo largo de la fase de curación del queso, la concentración de ese microorganismo disminuye progresivamente hasta llegar a límites indetectables (14). De igual forma, se ha detectado en varias muestras de quesos de distintos tipos, entre ellos quesos curados, *Staphylococcus aureus* y enterotoxina estafilocócica tipo C (15). La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, en un informe pone de manifiesto los riesgos microbiológicos asociados al consumo de queso elaborado con leche cruda (16).

La ausencia de estafilococos coagulasa positivos en cultivos de alimentos no descarta el diagnóstico (5). En distintas intoxicaciones ocurridas en Francia, no se aisló el germen al haberse tratado térmicamente el queso, pero si se aislaron las enterotoxinas (17).

Desde el punto de vista clínico, epidemiológico, estadístico y de los datos derivados del laboratorio, podemos afirmar que la fuente de infección fue el queso curado de oveja que vehiculaba una enterotoxina producida por *Staphylococcus Aureus*. No tenemos conocimiento de este tipo de toxinfeción alimentaria, con queso curado de oveja en España.

5. CONCLUSIONES

- Una partida de quesos curados elaborado con leche cruda de oveja contaminados con enterotoxinas de *S.aureus* ha sido la fuente de infección de varias intoxicaciones alimentarias.

- Es necesario concienciar al personal sanitario que realiza las encuestas epidemiológicas de la importancia de este tipo de productos en la aparición de brotes con cortos periodos de incubación.

- Se debe revisar la cartera de servicios de los Laboratorios de Salud Pública para facilitar el acceso a pruebas rápidas en muestras asociadas a la aparición de brotes.

- La investigación alimentaria es esencial para la gestión y control de brotes por toxoinfecciones e intoxicaciones, tanto por la identificación del agente causal como por la adopción de medidas preventivas en los establecimientos implicados.

6. REFERENCIAS

- (1) Mota de la Garza L y Elizabeth Fernández M. en C. Intoxicación estafilocócica por alimentos. <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/65372-intoxicacion-estafilococica-alimentos%0D%0A>
- (2) The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009; EFSA Journal 2011; 9(3):2090. [378pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2090. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- (3) Callon C, Gilbert, F.B., De Cremoux, R., Montel, M.C., 2008. Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of *S. aureus* contamination from milk to cheese in goat cheese farms. *Food Control* 19, 143–150.
- (4) Spanu V, Spanu C, Viridis S, Cossu F, Scarano C, De Santis EP. Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. *Int J Food Microbiol.* 2012;153(1-2):53-7.
- (5) Heymann D. Intoxicación alimentaria estafilocócica. El control de las enfermedades transmisibles. Organización Panamericana de la salud. Decimonovena edición. 2011. 439-444
- (6) Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol.* 2000;61(1):1-10.
- (7) REGLAMENTO (CE) no 2073/2005 DE LA COMISIÓN de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea. 22.12.2005. L 338/1- L 338/26
- (8) European Commission, Health and Consumer Protection Directorate General. Opinion of the Scientific Committee on veterinary Measures relating to Public Health On *Staphylococcal Enterotoxins in Milk Products, particulary Cheeses*. Marzo 2003. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scv_out61_en.pdf.
- (9) CDC. Guidelines for Confirmation of Foodborne-Disease Outbreaks. *CDC surveillance Summaries.* March 17,2000/49;54-62
- (10) Lindqvist R, Sylvé S, Vagsholm I. Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. *Int. J. Food Microbiol.* 2002; 78:155 – 170.
- (11) Bone FJ., Bogie D, Morgan-Jones SC. Staphylococcal food poisoning from sheep milk cheese. *Epidemiology and Infection.* 1989; 103: 449-458.

- (12) De Buyser, ML, Dufour B, Maire M, Lafarge VPY. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 67: 1-17.
- (13) Resegren A, Fabricius A, Guss B, Sylvén S, Lindqvist R. Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. *Int. J. Food Microbiol.* 2010; 144: 263-269.
- (14) Otero A, García MC, García JA, Santos & Moreno B. Behaviour of *Staphylococcus aureus* Strains FRI 137 and FRI 361 during the manufacture and ripening of Manchego Cheese. *Int. Dairy Journal.* 1993; 3: 85-96
- (15) Akineden O, Ahmed Hassan A, Schneider E, Usleber E. Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats' milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 124: 211 – 216.
- (16) EACOSAN. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los riesgos microbiológicos asociados al consumo de leche cruda y productos lácteos elaborados a base de leche cruda. Número de referencia: AECOSAN-2015-004. Disponible en:
http://www.aecosan.mssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/LECHE_CRUDA.pdf
- (17) Ostyn A, De Buyser ML, Guillier F, Groult J, Felix B, Salah S, Delmas G, Hennekinne JA. First evidence of a food poisoning outbreak due to staphylococcal enterotoxin type E, France, 2009. *Euro Surveill.* 2010;15(13):pii=19528. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle>.