

ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

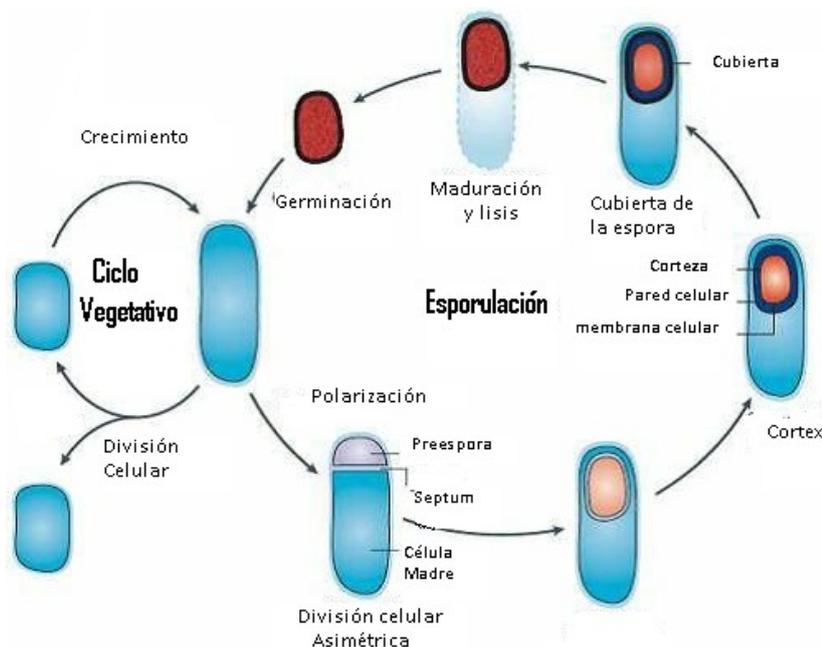
FICHA TÉCNICA N°5 TOXIINFECCIÓN POR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS



Clostridium perfringens es uno de los patógenos bacterianos más ampliamente distribuidos en el ambiente gracias a su capacidad de formar esporas, y se encuentra comúnmente formando parte de la microflora del intestino de humanos y animales. Esta bacteria puede producir una toxiinfección alimentaria cuando se ingiere un gran número de células de esta bacteria (por encima de 10^8), debido a la liberación de endotoxinas en el intestino. En personas sanas produce una enfermedad leve y de corta duración, causando principalmente diarrea y dolores abdominales. La **toxiinfección por *C. perfringens*** es reconocida como una de las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) más comunes, responsable de aproximadamente el 20% de los casos anuales de intoxicación por alimentos.

AGENTE ETIOLÓGICO: *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

Clostridium perfringens es un bacilo Gram-positivo anaeróbico, relativamente aerotolerante. Cuando la bacteria es expuesta a condiciones adversas, puede formar esporas que persisten en el suelo, agua, sedimentos de áreas sujetas a contaminación fecal de origen animal y/o humano. La esporulación se inicia cuando las bacterias sufren condiciones de stress, lo cual amenaza la supervivencia de las formas vegetativas. Este proceso ocurre también dentro del tracto digestivo de animales y humanos. Se puede inducir la esporulación *in vitro* a una temperatura óptima de 32-40°C.



Ciclo de Esporulación

Fuente: Errington, 2003

La alta velocidad de división celular de *C. perfringens* (tiempo generacional ≤ 10 minutos) le permite alcanzar altas concentraciones en poco tiempo, con una temperatura de crecimiento óptima entre 43-45°C. Mientras que las células vegetativas mueren a 60°C, las esporas de cepas termoresistentes pueden soportar temperaturas de cocción, sobreviviendo a 100°C

durante una hora. Las esporas de cepas termolábiles resisten a 100°C durante 10 minutos aproximadamente.

Clostridium perfringens es muy sensible al frío. El enfriamiento de 37°C a 4°C destruye el 96% de los gérmenes. Las formas vegetativas por congelado a -18°C durante 180 días sobreviven solo el 4% y las esporas el 11%. Esta característica es muy importante tenerla en cuenta a la hora del procesamiento y almacenamiento de las muestras de alimentos en el laboratorio cuando se investiga un brote de ETA.

En ciertas ocasiones, puede actuar como patógeno oportunista y causar enfermedades de importancia en la industria ganadera, como la *enterotoxemia del ovino* y del *caprino* y la *disisentería del cordero*, entre otras. En humanos, está asociado a enfermedades como la *toxiinfección por alimentos* y la *enteritis necrótica o pig-bel*.

