

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Investigación de un caso de infección neonatal por *Enterobacter sakazakii* asociada a un preparado en polvo para lactantes

Mercedes de Simón^{a,*}, Sara Sabaté^a, Ana Cristina Osanz^b, Rosa Bartolomé^c y Maria Dolores Ferrer^a

^a Servicio de Microbiología, Laboratori de L'Agència de Salut Pública de Barcelona, Barcelona, España

^b Servicio Regional, L'Agència de Protecció de la Salut al Camp de Tarragona, Tarragona, España

^c Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de la Vall d'Hebrón, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 4 de diciembre de 2009

Aceptado el 8 de abril de 2010

Palabras clave:

Meningitis neonatal

Enterobacter sakazakii

Preparados en polvo para lactantes

RESUMEN

Introducción: Se describe la investigación de un caso de meningitis por *Enterobacter sakazakii* en una unidad de prematuros con el objetivo de identificar la fuente de infección y los posibles factores contribuyentes.

Material y métodos: Se realizó el análisis de los posibles riesgos asociados a la infección. En las muestras del preparado en polvo de los lotes que se utilizaron en la alimentación de los neonatos se investigó la presencia de *E. sakazakii* y su grado de contaminación inicial. Las cepas de *E. sakazakii* aisladas en sangre y heces del neonato, y en las muestras del preparado en polvo se caracterizaron mediante el biotipo, antibiograma y pulsotipo.

Resultados: La alimentación del neonato infectado se había realizado exclusivamente con un preparado en polvo para lactantes prematuros. *E. sakazakii* se detectó en una muestra abierta y otras 2 no abiertas de un único lote de los analizados. Las cepas de *E. sakazakii* aisladas en el preparado en polvo y las aisladas en el neonato infectado presentaron el mismo biotipo, patrón de resistencias antimicrobianas y patrón de PFGE. Como factores contribuyentes se identificaron la inadecuada reconstitución del preparado y el excesivo tiempo de conservación antes de su administración.

Conclusiones: La infección por *E. sakazakii* en el neonato de la unidad de prematuros se originó por el consumo de un preparado en polvo para lactantes prematuros contaminado durante su fabricación, como resultado de una inadecuada preparación y conservación del producto una vez reconstituido.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Investigation of a neonatal case of *Enterobacter sakazakii* infection associated with the use of powdered infant formula

ABSTRACT

Keywords:

Neonatal meningitis

Enterobacter sakazakii

Powdered infant formula

Introduction: The aim of this study was to describe the investigation of a case of meningitis in a neonatal intensive care unit in order to identify the source of infection and the associated risk factors.

Material and methods: An analysis was carried out on the possible risk factors associated with the infection. *E. sakazakii* was detected in the batch of the powdered infant formula used during the feeding of the neonate and the initial level of contamination of the microorganism was estimated. The strains of *E. sakazakii* previously isolated in blood and faeces of the infected neonate and those isolated in infant formula were characterised by biotype, pulsotype and antimicrobial susceptibility.

Results: *E. sakazakii* was detected in one opened and two unopened cases of a single batch of powdered infant formula. The *E. sakazakii* strains isolated in the samples of the product and those isolated in the infected neonate showed the same biochemical, antibiotic susceptibility and PFGE pattern.

Conclusions: The case of meningitis in the neonatal intensive care unit occurred as a result of the use of a powdered infant formula contaminated with *E. sakazakii* at manufacturing level, and an inadequate preparation and storing of the reconstituted product were identified as risk factors.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Enterobacter sakazakii (actualmente *Cronobacter sakazakii*) es un patógeno oportunista emergente que puede causar meningitis, encefalitis, septicemia y enterocolitis necrosante en lactantes.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: dsimon@aspb.cat (M. de Simón).

La infección por este microorganismo es poco frecuente, pero su tasa de mortalidad es elevada (40-80%) y puede comportar graves secuelas neurológicas como hidrocefalia, tetraplejía y retraso del desarrollo neuronal en los individuos supervivientes. Los lactantes inmunodeprimidos y los recién nacidos (< 28 días), en particular los prematuros de bajo peso (< 2.500 g), son la población infantil que presenta un mayor riesgo de infección¹.

A pesar de que actualmente no se conoce el reservorio de *E. sakazakii*, los preparados en polvo para lactantes se han establecido como la causa de infección más frecuente en Estados Unidos y Europa con un patrón epidemiológico caracterizado por casos esporádicos y pequeños brotes en el ámbito familiar y hospitalario, especialmente en las unidades de prematuros². La contaminación de estos preparados por *E. sakazakii* puede tener lugar durante el proceso de fabricación en el momento de la adición de micronutrientes posterior a la pasteurización³.

El objetivo de este trabajo es describir la investigación de un caso de infección neonatal por *E. sakazakii* en la unidad de prematuros de un centro hospitalario realizada con el fin de localizar la fuente de infección y los posibles factores contribuyentes.

