

Artículo Original

Enterotoxinas en *Staphylococcus aureus* aislados de manipuladores de ali-mentos de un mercado público de Asunción, Paraguay

Enterotoxins in *Staphylococcus aureus* isolated from food handlers at a public market in Asunción, Paraguay

Jazmín Peña Kieninger¹ 

Raúl Alonso Alonso¹ 

Francisco Silva Galeano¹ 

David Orué Fernández¹ 

Rolando Cáceres Rojas^{1,2} 

Rosa Guillén Fretes³ 

Fátima Rodríguez Acosta³ 

Andrés Canese Krivoshein¹ 

¹Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina, Cátedra de Microbiología y Parasitología. Asunción, Paraguay

²Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Centro Médico Nacional-Hospital Nacional, Departamento de Laboratorio. Itauguá, Paraguay

³Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Departamento de Microbiología. San Lorenzo, Paraguay.

Editor responsable: Ángel Ricardo Rolón Ruiz Díaz . Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Centro Médico Nacional- Hospital Nacional, Departamento de Docencia e Investigación. Itauguá, Paraguay.

Revisor 1: Pasionaria Ramos . Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas. San Lorenzo, Paraguay.

Revisor 2: Diana Paola Dressler Sanabria . Universidad Nacional de Itapúa. Encarnación, Paraguay.

Autor de Correspondencia: Andrés Canese Krivoshein. Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina, Cátedra de Microbiología y Parasitología. Asunción, Paraguay. Correo electrónico: acanesek@gmail.com

Artículo recibido: 06 de febrero de 2025. **Artículo aprobado:** 24 de abril de 2025.

 Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de [Licencia de Atribución Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), que permite uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que se acredite el origen y la fuente originales.

Como citar este artículo: Peña Kieninger J, Alonso Alonso R, Silva Galeano F, Orué Fernández D, Cáceres Rojas R, Guillén Fretes R, et al. Enterotoxinas en *Staphylococcus aureus* aislados de manipuladores de ali-mentos de un mercado público de Asunción, Paraguay. Rev. Nac. (Itauguá). 2025;17:e1700110.

RESUMEN

Introducción: la intoxicación alimentaria estafilocócica (IAE) es la enfermedad, ocasionada por toxinas transmitida por alimentos más frecuente del mundo, pero no es una enfermedad de notificación obligatoria. Por ello la vigilancia de portación de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos, es fundamental para la prevención de brotes.

Objetivo: detectar genes codificantes de enterotoxinas en aislamientos de *S. aureus* colectados de la mucosa nasal de manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción, Paraguay en octubre del 2023.

Metodología: diseño observacional descriptivo, corte transversal, proyecto piloto. Se tomaron muestras de hisopado nasal de 30 manipuladores de alimentos y se cultivaron en agar sangre y manitol salado, las cepas aisladas fueron identificadas por la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF. La detección de los genes de las enterotoxinas A, B, C, D, G, H, I, M, N, O y U fue realizada por PCR.

Resultados: se encontró una elevada prevalencia de portación nasal por *S. aureus* (40 %, 12/30) en manipuladores de alimentos de un mercado público en Asunción, siendo un 50 % (6/12) portador del gen de la enterotoxina M y otros genes en menor proporción: G, I, O, U (17 %, 2/12) y C (8 %, 1/12).

Conclusión: se reporta la portación nasal asintomática de *S. aureus* portador de enterotoxinas por parte de manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción, cuya importancia radica en la gravedad de los cuadros clínicos que podría causar la expresión única de cualquiera de estos factores de virulencia en caso de un brote alimentario.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, enterotoxinas, enfermedad transmitida por alimentos, Paraguay.

ABSTRACT

Introduction: Staphylococcal food poisoning (SFA) is the most common foodborne toxin-borne illness in the world, but it is not a notifiable disease. Therefore, surveillance of *Staphylococcus aureus* carriage in food handlers is essential for outbreak prevention.

Objective: to detect enterotoxin-coding genes in *S. aureus* isolates collected from the nasal mucosa of food handlers from a public market in Asuncion, Paraguay in October 2023.

Methodology: descriptive observational design, cross-sectional, pilot project. Nasal swab samples were taken from 30 food handlers and cultured on blood agar and salted mannitol, the strains were identified by MALDI-TOF mass spectrometry technique. Detection of enterotoxin A, B, C, D, G, H, I, M, N, O and U genes was performed by PCR.

Results: we found a high prevalence of nasal carriage of *S. aureus* (40 %, 12/30) in food handlers of a public market in Asunción, with 50 % (6/12) carrying the enterotoxin M gene and other genes in smaller proportion: G, I, O, U (17 %, 2/12) and C (8 %, 1/12).

Conclusion: we report the asymptomatic nasal carriage of *S. aureus* carrying enterotoxins by food handlers in a public market in Asunción, whose importance lies in the severity of the clinical pictures that could be caused by the single expression of any of these virulence factors in the event of a food outbreak.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, enterotoxins, foodborne disease, Paraguay.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es uno de los agentes de procesos infecciosos piógenos más importantes, pudiendo ocasionar una amplia variedad de patologías, entre las que se incluyen cuadros de gastroenteritis, principalmente por la acción de enterotoxinas secretadas y más raramente por su acción directa⁽¹⁾, los cuales duran usualmente entre 1 a 2 días, sin mayores complicaciones; no obstante, también pueden ocurrir, con menor frecuencia, casos de deshidratación grave y de *shock* mortal⁽²⁾.