La **virulencia** de *C. perfringens* se atribuye a su habilidad de producir un arsenal de toxinas potentes. Estas toxinas le permiten obtener los 13 aminoácidos esenciales que es incapaz de producir. Cuatro de estas toxinas (alfa, beta, épsilon e iota) se usan para clasificar cepas de *C. perfringens* en cinco tipos A, B, C D, y E (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de *C. perfringens* basada en la producción de toxinas

Toxinotipo	Toxinas			
	Alfa	Beta	Epsilon	Iota
A	+	-	-	-
B	+	+	+	-
C	+	+		-
D	+	-	+	-
E	+	-	-	+

Fuente: W. E. Morris, M. E. Fernandez-Miyakawat, 2009

Sin embargo, la virulencia de *C. perfringens* no sólo se debe a estas cinco toxinas, sino también a un repertorio compuesto, de al menos otras 15 toxinas proteicas que no se utilizan para su clasificación.

ENTEROTOXINA DE *C. PERFRINGENS*

La denominada Enterotoxina de *Clostridium perfringens* (CPE) es producida por algunas cepas de tipo A y es de importancia por su implicancia en toxiinfecciones alimentarias. Aunque la CPE no es utilizada en la clasificación de cepas principales de *C. perfringens*, la toxiinfección resultante de esta toxina es la tercera causa más común de intoxicación alimentaria en países industrializados.

Cuando se ingiere un gran número de células vegetativas y sobreviven las condiciones ácidas del estómago esporulan en el intestino. Si la cepa corresponde a una productora de CPE, la toxina se sintetiza en la célula vegetativa y luego es liberada durante el proceso de lisis junto

con la espora en el intestino, causando daño morfológico y fisiológico en las paredes intestinales. Los poros generados en el epitelio intestinal ocasionan la pérdida de fluidos y electrolitos, lo cual origina la diarrea observada en humanos y otras especies animales.

Aunque se ha detectado esporulación de *C. perfringens* en carnes, la enterotoxina preformada no es causa de intoxicación alimentaria. Hay hasta el momento un solo brote detectado de ETA por *C. perfringens*, atribuido a la toxina preformada en el alimento. Fue reportado en el año 2000, al C.D.C. en pavo en fetas. La enterotoxina es termolábil, destruyéndose a 60°C en 4 minutos.

ENTERITIS NECROTIZANTE O ENFERMEDAD DE PIG-BEL

La enteritis necrótica causada por *C. perfringens* es poco frecuente. Esta enfermedad se inicia como resultado de la ingesta de un gran número de bacterias *C. perfringens* de tipo C productora de β -toxina presente en alimentos contaminados. La enteritis necrótica se caracteriza por la infección y la necrosis parcheada de los intestinos así como también por la septicemia. La enfermedad es asociada con una alto índice de mortalidad, especialmente cuando el paciente no es tratado a tiempo con antibioterapia o se escinde la porción narcotizada por cirugía.

Se ha reportado esta enfermedad en zonas con prevalencia de malnutrición proteica. La β -toxina, que normalmente es sometida a proteólisis por la enzima tripsina es considerada responsable de la enfermedad necrótica. La presencia de un inhibidor termoestable de la enzima tripsina, presente por ejemplo en las batatas, impide la destrucción de la β -toxina en el intestino. Esta presentación es frecuente cuando estos tubérculos son un elemento predominante en la dieta, como ocurre en Papúa Nueva Guinea. También se han descrito casos esporádicos en países desarrollados, afectando niños y adultos diabéticos.

ALIMENTOS COMÚNMENTE ASOCIADOS

Clostridium perfringens puede ser detectado en una amplia gama de alimentos crudos, como resultado de contaminación de la tierra o de materia fecal. Puede encontrarse en carnes crudas, pescados, sopas y salsas deshidratadas, leche, gelatina, pasta, harina, soja, vegetales crudos y especias. Las toxiinfecciones causadas por *C. perfringens* se asocian comúnmente a platos cárnicos de res cocinados, aves, alimentos secos o precocidos, y, en menor frecuencia, los vegetales.

En aquellas cepas termorresistentes, el calor de la cocción proporciona un choque térmico necesario para la activación y germinación de las esporas, y a la vez reduce los niveles de oxígeno proporcionando un ambiente óptimo para el crecimiento de las células vegetativas. Luego de la cocción, si no se toman los recaudos necesarios durante el enfriamiento y almacenamiento, *C. perfringens* puede crecer en las grietas y cavidades internas de los alimentos, favorecido por las condiciones de anaerobiosis.

Al crecer rápidamente en ausencia de oxígeno, este microorganismo se encuentra habitualmente en el fondo de estofados o en el centro de grandes piezas de alimentos, especialmente carnes y aves.