Material y métodos

El día 5 de junio de 2007, un centro hospitalario en Cataluña notificó al Servicio de Epidemiología del Servei Territorial de Tarragona del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya un caso de infección neonatal por *E. sakazakii*. Se trataba de un prematuro de 33 semanas de 1.600 g de peso. Su estado general al nacer era bueno. En el quinto día presentó un cuadro de meningoencefalitis que dio lugar a absceso cerebral, formación de quistes e hidrocefalia, con secuelas posteriores de retraso neurológico grave. Se aisló *E. sakazakii* en líquido cefalorraquídeo, sangre y heces.

Ante esta notificación, el día 6 de junio miembros de la sección de Higiene Alimentaria del Servei Territorial de Tarragona realizaron una inspección en la unidad de prematuros del centro hospitalario implicado y analizaron los posibles factores de riesgo asociados al caso. Se revisaron los procedimientos de reconstitución del preparado y esterilización de los biberones, los registros de temperatura de las neveras y se inspeccionaron las instalaciones relacionadas. Asimismo, se recogió información sobre el tiempo y temperatura de conservación de los preparados una vez reconstituidos y antes de su uso. Se procedió a la inmovilización cautelosa de la totalidad del preparado infantil presente en aquel momento en el centro hospitalario y se recomendó la utilización de preparados líquidos estériles para la alimentación de los prematuros. Se recogieron 30 latas del preparado (según el plan de muestreo especificado en el reglamento (CE) n.º 2073/2005 para preparados en polvo para lactantes) de los 2 lotes disponibles en el momento de la inspección. De uno de los lotes sólo quedaban 3 latas del preparado, 2 sin abrir y 1 abierta. En todas las muestras se llevó a cabo la investigación de *E. sakazakii* mediante el método de la norma ISO/TS 22964:2006 y su nivel de contaminación inicial mediante la técnica de recuento del número más probable⁴.

Para la caracterización fenotípica de las cepas aisladas en el preparado, y de las cepas aisladas en sangre y heces del neonato infectado se realizó el perfil bioquímico mediante la galería de identificación API 20E (BioMérieux, Paris) y el patrón de resistencia a antibióticos mediante la técnica de disco difusión de acuerdo con los criterios de la guía CLSI⁵. Los antibióticos testados fueron: ampicilina, piperazilina-tazobactam, cefalotina, gentamicina, cefuroxíma, cefotazíma, cefoxitina, amikacina, ceftazidíma, amoxicilina-ácido clavulánico, aztreonam, ciprofloxacino, colistina, imipenem, cefepime, cotrimoxazol, ácido nalidíxico, nitrofurantoina, ertapenem,

meropenem, kanamicina, imipenem y fosfomicina. La tipificación molecular se realizó por electroforesis en campo pulsado de los fragmentos de restricción del ADN cromosómico (PFGE) mediante el sistema CHEF-DR II de BioRad. Se utilizó la enzima de restricción XbaI (Roche Diagnostics) y los fragmentos se separaron en geles de agarosa al 1,2%. La electroforesis se llevó a cabo en tampón Tris borato EDTA pH 8,4 durante 20 h a 14 °C en un campo eléctrico de 6 v/cm, con un pulso inicial y final de 5 y 12 s, respectivamente. Como marcador de peso molecular se utilizó el fago lambda digerido por el enzima de restricción Hind III. Los patrones de macrorrestricción se interpretaron según los criterios de tipado epidemiológico establecidos por Tenover et al (1995)⁶.

Resultados

La inspección realizada en la unidad de prematuros del centro hospitalario puso de manifiesto que la alimentación del prematuro infectado se había realizado desde su nacimiento y durante 5 días exclusivamente con un preparado en polvo para lactantes administrado con biberón. Durante el mismo período, en la unidad de prematuros no se había declarado ningún otro caso de infección por *E. sakazakii*.

Del análisis de riesgos se desprende que los principales factores contribuyentes de la infección habían sido la inadecuada temperatura utilizada durante la reconstitución del preparado en polvo y el prolongado período de conservación de los biberones a temperaturas superiores a la mínima de crecimiento (5,5 °C) antes de su utilización⁷. Asimismo, se observó la ausencia de trazabilidad en la administración de cada uno de los lotes del preparado.

Respecto a los resultados del análisis microbiológico del preparado en polvo, *E. sakazakii* se detectó en las 3 únicas muestras disponibles de uno de los lotes, una de ellas abierta y otras 2 cerradas. El nivel de contaminación observado fue de 0,9 NMP/10 g en todos los casos. En ninguna de las muestras del segundo lote disponible se detectó la presencia del