S. aureus puede establecerse como un habitante normal de la microbiota de la piel y la mucosa nasal, sin producir ningún tipo de patología. Se calcula que un tercio de la población mundial está colonizada por *S. aureus* en forma permanente, lo que facilita su diseminación en el ambiente hospitalario y su dispersión en locales de expendio de alimentos⁽³⁾.

S. aureus es una bacteria muy resistente a las condiciones ambientales adversas, con características que la hacen persistente en alimentos con contenido alto en sales y azúcares. Posee además una gran cantidad y variedad de proteínas ancladas a su pared celular (CWA, del inglés, *cellwall-anchored*), por el sistema de secreción *sec* y de las sortasas A y B, que le permiten adherirse a las células, a la matriz de los tejidos y a los objetos inanimados. También tiene la capacidad de producir indirectamente patologías por toxinas secretadas, como la toxina del síndrome del shock tóxico (TSST), las enterotoxinas estafilocócicas (SE, por su siglas en inglés, *staphylococcal enterotoxins*), las toxinas exfoliativas y la leucocidina de Pantón Valentine⁽⁴⁾.

La intoxicación alimentaria estafilocócica (IAE) es la enfermedad, ocasionada por toxinas transmitidas por alimentos, más frecuente del mundo. La cantidad de casos de IAE probablemente es mucho mayor a la reportada oficialmente, principalmente en países de menor desarrollo, en los cuales existe una mayor prevalencia de casos, pero que también tienen un sistema de registro deficiente. Las IAE no son de notificación obligatoria en la mayoría de los países, por lo que la vigilancia de portación de *S. aureus* en el personal que manipula los alimentos, es fundamental para poder prevenir los brotes⁽²⁾. La portación nasal asintomática por *S. aureus* complica el control y la prevención de IAE, ya que el contacto usual de las manos con la mucosa nasal, el estornudo y la tos, diseminan fácilmente la bacteria al ambiente y a los alimentos, durante su manipulación y expendio^(5,6). Estudios previos realizados en Paraguay, en manipuladores de alimentos de locales de expendio y en personal de salud revelaron proporciones de portación de alrededor de un tercio de los participantes, de los cuales aproximadamente el 20 % eran portadores permanentes^(3,7), similar a lo encontrado en estudios de la región y en el mundo^(8,9).

Para que ocurra un brote de IAE es necesaria una fuente con estafilococos productores de enterotoxinas, que pueden ser los manipuladores portadores. Las bacterias deben ser transferidas desde la fuente a los alimentos, debiendo permanecer a temperatura ambiente por un tiempo suficiente que permita su multiplicación hasta una concentración de 10^5 a 10^8 UFC/g, para la producción de enterotoxinas en cantidades mínimas para ocasionar cuadros de gastroenteritis^(10,11). Las principales fuentes de los brotes de IAE son los rumiantes productores de leche que tienen mastitis por *S. aureus* y los portadores humanos que manipulan los alimentos⁽¹²⁾.

A diferencia de muchos agentes de gastroenteritis, las SE no originan alteraciones organolépticas perceptibles en los alimentos contaminados, dificultando su detección durante el consumo. A pesar de que las SE pueden detectarse mediante pruebas inmunodiagnósticas directas, la mayoría de los casos son diagnosticados por los cuadros clínicos que presentan los pacientes, después de que hayan ocurrido los brotes. Para complicar aún más, los kits de inmunoensayo comerciales suelen limitarse exclusivamente a los serotipos de SE clásicos, los cuales utilizan generalmente anticuerpos de mamíferos como reactivos para detección de las SE, los cuales se unen por su fracción Fc a la proteína A de *S. aureus*, que es producida por la mayoría de las cepas, pudiendo dar resultados falsos positivos⁽¹³⁾.

Las SE constituyen un grupo heterogéneo de proteínas, con una estructura globular homóloga, de las cuales se han identificado más de 25 serotipos a partir de diferentes brotes de IAE, casos clínicos y cepas aisladas de animales. La mayoría de los mismos han sido bien descritos (SEA-SEE, SEG,

SEH, SEI, SEIJ, SEIK, SEIL, SEIM, SEIN, SEIO, SEIP, SEIQ, SEIR, SEIS, SEIT, SEIU, SEIV, SEIW, SEIX, SEIY y SEIZ). Las cinco primeras SE identificadas se denominan en el orden en que fueron descubiertas (SEA, SEB, SEC, SED y SEE); también se conocen como las enterotoxinas clásicas, ya que son las comúnmente asociadas a brotes de intoxicación (IAE) debido a su capacidad para inducir emesis en humanos. Los demás serotipos, se denominan como toxinas similares a las SE (SEI, del inglés, *staphylococcal enterotoxins-like toxins*) y también suponen una amenaza significativa para los seres humanos, ya que también se han identificado en casos de IAE incluso sin la presencia de SEs clásicas. Sin embargo, tanto las SE clásicas como las SEIs comparten relaciones filogenéticas, estructura, función y homología de secuencia, características que favorecen la producción de nuevas SE mediante procesos de recombinación⁽¹⁴⁾.

