



UNIVERSIDAD DE BELGRANO

Las tesinas de Belgrano

Facultad de Ciencias de la Salud
Licenciatura en Nutrición

Enterobacter sakazakii en las fórmulas en polvo
para lactantes

Nº 276

Julia Isabel Pérez

Tutor: Silvia Michanie

Departamento de Investigaciones

Febrero 2010

Tesina aprobada el 21 de junio de 2007

Agradecimientos

A la Dra. Silvia Michanie por su gran dedicación y paciencia. También le agradezco la revisión crítica de la propuesta para el estudio y del manuscrito.

A la Lic. Corina Meier por sus valiosos consejos y haberme dado la posibilidad de trabajar sobre el tema en el Laboratorio Zormex S.A.

A la empresa MEDICA - TEC por la gentileza de haberme proporcionado algunos de los medios necesarios para llevar a cabo las pruebas en el laboratorio.

A todos aquellos que me han aportado material bibliográfico de gran utilidad para el desarrollo del trabajo: Dra. Silvia Michanie, Celia Melamed del GCBA, Diego Romulo de bioMérieux, entre otros.

A mis padres, hermana y esposo por ayudarme y confortarme constantemente.

Y a todos aquellos que con una simple palabra de aliento me dieron fuerzas para lograrlo.

Indice

Abreviaturas	6
Resumen - Palabras claves.....	6
Abstract - Keywords	7
Introducción	7
1- Enterobacter sakazakii.....	8
1.1 Caracterización del microorganismo.....	8
1.2 Parámetros de regulan el desarrollo.....	9
1.3 Relación dosis-respuesta.....	9
1.4 Patogenicidad y virulencia	9
1.5 Individuos vulnerables.....	10
1.6 Enfermedad.....	10
2- Fórmulas en polvo para lactantes	11
2.1 Descripción del producto alimenticio.....	11
2.2 Situaciones en las que se justifica la utilización de las fórmulas	11
2.3 Clasificación de los sucedáneos de la leche materna	12
2.4 Ingredientes que componen las fórmulas en polvo	12
2.5 Fabricación del producto alimenticio.....	14
3- Posibles focos de contaminación con Enterobacter sakazakii en la producción y uso de los preparados en polvo	16
4- Medidas de prevención	18
4.1 En la industria	18
4.2 En las instituciones (hospitales, clínicas o similares).....	20
4.3 En el domicilio y guarderías maternas	21
5- Metodología	24
6- Legislación	27
6.1 Legislación en Argentina	27
6.2 Normativas Internacionales.....	28
7- Casos aislados de brotes reportados en la bibliografía	30
8- Una denuncia que desató la investigación.....	41
9- Investigación Práctica	42
Discusión	49
Referencias	50
Anexo	53

Abreviaturas

ATCC	Colección americana de cultivos tipo
AR	Anti reflujo
aw	Actividad del agua
BAM	Manual Bacteriológico Analítico (FDA)
CAC	Comisión del <i>Codex Alimentarius</i>
CCFH	Comité del <i>Codex</i> sobre Higiene de los Alimentos
CCNFSDU	Comité del <i>Codex</i> sobre Nutrición y Alimentos para Regímenes Especiales
CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
CE	Comisión Europea
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FDA	Administración de Drogas y Alimentos
HACCP	Análisis de riesgos en puntos críticos de control (Sistema de)
HEPA	Filtro de partículas del aire de alta eficacia
INAL	Instituto Nacional de Alimentos
ISO	Organización Internacional de Normalización
JEMRA	Reuniones Conjuntas FAO/OMS sobre Evaluación de Riesgos Microbiológicos
NMP	Número más probable
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCC	Punto crítico de control
PCR	Reacción de la cadena polimerasa
PFGE	Electroforesis en gel de campo pulsado
ufc	Unidad formadora de colonias
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
USFDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
WHA	Asamblea Mundial de la Salud
WHO	Organización Mundial de la Salud (OMS)

Resumen

El microorganismo considerado en la actualidad un patógeno emergente responsable de enfermedades severas en lactantes de riesgo, en el año 2005, fue aislado por primera vez en nuestro país de una fórmula en polvo para lactantes disponible en el comercio. Esto llevó a un control severo por parte de los Organismos Oficiales y el retiro de varios productos de distintas marcas del mercado local.

En este trabajo de revisión se trató de describir: los conocimientos actuales acerca del microorganismo, el alimento, fuente de contaminación y vehículo de la bacteria, las posibles vías por las que se podrían contaminar las fórmulas en polvo y llegar al lactante, las medidas preventivas que se deberían tomar para evitarlo, la metodología que se aplica para el aislamiento y tipificación de éste patógeno, las normativas vigentes a nivel mundial y nacional, la cronología de brotes a nivel mundial, y finalmente la sumatoria de sucesos que pasaron en nuestro país a partir del año 2005.

Por último, se realizó una serie de ensayos en el laboratorio con el fin de corroborar algunas de las características del microorganismo en cuestión.

PALABRAS CLAVES: *Enterobacter sakazakii*, alimentación lactante, fórmula infantil en polvo.