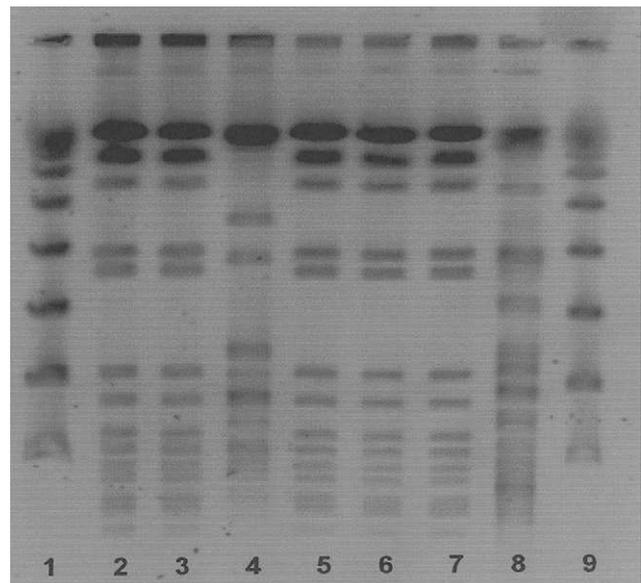


Figura 1. Perfiles de los fragmentos de ADN por PFGE de 5 cepas de *Enterobacter sakazakii* aisladas en el neonato infectado y en el preparado en polvo para neonatos. Líneas 1 y 9, marcador molecular de PFGE. Líneas 2 y 3, cepas de *E. sakazakii* aisladas en sangre y heces del neonato. Línea 4, cepa control de *E. sakazakii*. Línea 5, cepa de *E. sakazakii* aislada en la muestra abierta del preparado infantil del lote implicado. Líneas 6 y 7, cepas de *E. sakazakii* aisladas en las 2 muestras cerradas de preparado infantil del lote implicado. Línea 8, control negativo *Acinetobacter baumannii*.

microorganismo. El producto se había fabricado en Suiza y el lote contaminado se había distribuido a nivel estatal; sin embargo, no hubo notificación de otros casos de infección por *E. sakazakii* en el resto del país. Una vez informadas las autoridades sanitarias competentes, la empresa implicada procedió voluntariamente a la destrucción de la partida del producto afectado.

Las cepas de *E. sakazakii* aisladas en sangre y heces, y las aisladas en el preparado en polvo presentaron un perfil bioquímico idéntico, eran todas resistentes a la cefalotina, ampicilina, cefoxitina y amoxicilina-ácido clavulánico y presentaban el mismo perfil de PFGE (fig. 1).

Discusión

Este artículo presenta el primer caso en España de infección neonatal por *E. sakazakii* confirmado microbiológicamente asociado al consumo de preparados lácticos en polvo para prematuros.

El resultado de la caracterización de las cepas de *E. sakazakii* aisladas en el neonato infectado, en la muestra abierta y en las no abiertas del preparado en polvo, permitió considerar un origen común de las cepas y establecer, por una parte, que el preparado había constituido la fuente y el vehículo de infección y, por otra, que la contaminación era intrínseca al producto, es decir que había tenido lugar durante el proceso de fabricación y no por una contaminación cruzada durante la preparación de los biberones.

Estudios similares sobre casos de infección por *E. sakazakii* en prematuros por consumo de preparados en polvo concluyen que los principales factores de riesgo asociados son la insuficiente temperatura de calentamiento durante la reconstitución del producto y el excesivo período de conservación a temperaturas inadecuadas una vez reconstituido, ya que este tipo de preparados no son estériles y pueden suponer un medio favorable al crecimiento bacteriano^{8,9}.

En el presente estudio, la falta de trazabilidad observada en la administración de cada uno de los lotes del preparado en la nutrición del neonato infectado, no permitió conocer el tiempo de exposición ni el volumen administrado de leche en polvo

correspondiente al lote contaminado, por lo que no se pudo establecer una relación dosis-respuesta de la infección. Otra limitación del estudio es la falta de información respecto a la posible colonización por *E. sakazakii* de otros neonatos asintomáticos de la unidad de prematuros en el mismo período.

La Organización Mundial de la Salud recomienda el desarrollo de protocolos de higiene en la manipulación, conservación y utilización de los preparados en polvo para lactantes, especialmente en prematuros, con el objetivo de reducir el riesgo de infección por *E. sakazakii*, tanto en el ámbito hospitalario como en el doméstico⁷.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Forsythe SJ. *Enterobacter sakazakii* and other bacteria in powdered infant formula. Maternal and Child Nutrition. 2005;1:44-50.
2. Centers for Disease Control and Prevention. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula-Tennessee, 2001. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002;51:298-300.
3. Bar-Oz B, Preminger A, Peleg O, Block C, Arad I. *Enterobacter sakazakii* infection in the newborn. Acta Paediatr. 2001;90:356-8.
4. Wallace E, Garthright PD. Most probable number from serial dilutions. En: Food and Drug Administration. Bacteriological analytical Manual, 8th ed. Gaithersburg: AOAC International; 1998. p. 201-12.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 16th informational supplement. M100-S16. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
6. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH. Interpretal chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. Journal of Clinical Microbiology. 1995;33:2233-9.
7. FAO/WHO. *Enterobacter sakazakii* and *Salmonella* in powdered infant formula: meeting report. Microbiological Risk Assessment. 2006; Serie 10.
8. Drudy D, Mullane NR, Quinn T, Wall PG, Fanning S. *Enterobacter sakazakii*: an emerging pathogen in powdered infant formula. Clin Infect Dis. 2006;42: 996-1002.
9. Amalaradjou MA, Hoagland TA, Venkitanarayanan K. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula by trans-cinnamaldehyde. Int J Food Microbiol. 2009;129:146-9.