Los genes de las SE no clásicas y de las SEI, están ubicados en un grupo de genes de enterotoxinas denominados *egc* (del inglés, *enterotoxin gene cluster*), que se encuentra en la SAPI genómica *vSaβ* formando un operón(10,16-19). Estudios experimentales en conejos han demostrado además que las SE codificadas por los genes *egc*, además de actuar como potentes toxinas gastrointestinales, muchas SE también pueden actuar como superantígenos (SAGs), activando a los linfocitos T sin la necesidad de péptidos, liberando citocinas en forma masiva y desarrollando patologías respiratorias graves o endocarditis⁽¹⁰⁾, por lo que su búsqueda y detección es importante en todo tipo de muestras clínicas y de portación de *S. aureus*^(15,16).

Varios estudios describen los serotipos de SE encontrados en distintas situaciones en Paraguay. Un interesante estudio de un brote de IAE, en el cual se pudo caracterizar el agente etiológico y los serotipos de SE de toda la cadena de transmisión, fue reportado en Paraguay, en el año 2009. Este brote estuvo asociado al consumo de leche ultrapasteurizada, con más de 400 personas afectadas en varias ciudades, 60 de las cuáles requirieron hospitalización y un lactante menor falleció. Las cepas de *S. aureus* aisladas en el evento, de 3 pacientes, de un manipulador y de las muestras de leche, tenían los genes *sec* y *sed* que codifican las SEC y SED. Esta situación puso de manifiesto la necesidad de implementación de metodologías moleculares que permitan la detección rápida e inequívoca de los serotipos de SE en brotes de IAE, así como también la vigilancia continua de portación en manipuladores de alimentos⁽¹⁷⁾. Un estudio, realizado en el año 2010, en Paraguay, en cepas de *S. aureus* aisladas de muestras clínicas provenientes de procesos infecciosos de piel y partes blandas de niños, encontró proporciones relativamente bajas (0 a 2 %) de SEA, SEB, SEC, SED, SEH⁽¹⁸⁾. En el año 2018, un estudio de los genomas completos de 10 cepas de *S. aureus* procedentes de un biobanco de Paraguay, permitió la identificación de los serotipos SEG, SEI, SEM, SEN, SEO, SEU, además de los anteriormente citados en este párrafo⁽¹⁹⁾.

El presente estudio se enfocó en la detección de genes codificantes de enterotoxinas de *S. aureus* aislados en muestras de hisopados nasales de manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción, Paraguay, en octubre del 2023.

METODOLOGÍA

Se llevó a cabo un proyecto piloto con diseño observacional, descriptivo y de corte transversal. Se colectaron muestras de hisopado nasal de manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción, Paraguay, durante el mes de octubre del año 2023. La indagación de los datos y la toma de las muestras fueron realizadas a manipuladores de alimentos que se encontraban trabajando en locales de expendio de alimentos del comedor del mercado público y accedieron a participar de forma voluntaria del estudio.

En cuanto a la colecta de datos, se registraron datos sociodemográficos de los participantes, su nivel educativo, características de higiene de las manos, uso de indumentaria de protección personal y consumo de bebidas y alimentos durante la manipulación, almacenados en una planilla electrónica de *Microsoft Excel*.

Las muestras fueron tomadas de ambas fosas nasales con hisopos de algodón, introduciendo la torunda 1 a 2 cm dentro de cada narina, apoyándola contra el tabique nasal y la base, presionándola suavemente y rotándola por unos 10 segundos. Posteriormente se introdujeron las muestras colectadas en tubos con medios de transporte Stuart. Se cultivaron las muestras en agar sangre de carnero al 5 % y en agar manitol salado. Después de 24 horas de incubación en estufa a 37°C, se revisaron los cultivos de agar sangre, escrutando por la presencia de colonias lisas opacas, cremosas, de color amarillo y con producción de β -hemólisis y en las placas del agar manitol salado, se examinó la presencia de colonias lisas cremosas que producían una coloración amarilla del medio de cultivo que les rodeaba (fermentación del manitol). Se realizaron nuevos aislamientos de las colonias sospechosas de *S. aureus*, en placas de agar sangre y, después de 24 horas de incubación, se les realizó la pruebas para detectar desoxirribonucleasas en agar DNAsa y la prueba de la coagulasa⁽²⁰⁾ y se les practicó una prueba serológica con partículas de látex recubiertas con anticuerpos en contra del factor de agregación (*Clf*, del inglés, *clumping factor*) de la superficie de *S. aureus*⁽²¹⁾. Para confirmar la identificación de las cepas de *S. aureus* aisladas, se las repicó nuevamente en agar sangre de carnero al 5 %, incubándolas a 37°C por 24 horas; después de lo cual se realizó la técnica de espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz con tiempo de vuelo (MALDI-TOF) (VITEK MS PRIME Biomerieux, Francia), para cuya calibración se utilizó la cepa de *Escherichiacoli* ATCC 8739.

Los aislamientos identificados como *S. aureus* fueron sometidos a la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión con discos de oxacilina (1µg), cefoxitina (30µg), penicilina (10µg), gentamicina (10µg), tetracilina (30µg), mupirocina (5µg), trimetoprima-sulfametoxazol (1,25/23,75µg), ciprofloxacina (5µg), rifampicina (5µg), clindamicina (2µg) y eritromicina (15µg), siguiendo las guías del *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI). Se realizó además la prueba de D-Test para clindamicina. Luego de 24 horas de incubación a 35°C se leyeron los halos en milímetros y se realizó la interpretación del antibiograma.