Abstract

The microorganism considered nowadays as the emerging pathogen responsible for hard diseases in risk neonates, was first isolated in Argentina from a powdered formula freely available in common shops in 2005. This caused a severe control from the government organisms and the removal of several products from different trademarks from the local market.

In this work it has been tried to describe the following: the microorganism actual knowledgements; the food as a source of contamination and bacteria vehicle; possible ways in which powdered formulas are contaminated and how they reach the neonate; preventive actions to avoid contamination; isolation and typesetting methods for this pathogen; national and international in force laws; chronological world history of outbreaks; and finally, the group of facts that it happened in our country since 2005.

As a final, there have been done laboratory tests to corroborate some of the characteristics of this microorganism.

KEYWORDS: Enterobacter sakazakii, infant feeding, powdered infant formula

Introducción

Enterobacter sakazakii. Poco es lo que se conoce acerca de su ecología, taxonomía, virulencia y otras características. Pero se sabe que causa enfermedades severas, especialmente en bebés prematuros, recién nacidos y lactantes vulnerables. Se han informado casos de infecciones por este microorganismo derivadas de formulas en polvo para lactantes contaminadas.

Si bien, *Enterobacter sakazakii* ha sido detectada en diferentes tipos de alimentos, sólo las formulas infantiles en polvo se han visto asociadas a los brotes de esta enfermedad.

La contaminación del producto puede ser que ocurra durante el proceso de fabricación -ya sea por las materias primas o el entorno- o bien puede darse por una incorrecta manipulación del producto terminado.

El propósito de este trabajo es presentar una revisión de la bibliografía actual junto con una recopilación cronológica de los sucesos acontecidos en Argentina luego de encontrar el microorganismo en una fórmula en polvo para lactantes.

Por último, el propósito personal de poder familiarizarme con *Enterobacter sakazakii* en el laboratorio, su aislamiento y caracterización bioquímica.

1 - *Enterobacter sakazakii*

1.1 Caracterización del microorganismo



Enterobacter sakazakii, bacilo Gram-negativo, móvil por flagelos peritricos¹, anaerobio facultativo, que no forma esporas. Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, género *Enterobacter* (con anterioridad denominando *Aerobacter*). Por definición, todos los miembros de la familia fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos pero no licuan el alginato y son oxidasa negativos.⁴

Antiguamente se definía como *Enterobacter cloacal* de “pigmento amarillo”. En 1980 se designa *Enterobacter sakazakii* como una especie diferente sobre la base de las disimilitudes con *Enterobacter cloacae* en su ADN, producción del pigmento amarillo y reacciones bioquímicas por Farmer, Asbury, Kickman y Brenner. La denominación sakazakii es en honor al bacteriólogo japonés Riichi Sakazakii.^{5, 18, 36}

El género *Enterobacter* contiene doce especies, ocho de ellas se han asociado con enfermedad humana. El siguiente cuadro muestra las características empleadas para diferenciar las especies de aislamiento más comunes del género.

Características que permiten la diferenciación entre especies del mismo género ^{4, 5, 21}

Pruebas	<i>Enterobacter</i>				
	<i>sakazakii</i>	<i>cloacae</i>	<i>aerogenes</i>	<i>agglomerans</i>	<i>gergoviae</i>
Lisina descarboxilasa	-	-	+	-	+/(+)
Arginina dihidrolasa	+	+	-	-	-
Ornitina descarboxilasa	+	+	+	-	+
Ureasa	-	+ -	-	+ -	+
Fermentación Adonitol	-	D	+	-	-
Fermentación Sorbitol	-	+	+	d	-
Fermentación Sacarosa	+	+	+	d	+
Fermentación Raffinose	+	[+]	+	d	+
Ácido de α-Methylglucoside	+	+	D	+	-
Ácido de Mucate	D	-	D	+	-
KCN	+	+	+	d	-
Gelatinasa	[+]	(+)	D	[+]	-
B-Xylosidase	+	+	+	d	-
Citrato (Simmons')	+	+	+	[+]	+
Indole	D	-	-	d	-
Pigmento amarillo	+	-	-	d	-

+: todas las cepas positivas al cabo de 24-48hs.

-: todas las cepas son negativas al cabo de 7 días

[+]: Cepas mayoritariamente positivas (más del 89%) +/(+): algunas cepas son positivas entre 24-48hs (3 o 7 días)

(+): demoran en ser positivas (entre 3 a 7 días)

D: + -: diferencias entre cepas (entre 11 y 80% positivas)

Cabe destacar que *Enterobacter sakazakii* puede diferenciarse de los otros integrantes del género y de los restantes bacilos entéricos por el pigmento amarillo que produce.⁴

1. Bacterias que tienen flagelos por toda la superficie.

El subagrupamiento antigénico de los *Enterobacter* no está aún desarrollado.⁴

La colección de cepas de *Enterobacter sakazakii* de procedencia clínica, alimentos y medioambiente han sido caracterizadas utilizando métodos moleculares; esto permite afirmar que hay considerables diferencias entre las cepas.²⁰

Enterobacter sakazakii es considerado un organismo categoría A (microorganismos con clara evidencia de causalidad); esta categorización fue desarrollada en la reunión de expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre *Enterobacter sakazakii* y otros microorganismos en fórmula infantil en Febrero de 2004.