Los lugares con mayor riesgo de aparición de un brote por *C. perfringens* son los establecimientos elaboradores de alimentos a gran escala, donde se preparan grandes cantidades de comidas con mucha anticipación a su consumo. Los mismos incluyen establecimientos de comida preparada como servicios de catering, hospitales, prisiones, comedores escolares y similares.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

La toxiinfección por *C. perfringens* se desarrolla cuando se ingieren alimentos contaminados con gran cantidad de bacterias vegetativas de cepas de *C. perfringens* tipo A productoras de la toxina CPE (dosis infectiva del orden de 10^8 UFC). Esta toxina altera la membrana celular, formando poros en la pared del intestino, lo cual resulta en un aumento de la permeabilidad celular, se producen cambios en las funciones metabólicas celulares, daño y lisis celular en el intestino.

Las personas infectadas con *C. perfringens* desarrollan principalmente diarrea acuosa, náuseas y dolores abdominales entre las 6 a 24 horas (típicamente entre 8 y 12 horas) y generalmente no presentan fiebre ni vómitos. La enfermedad no se contagia de persona a persona. Los síntomas generalmente comienzan repentinamente y duran menos de 24 horas. Por lo general no son casos que requieran consulta médica, por tanto la cantidad de casos y brotes reportados atribuida a este patógeno son subestimados. Los síntomas pueden persistir hasta dos semanas en personas inmunosuprimidas o en niños. Ocasionalmente pueden ocurrir muertes en pacientes de edad avanzada, debido a deshidratación y otras complicaciones.

MEDIDAS PREVENTIVAS

El control de *C. perfringens* se basa casi totalmente en los procedimientos de cocción y de enfriamiento. La mayoría de los brotes son el resultado de un enfriamiento lento de los alimentos luego de su cocción, y un mantenimiento prolongado en las temperaturas peligrosas de crecimiento (entre 10°C y 60°C). Por lo tanto, las medidas preventivas principales para prevenir una toxiinfección por *C. perfringens* son:

- Los alimentos deben ser cocinados completamente a una temperatura interna entre 63°C a 74°C y luego mantenidos en una temperatura mayor a 60°C hasta el servicio/consumo.
- Si el alimento no va a ser consumido inmediatamente, se debe enfriar rápida y adecuadamente siguiendo el Procedimiento de Enfriado Rápido de Alimentos. Debe permanecer el menor tiempo posible en el rango de temperaturas de 60°C a 10°C, y luego ser mantenido a temperaturas inferiores a 5°C.

- El recalentamiento de los alimentos debe realizarse a una temperatura mayor a 74°C en su interior inmediatamente antes de su consumo.

Las Buenas Prácticas Agropecuarias contribuyen a reducir la contaminación de los alimentos con tierra y materia fecal animal, minimizando así la carga bacteriana general en la materia prima. La elaboración con Buenas Prácticas de Manufactura, evitando la contaminación cruzada entre alimentos cocidos y crudos o contaminados, y las Buenas Prácticas de Higiene son esenciales para la prevención de éste y otros microorganismos.

VIGILANCIA ALIMENTARIA DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

Los casos detectados de toxiinfección por *C. perfringens* son notificados como *toxo-infección alimentaria* o *diarrea sin especificar* dentro del grupo denominado “Eventos gastroentéricos” al Sistema Nacional de Vigilancia Sanitaria (SNVS) del Ministerio de Salud de la Nación. En caso de existir un brote o caso clínico en el que se sospeche de esta bacteria, la muestra alimenticia debe ser remitida al laboratorio de alimentos para su análisis microbiológico.

La vigilancia de *C. perfringens* en alimentos listos para el consumo elaborados en base a o con carne como ingrediente es uno de los parámetros propuestos en el *Programa Federal de Vigilancia de Contaminantes Químicos, Biológicos, de Composición Nutricional y Rotulado de Alimentos*. Se sugiere su búsqueda en muestras provenientes de empresas de catering, comedores, supermercados. El límite sugerido en este caso es menos de 100 UFC/g.

Dentro de las técnicas oficiales más utilizadas para el aislamiento e identificación de *C. perfringens* en alimentos se encuentran la norma ISO 7937:2004 y la técnica propuesta por la Food and Drug Administration (FDA) en el Bacteriological Analytical Manual (BAM) cuya última versión corresponde al año 2001.

Las técnicas de identificación de *C. perfringens* se basan en el cultivo en medio selectivo de sulfito-cicloserina (SC), en el que aparece en forma de colonias características con precipitado negro, causado por la reducción de sulfito a sulfuro. Se inoculan placas de Petri con la suspensión inicial y diluciones sucesivas de la muestra en el medio selectivo por la técnica de vertido en placa en doble capa. Las placas se incuban en anaerobiosis a 37°C por 20+/-2h.