Para la detección molecular de los genes de enterotoxinas, primero se procedió a la extracción del ADN genómico empleando kit comercial (Wizard Genomic, Promega, Madison, EEUU), siguiendo las instrucciones del fabricante para bacterias Gram positivas. La caracterización molecular de los aislamientos en estudio incluyó la detección de genes codificantes de las enterotoxinas SEA, SEB, SEC, SED, SEG, SEH, SEI, SEM, SEN, SEO y SEU (*sea, seb, sec, sed, seg, seh, sei, sem, sen, seo, seu*), empleando oligonucleótidos descritos por Jarraud, *et al*⁽²²⁾, por Wu, *et al*⁽²³⁾ y Manfredi *et al*⁽⁵⁾ y siguiendo las condiciones de reacción indicadas en la **Tabla 1**. Todos los oligonucleótidos utilizados fueron sintetizados por la empresa Macrogen Inc. (Seúl, Corea) y la amplificación fue realizada en termocicladores Veriti (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, EEUU). Los ensayos moleculares mencionados fueron realizados en el tampón proveído (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, California, EEUU), a una concentración final de 0,03U/µL de Taq polimerasa (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, California, EEUU) y 0,4m M desoxirribonucleótidos trifosfato (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, EEUU).

Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 %, utilizando un buffer TAE (0,04M Tris-acetato; 0,001M EDTA) y el intercalante de ADN SYBR® Safe DNA Gel Stain (Thermo Fisher Scientific, EEUU). La electroforesis se realizó con una fuente de poder constante de 100 V (Biorad, EEUU) durante 30 minutos. Luego, los amplicones se visualizaron con un transiluminador UV E3100 MyView (Accuris TM Instruments, EEUU) equipado con un adaptador Smart Doc TM. Se utilizó un marcador de peso molecular de 50 pb a 1 kb (Jena Bioscience, Alemania).

Asuntos éticos: Fueron respetados los criterios éticos de respeto a la voluntad de las personas y confidencialidad. Las muestras fueron manejadas de manera estricta bajo códigos para su identificación y no se divulgaron datos personales de los participantes en forma individual. El protocolo de investigación fue aprobado por los Comités de Ética de la Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción y del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, UNA, código P31/2023 del 01/08/2024.

Tabla 1: Condiciones de reacción para detección molecular de genes codificantes de factores de virulencia en *S. aureus*

Gen	Producto (pb)	PCR	Concentración de Reactivos		Condiciones de Ciclado								
			Oligonucleótidos (μ M)	MgCl ₂ (mM)	Desnaturalización inicial	Desnaturalización	Anillamiento	Extensión	Ciclos D-A-E	Extensión Final			
<i>sea</i>	521	Múltiple	1	3	95 °C	95 °C	54 °C	54 °C	35	72 °C			
<i>seb</i>	667				5 min					30 s	30 s	30 s	2 min
<i>sec</i>	284				5 min					30 s	30 s	30 s	2 min
<i>sed</i>	385	Simple	1	3	95 °C	95 °C	60 °C	60 °C	35	72 °C			
<i>seh</i>	358	Simple	1	3	5 min					30 s	30 s	30 s	2 min
<i>sem</i>	379	Simple	1	3	5 min					30 s	30 s	30 s	10 min
<i>sen</i>	680	Simple	1	3	95 °C	95 °C	60 °C	60 °C	35	72 °C			
<i>seg</i>	642	Simple	1	3	5 min					30 s	30 s	30 s	5 min
<i>sei</i>	576	Simple	1	3	5 min					30 s	30 s	30 s	5 min
<i>seo</i>	180	Simple	1	3	95 °C	95 °C	60 °C	60 °C	35	72 °C			
<i>seu</i>	215	Simple	1	3	5 min					30 s	30 s	30 s	5 min
					5 min					30 s	30 s	30 s	5 min

*Incluyeron dos ciclos diferentes de D-A-E (Desnaturalización-Anillamiento-Extensión), 15 ciclos de desnaturalización (95°C por 30 segundos), anillamiento (68°C por 30 segundos) y extensión (72°C por 30 segundos), seguidos de 20 ciclos de desnaturalización (95°C por 30 segundos), anillamiento (60°C por 30 segundos) y extensión (72°C por 30 segundos)

RESULTADOS

Se logró entrevistar a un total de 30 manipuladores de alimentos de un mercado público de la ciudad de Asunción-Paraguay, entre ellos fueron aislados 12 cepas de *S. aureus* de hisopado nasal, lo cual representa una prevalencia del 40 % (12/30). También se aisló una cepa de *S. warneri*, las cuales se habían desarrollado con características morfológicas similares a *S. aureus* con colonias amarillas en el agar manitol salado y con β -hemólisis en el agar sangre, pero prueba de coagulasa negativa y cuya identificación fue certificada por la técnica de MALDI-TOF.

El 67 % (20/30) de los manipuladores de alimentos entrevistados pertenecían al sexo femenino y el 73 % (22/30) se encontraban en el rango etario entre 18 a 45 años. El 57 % (17/30) de los encuestados refirió poseer instrucción escolar secundaria completa y el 13 % (4/30) inclusive accedió a la instrucción universitaria completa. En la **Tabla 2** se pueden observar los resultados de la encuesta a los manipuladores de alimentos, respecto a algunas costumbres y hábitos higiénicos que favorecen la transmisión de *S. aureus* a los alimentos, así como sobre el uso de indumentaria de protección individual.

Tabla 2: Factores de riesgo y utilización de indumentarias de protección, en manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción-Paraguay, año 2023 (n = 30)

Característica	Frecuencia (N, %)*		
	Portadores de <i>S. aureus</i> (12, 40%)	No Portadores de <i>S. aureus</i> (18, 60%)	Total (30, 100%)
Factores de riesgo relacionados a medidas de higiene			
Uñas largas**	5 (42)	4 (22)	9 (30)
Uñas sucias**	1 (8)	0 (0)	1 (3)
Manos sucias**	1 (8)	2 (11)	3 (10)
Consumo de bebidas (tereré o mate)***	8 (67)	9 (50)	17 (57)
Consumo de alimentos***	6 (50)	4 (22)	10 (33)
Uso de indumentaria de protección individual			
Delantal**	7 (58)	5 (28)	12 (40)
Gorro**	6 (50)	13 (72)	19 (63)
Guantes**	5 (42)	6 (33)	11 (37)
Tapabocas**	4 (33)	5 (28)	9 (30)
Calzado cerrado**	11 (92)	15 (83)	26 (87)

*No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre cada una de las características estudiadas y la portación de *S. aureus*, según Test Exacto de Fisher ($p \geq 0,05$)

**al momento de la entrevista, en ambiente laboral

***en área de manipulación de alimentos

Se encontró que 100 % (12/12) de las cepas de *S. aureus* resultaron sensibles a la meticilina (SASM), de las cuales el 67 % (8/12) resultaron resistentes a la penicilina, por lo tanto resistentes a las penicilinas lábiles a las β -lactamasas. Las cepas aisladas de *S. aureus* fueron 100 % (12/12) sensibles a mupirocina, trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacina y rifampicina. Las resistencias a los demás antimicrobianos analizados para *S. aureus* se pueden verificar en la **Tabla 3**.

Tabla 3: Nivel de resistencia a los antimicrobianos de cepas de *S. aureus* aisladas de manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción-Paraguay (n = 12)

Antimicrobiano	Resistencia (n, %)
Penicilina	8 (67)
Tetraciclina	1 (8)
Gentamicina	1 (8)*
Eritromicina	6 (50)
Clindamicina	6 (50)**

*Una cepa de *S. aureus* no incluida en éste conteo (8 %, 1/12) presentó susceptibilidad intermedia a la gentamicina.

**Todas las cepas de *S. aureus* resistentes a eritromicina, resultaron también resistentes a clindamicina por el mecanismo de inducción, d-test positivo: fenotipo inducible.

La cepa de *S. warneri* aislada, presentó resistencia a la eritromicina y clindamicina, a éste último por inducción (D-test positivo). Fue sensible a todos los demás antimicrobianos estudiados.

El 58 % (7/12) de los aislamientos de *S. aureus* estudiados portó al menos un gen codificante de las siguientes enterotoxinas detectadas: SEC, SEG, SEI, SEM, SEN y SEO. El gen que codifica para la enterotoxina M, fue el más frecuentemente encontrado (50 %, 6/12). Cabe resaltar además que en dos cepas de *S. aureus* (17 %, 2/12) se detectaron de forma simultánea los genes codificantes para las enterotoxinas SEG, SEI, SEM, SEN y SEO. Las frecuencias globales de portación de los genes codificantes de enterotoxinas se encuentran en la **Tabla 4**.

No se detectaron genes codificantes de enterotoxinas en la cepa de *S. warneri* aislada.

Tabla 4: Frecuencia de enterotoxinas en cepas de *S. aureus* aisladas de manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción-Paraguay (n = 12)

Enterotoxina*	Frecuencia (N, %)
SEC	1 (8)
SEG	2 (17)
SEI	2 (17)
SEM	6 (50)
SEN	2 (17)
SEO	2 (17)

*los genes codificantes para las enterotoxinas sea, seb, sed, seh y seu no fueron detectados en los aislamientos en estudio.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se ha encontrado una prevalencia de portación nasal asintomática de *S. aureus* del 40 % en manipuladores de alimentos de un mercado público de Asunción, Paraguay, cifra ligeramente superior a las reportadas en otras regiones del mundo, así como en estudios anteriores en nuestro país, en los que se mencionan una proporción aproximada del 20-33 %, las cuales pueden variar, por factores como el clima, las condiciones de trabajo y las prácticas de higiene^(7,24).

En cuanto al perfil de susceptibilidad de los antimicrobianos, el 67 % (8/12) de los aislamientos de *S. aureus* resultaron resistentes a la penicilina, por lo tanto resistentes a las penicilinas lábiles a las β -lactamasas (codificada por el gen *BlaZ*). Todos resultaron sensibles a meticilina (SASM), siendo el primer trabajo reportado en el país donde los aislamientos colectados de manipuladores de alimentos corresponden en un 100 % a cepas SASM^(7,25). Respecto a este punto, en un estudio multicéntrico donde se reportaron más de 400 genomas del Cono Sur de las Américas, de los cuáles 66 correspondían a *S. aureus* colectados de bacteriemias en Paraguay en el año 2019; se describió como clon dominante entre las SASM al CC398, ampliamente diseminado en la región, principalmente en Brasil y Paraguay y el segundo más prevalente en Argentina. Este clon SASM-CC398 alberga exclusivamente al gen *ermT*, responsable en gran medida de las tasas de resistencia a MLSb: fenotipo iMLSb inducible, fenotipo que observamos en el 50 % de los aislamientos SASM analizados en éste estudio⁽²⁶⁾.