Luego se seleccionan colonias para realizar la confirmación bioquímica por medio de una de las dos técnicas lactosa sulfito (LS) o lactosa-gelatina y nitrato-movilidad, según la ISO 7939:2004. La confirmación bioquímica de acuerdo al BAM, se hace en medio hierro-leche y como tests complementarios se utilizan los medios de nitrato-movilidad y lactosa-gelatina, coloración de Gram y esporas, fermentación de salicina y rafinosa.

También pueden usarse galerías comerciales disponibles en el mercado si responden a la norma ISO 7218.

MARCO NORMATIVO

En el Código Alimentario Argentino, para algunos productos asociados a brotes/casos de esta ETA, se han establecido criterios microbiológicos para la bacteria.

Se encuentran especificaciones para *Clostridium perfringens* en los siguientes artículos del C.A.A.:

- viandas a domicilio, art.151
- caldos y sopas deshidratadas, art. 440 y 442
- harinas proteínicas de origen vegetal, art.1407 y 1407 bis

En otros alimentos cárnicos hay especificaciones para anaerobios esporulados:

- art.255 bis y 379 bis

y en otros alimentos para sulfito-reductores:

- salazones cocidas, art. 286 bis
- pastas frescas rellenas con conservadores, art. 721
- baños de repostería, art. 787 bis
- aguas minerales, art. 985

Asimismo, en el seno de la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL), el Grupo Técnico *ad hoc* "Criterios microbiológicos en alimentos" presentó una propuesta de criterios microbiológicos para comidas preparadas listas para el consumo, que implica la modificación de los artículos 151 y el 156 tris, con especificaciones para *C. perfringens* y modificación de los artículos de chacinados (302), fiambre de cerdo (360 bis) y de salazones cocidas (286 bis), incorporación del 286 tris (salazones crudas). En estos últimos se dan criterios para sulfitos-reductores al igual que para jamones en sus variedades, jamón crudo, reserva y pernil de cerdo ya incorporados al C.A.A. (art. 293, 293 bis y 293 tris, respectivamente).

Las propuestas del grupo fueron aprobadas en la reunión de la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) realizada los días 15 y 16 de marzo de 2012 en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y se encuentran siguiendo el trámite administrativo correspondiente para su publicación en el Boletín Oficial como Resolución Conjunta SPReI /SAGyP.

Para más información, véase:

Acta (y sus anexos) de la reunión de CONAL de los días 15 y 16 de marzo de 2012 en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (http://www.conal.gov.ar/actas/Acta_94.pdf):

- Anexo II: establece especificaciones máximas de *Clostridium perfringens* en las preparadas listas para el consumo. Disponible en: http://www.conal.gov.ar/actas/Acta_94_Anexo02.pdf
- Anexo IV: establece especificaciones máximas para Recuento de anaerobios to-reductores (UFC/g) en salazones cocidas. Disponible en: http://www.conal.gov.ar/actas/Acta_94_Anexo04.pdf

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA Y LECTURAS RECOMENDADAS

-Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) [Página principal] Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf

-Centre for Disease Control and Prevention (CDC) [Página principal] Office of the Associate Director for Communication, Division of News and Electronic Media [Actualizado 5 dic 2011; acceso 18 junio 2012] CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States [aprox. 2 tallas] (en inglés). Disponible en: <http://www.cdc.gov/foodborneburden/clostridium-perfringens.html>

-David L Heyman, Editor. El control de las enfermedades transmisibles. Decimonovena edición. Washington: Publicación científica y técnica No 635; 2011.

-Errington, J. Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. Nature Reviews Microbiol 2003, 1:117-126

-Food and Drug Administration (FDA) [Página principal] [Actualizado 14 de junio 2012; acceso 14 junio 2012] BAM: Clostridium perfringens [aprox. 1 pantalla] (En inglés). Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070878.htm>

-Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to Clostridium spp in foodstuffs. The EFSA Journal (2005) 199, 1-65. (En inglés) Diponible en: <http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/ca/dir2949/pdf/199.pdf>

-Organización Panamericana de la Salud (OPS) [Página principal] [acceso 18 junio 2012]. Intoxicación alimentaria debida a C. Perfringens (cie-10⁹05.2). Diponible en: <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroETAs/modulo2/modulo2h.html>

-Roberts, T. A., Baird-Parker, A. C., Tompkin, R. B. Microorganismos de los alimentos. Características de los patógenos microbianos. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.; 1996

-W. E. Morris, M. E. Fernandez-Miyakawat. Toxinas de *Clostridium perfringens*. Revista Argentina de Microbiología 2009, 41: 251-260h