Los aislamientos además fueron todos sensibles a mupirocina, trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacina y rifampicina, con datos similares reportados a otros estudios de SASM^(7,27).

Ante este perfil de susceptibilidad antibiótica, la cefazolina podría ser una opción viable en caso de presentarse infecciones por SASM en los manipuladores de alimentos estudiados. Pero recientemente se reportaron fracasos terapéuticos con cefazolina y un aumento de la mortalidad en cepas SASM portadoras de los tipos A y C de *BlaZ*; por lo que se necesitan más estudios moleculares para comprender el genotipo de *BlaZ* las posibles diferencias específicas en el efecto del inóculo de la cefazolina en cepas SASM aisladas en nuestro país⁽²⁶⁾.

En cuanto a los genes codificantes de enterotoxinas reportados en éste estudio, el más frecuente fue el de la SEM (50 %, 6/12). La SEM ha sido reportada recientemente en Paraguay en cepas de *S. aureus*, provenientes de infecciones invasivas en niños⁽¹⁹⁾. Aunque la SEM no está directamente relacionada con intoxicaciones alimentarias en humanos, ha sido identificada como un factor patogénico importante para inducir una respuesta inflamatoria, en el contexto de la mastitis bovina,

con producción de citoquinas como el TNF- α y la IL-6, además de inducir a la apoptosis y necrosis de las células epiteliales de la glándula mamaria⁽²⁸⁾.

Además se han encontrado genes que codifican las enterotoxinas SEC, SEG, SEI, SEN y SEO que, a diferencia de las enterotoxinas SEA, SEB y SED, no son las de mayor frecuencia en el mundo⁽²⁾.

La enterotoxina SEC, a pesar de ser hallada en una sola cepa (8 %), es de suma importancia, porque fue la identificada como una de las principales responsables (junto con la SED) del principal brote de IAE reportado en nuestro país. Este evento de IAE estuvo asociado al consumo de leche ultrapasteurizada, con más de 400 personas afectadas en varias ciudades, 60 de las cuáles requirieron hospitalización y un lactante menor falleció. Las cepas de *S. aureus* aisladas en dicha ocasión, de 3 casos clínicos, un operario de la línea de producción láctea y de las muestras de leche ultrapasteurizada, eran portadoras de los genes *sec* y *sed* que codifican las SEC y SED. Esta situación puso de manifiesto la necesidad de la implementación de metodologías moleculares que permitan la detección rápida e inequívoca de los serotipos de SE en brotes de IAE, así como también la vigilancia continua de portación de *S. aureus* y la detección oportuna de enterotoxinas en todo tipo de muestras clínicas y más aún estudios de portación en manipuladores de alimentos⁽¹⁷⁾.

Las enterotoxinas estafilocócicas SEG y SEI, junto con las toxinas similares a enterotoxinas estafilocócicas SEM, SEN y SEO, fueron identificadas de forma simultánea en el 17 % (2/12) de los aislamientos de *S. aureus* en estudio. Las mismas forman parte de un grupo de exotoxinas producidas por *S. aureus* que poseen propiedades superantigénicas. Estas toxinas son codificadas por genes que se encuentran en el clúster de genes de enterotoxinas (*egc*), un operón que se considera un reservorio potencial de genes de superantígenos de *S. aureus*⁽²²⁾. La detección de (2/12) cepas de *S. aureus* portadoras de los genes *seg*, *sei*, *sem*, *sen* y *seo*, revela la alta probabilidad que estos grupos se encuentren juntos en este tipo de estructuras genéticas, lo que refleja su gran capacidad de adquirir y mantener múltiples genes de virulencia, brindándole versatilidad, contribuyendo a su diversidad genética y potencial patogénico de la bacteria⁽²⁹⁾.

S. warneri reportada en éste estudio presentaba el fenotipo iMLSb inducible, resistente de forma constitutiva a eritromicina e inducible a clindamicina, sin portación de genes codificantes de enterotoxinas estudiadas. *S. warneri* es una especie de estafilococo coagulasa negativa que forma parte de la microbiota de la piel humana; aunque es menos patogénica que *S. aureus*, algunas cepas pueden portar genes de enterotoxinas, pero no hay reportes que indiquen claramente que esta especie posea algún gen de enterotoxina específico⁽²⁸⁾.

A fin de prevenir la ocurrencia de brotes de IEA por SE de *S. aureus* es fundamental reducir la portación, a través de la descolonización nasal de los manipuladores de alimentos. Es importante

destacar que la totalidad de las cepas de *S. aureus* aisladas en el presente trabajo resultaron sensibles a la mupirocina, el cual es el antimicrobiano de elección, para la descolonización de portadores nasales, incluyendo a cepas resistentes a la meticilina. La combinación de mupirocina nasal con baños de clorhexidina parece ser una de las mejores estrategias para la eliminación de la portación. Sin embargo, debido al aumento de la resistencia a la mupirocina, se están investigando otros agentes como la solución de yodo povidona, la cual ha mostrado ser una alternativa prometedora. La elección de tratamientos alternativos debe contemplarse ante la posibilidad de que exista una alta prevalencia de cepas resistentes a la mupirocina, que no es precisamente el caso de este estudio⁽³⁰⁾.

En cuanto a las limitaciones del presente estudio piloto, podemos mencionar el pequeño tamaño de muestra ($n = 30$), que si bien no permite extrapolar los resultados obtenidos a la población de manipuladores de alimentos en general; no por eso dejan de ser sumamente importantes los hallazgos, teniendo en cuenta los genes de enterotoxinas reportados y la gravedad de cuadros clínicos que podría causar cada una de esas cepas. En este sentido, el grupo de investigación pretende abordar estudios similares con un mayor tamaño muestral, que permita extrapolar los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

En el presente estudio, se destaca el hallazgo de una alta prevalencia de *S. aureus* (40 %) portador de genes codificantes de enterotoxinas (SEC, SEG, SEI, SEM, SEN y SEO), en manipuladores de alimentos de un mercado público en Asunción, Paraguay. En el 50 % (6/12) de las cepas de *S. aureus*, se detectó el gen que codifica a la SEM, demostrado que podría actuar como un superantígeno, ocasionando inflamación y daño celular en humanos y animales. Así también, se identificó un aislamiento SASM portador del gen codificante de la enterotoxina SEC, asociada a un antecedente grave de intoxicación alimentaria en nuestro país.

Conflictos de intereses

No declarado por los autores.

Fuente de financiamiento

No declarado.

Disponibilidad de datos

El manuscrito contiene toda la evidencia que respalda los hallazgos. Para obtener más información, previa solicitud razonable, el autor correspondiente puede proporcionar detalles más completos y un conjunto de datos.

Correo electrónico: acanese@gmail.com

Nota del editor jefe

Todas las afirmaciones expresadas, en este manuscrito, son exclusivamente las de los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, ni las del editor, los editores responsables y los revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo, o afirmación que pueda hacer su fabricante, no está garantizado ni respaldado por el editor.

Declaración de contribución de autores:

Peña Kieninger J: Curación de contenidos y datos, investigación, metodología, redacción borrador original, redacción, revisión y edición.

Alonso Alonso R, Silva Galeano F, Orué Fernández D: Investigación, metodología, redacción borrador original.

Cáceres Rojas R, Rodríguez Acosta F: Curación de contenidos y datos, análisis de datos, investigación, metodología, supervisión.

Guillén Fretes R: Adquisición de fondos. Redacción, revisión y edición.

Canese Krivoshein A: Conceptualización, curación de contenidos y datos, análisis de datos, adquisición de fondos, supervisión, validación, redacción, revisión y edición.

Los autores aprueban la versión final para publicación y poseen la capacidad de responder las preguntas relacionadas con la precisión o integridad de cualquier parte del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Ikuta KS, Swetschinski LR, Aguilar GR, Sharara F, Mestrovic T, Gray AP, *et al.* Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet* [Internet]. 2022;400(10369):2221–48. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(22\)02185-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(22)02185-7/fulltext).

2. Authority (EFSA) EFS, European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. EFSA J [Internet]. 2023;21(12):e8442. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2023.8442>
3. Almeida A de, Aranda EFM, Chow CT, Ribeiro T, Veronese AGAP, Rivas JJDZ. Portación nasal de *staphylococcus aureus* en trabajadores de la salud del Hospital Distrital de Presidente Franco, 2020. Rev Científica Estud E Investig [Internet]. 2022;11(1):85–97. Disponible en: <https://revista.unibe.edu.py/index.php/rcei/article/view/659>
4. Zhu Z, Hu Z, Li S, Fang R, Ono HK, Hu DL. Molecular characteristics and pathogenicity of *staphylococcus aureus* exotoxins. Int J Mol Sci. 2023;25(1):395.
5. Manfredi EA, Leotta GA, Rivas M. PCR múltiple para la detección de los genes sea, seb, sec, sed y see de *Staphylococcus aureus*: Caracterización de aislamientos de origen alimentario. Rev Argent Microbiol [Internet]. 2010;42(3):212–5. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-75412010000300013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Ghoreyshizadeh E, Manouchehrifar M, Ramazanzadeh R, PeeriDoghaheh H, Amani M, Arzanlou M. Occurrence and characteristics of toxigenic *Staphylococcus aureus* in retail foods in Iran. Food borne Pathog Dis. 2024;21(5):331–8.
7. Salina M, Scholz L, Servián N, Romero M, Samudio T, Ruiz V, *et al.* Portación de *Staphylococcus Aureus* en manipuladores de alimentos de servicios gastronómicos de Asunción, Paraguay (2017). Rev Salud Publica Parag [Internet]. 2018;8(2):28–33. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2307-33492018000200028&lng=en&nrm=iso&tlng=es
8. Alarcón-Lavín MP, Oyarzo C, Escudero C, Cerda-Leal F, Valenzuela FJ, Alarcón-Lavín MP, *et al.* Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico tipo A, en frotis nasofaríngeos en manipuladores de alimentos. Rev Médica Chile [Internet]. 2017;145(12):1559–64. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-98872017001201559&lng=es&nrm=iso&tlng=es
9. Toribio Jiménez J, Ojendiz Mata YC, Orbe Díaz D, López-Damián LJ, Pérez Salgado J, Forero Forero AV, *et al.* Portadores asintomáticos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (MRSA) en pescadores y horticultores de Guerrero, México. J Negat No Posit Results JONNPR [Internet]. 2020;5(12):1482–9. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7802793>

10. Fisher EL, Otto M, Cheung GYC. Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. *Front Microbiol.* 2018;9:436.
11. Abril A, Villa T, Barros-Velázquez J, Cañas B, Sánchez-Pérez A, Calo-Mata P, *et al.* *Staphylococcus aureus* exotoxins and their detection in the dairy industry and mastitis. *Toxins* [Internet]. 2020;12(9):537. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7551672/>
12. Hennekinne JA, Ostyn A, Guillier F, Herbin S, Prufer AL, Dragacci S. How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized? *Toxins* [Internet]. 2010;2(8):2106–16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3153283/>
13. Nagaraj S, Ramlal S, Kingston J, Batra HV. Development of IgY based sandwich ELISA for the detection of staphylococcal enterotoxin G (SEG), an *egc* toxin. *Int J Food Microbiol.* 2016;237:136–41.
14. Cieza MYR, Bonsaglia ECR, Rall VLM, dos Santos MV, Silva NCC. Staphylococcal Enterotoxins: description and Importance in Food. *Pathogens* [Internet]. 2024;13(8):676. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11357529/>
15. Fries BC, Varshney AK. Bacterial Toxins—Staphylococcal Enterotoxin B. *Microbiol Spectr* [Internet]. doi:10.1128/microbiolspec.AID-0002–2012.
16. Grispoldi L, Karama M, Armani A, Hadjicharalambous C, Cenci-Goga BT. *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food of animal origin and staphylococcal food poisoning risk assessment from farm to table. *Ital J Anim Sci* [Internet]. 2021;20(1):677–90. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1871428>
17. Weiler N, Leotta GA, Zárata MN, Manfredi E, Álvarez ME, Rivas M. Brote de intoxicación alimentaria asociado al consumo de leche ultrapasteurizada en la República del Paraguay. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2011;43(1):33–6. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-75412011000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
18. Rodríguez-Acosta F, Carpinelli L, Basualdo W, Castro H, Quiñonez B, Argüello R, *et al.* Frecuencia de genes que codifican factores de virulencia en *Staphylococcus aureus* aislados de niños que concurren al Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Ñú, durante el año 2010. *Mem Inst Investig en Cienc Salud* [Internet]. 2015;13(1). Disponible en: <https://revistascientificas.una.py/index.php/RIIC/article/view/1796>

19. Guillén R, Salinas C, Mendoza-Álvarez A, Rubio Rodríguez LA, Díaz-de Usera A, Lorenzo-Salazar JM, *et al.* Genomic epidemiology of the primary methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones causing invasive infections in Paraguayan children. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2024;12(4):e03012-23. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/spectrum.03012-23>
20. Koneman EW. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 1784 p.
21. Herman-Bausier P, Labate C, Towell AM, Derclaye S, Geoghegan JA, Dufrêne YF. *Staphylococcus aureus* clumping factor A is a force-sensitive molecular switch that activates bacterial adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(21):5564–9.
22. Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougel C, *et al.* Egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2001;166(1):669–77.
23. Wu D, Li X, Yang Y, Zheng Y, Wang C, Deng L, *et al.* Superantigen gene profiles and presence of exfoliative toxin genes in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. *J Med Microbiol*. 2011;60(Pt 1):35–45.
24. Fooladvand S, Sarmadian H, Habibi D, van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. High prevalence of methicillin resistant and enterotoxin gene-positive *Staphylococcus aureus* among nasally colonized food handlers in central Iran. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur SocClin Microbiol*. 2019;38(1):87–92.
25. Jeanette AFF Cabral P Leilah Graciela, Walde L. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos del Mercado N° 4 de Asunción, Paraguay. *Rev ANACEM*. 2021;6(1):14. Disponible en: <https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=83175>
26. Di Gregorio S, Vielma J, Haim MS, Rago L, Campos J, Kekre M, *et al.* Genomic epidemiology of *Staphylococcus aureus* isolated from bloodstream infections in South America during 2019 supports regional surveillance. *Microb Genomics* [Internet]. 2023;9(5):mgen001020. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10272885/>
27. Guillén R, Carpinelli L, Rodríguez F, Castro H, Quíñonez B, Campuzano A, *et al.* *Staphylococcus aureus* adquiridos en la comunidad: caracterización clínica, fenotípica y genotípica de aislados en niños paraguayos. *Rev Chil Infectol* [Internet]. 2016;33(6):609–18. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0716-10182016000600002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

28. Zhao Y, Tang J, Yang D, Tang C, Chen J. Corrigendum to “Staphylococcal enterotoxin M induced inflammation and impairment of bovine mammary epithelial cells” (J. Dairy Sci. 103:8350–8359). J Dairy Sci [Internet]. 2022;105(8):7140. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203022200385X>
29. Zhang Y, Wang Y, Cai R, Shi L, Li C, Yan H. Prevalence of Enterotoxin Genes in *Staphylococcus aureus* Isolates from Pork Production. Food borne Pathog Dis [Internet]. 2018;15(7):437–43. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2017.2408>
30. Labrecque S, Shah S, Fergus D, Parry MF. Mupirocin susceptibility of staphylococci 2022: is it time for a change in MRSA decolonization protocols? Am J Infect Control [Internet]. 2023;51(7):725–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655322006575>