Clasificación de los microorganismos o de las toxinas microbianas de preocupación en fórmulas infantiles en polvo; basada en la evidencia de asociación entre su presencia en fórmula infantil en polvo y la enfermedad en infantes.²⁰

Categoría	Organismos incluidos
A (clara evidencia de causalidad)	<i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>Salmonella entérica</i>
B (posible causalidad, pero aún no demostrada)	<i>Pantoea agglomerans</i> y <i>Escherichia vulneris</i> , <i>Hafnia Alves</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Citrobacter kosari</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia spp.</i> <i>Acinetobacter spp.</i>
C (menor posible causalidad, o no demostrada)	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium difficile</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y coagulasa-negativa <i>staphylococci</i>

1.2 Parámetros que regulan el desarrollo

Existen opiniones encontradas acerca de la termotolerancia de *Enterobacter sakazakii*. Algunos científicos sostienen que *Enterobacter sakazakii* es más termotolerante que muchos otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* esto contribuye a que sobreviva a los tratamientos con calor. Otros afirman que *Enterobacter sakazakii* no es especialmente tolerante al calor; pero tiene la particularidad de adaptarse y sobrevivir en entornos secos.

Se ha estudiado la temperatura de crecimiento de 6 cepas de *Enterobacter sakazakii* en fórmulas infantiles en polvo, dando como resultado un rango entre 6° y 45°C. La temperatura óptima de desarrollo entre 37° y 43°C.²⁰

Se cree que la resistencia térmica varía entre cepas. Parece haber dos tipos distintos de fenotipos de *Enterobacter sakazakii* y la resistencia al calor varía hasta 20 veces.¹⁹

La osmotolerancia del microorganismo puede ser más importante que la resistencia térmica. La capacidad de osmotolerancia puede aumentar el riesgo de que el microorganismo adquiera mayor predominio en el medio ambiente, creciendo así el riesgo de contaminación después de la elaboración de los preparados en polvo para lactantes.¹⁹

La resistencia del microorganismo de sobrevivir en ambientes secos por largos periodos hace que sea un riesgo de contaminación post-pasteurización en las fórmulas para bebés durante el proceso de embalaje.^{7, 20}

Enterobacter sakazakii ha mostrado que produce material capsular viscoso y por lo tanto el microorganismo puede formar biofilms en latex, policarbonatos, goma de silicona y vidrio. La formación de biofilms puede llevar a incrementar la resistencia en la limpieza y puede dar lugar a que se acumulen bacterias en el material. La formación de cápsula varía entre las cepas.^{20, 37}

Enterobacter sakazakii ha demostrado una substancial resistencia a pH ácidos (pH=3). Esto implica su supervivencia durante el paso por el estómago del neonato.^{20, 26}

1.3 Relación dosis-respuesta

Aún no se ha podido elaborar una curva de relación dosis-respuesta para éste patógeno.

1.4 Patogenicidad y virulencia

En la actualidad se están realizando estudios in vitro con células de intestinos de mamíferos e in vivo con animales a los cuales se les administra dosis de la bacteria.

1.5 Individuos vulnerables

Enterobacter sakazakii ha causado enfermedades en todos los grupos de edades. Sin embargo, es considerada una infección oportunista; es decir se presenta en individuos vulnerables. Entre ellos se encuentran: los lactantes (es decir, los niños menores de 1 año) dentro de este grupo, se considera que el mayor riesgo lo tienen los nacidos con menos de 36 semanas de gestación, los bebés inmunodeprimidos y los lactantes con menos de 28 días de vida, en particular los de peso bajo al nacer (<2.500g).

Los lactantes de madres positivas al virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) son también motivo de preocupación, debido a la necesidad de minimizar el riesgo de transmisión del virus de la madre al lactante, las recomendaciones de las NNUU (OMS/UNICEF/ ONUSIDA/FNUAP) indican que cuando la alimentación de sustitución sea aceptable, factible, asequible, sostenible y segura, se recomienda evitar totalmente la lactación materna, pudiendo ser una opción los preparados en polvo para lactantes.^{19, 57}

El estómago de los recién nacidos, en particular de los prematuros², es menos ácido que el de los adultos y posiblemente sea un factor importante que contribuye a la supervivencia de la infección por *Enterobacter sakazakii* en los lactantes.¹⁹

Los niños sanos nacidos a término poseen bajo riesgo de contraer la enfermedad.

1.6 Enfermedad

Enterobacter sakazakii ha estado relacionado con casos esporádicos de pequeños brotes de sepsis, meningitis y enterocolitis necrotizante.¹⁹

La infección puede provocar una morbilidad importante en forma de deficiencias neurológicas, especialmente entre los afectados por meningitis. Si bien, la enfermedad suele responder a la terapia con antibióticos, varios autores han notificado una resistencia creciente a los utilizados normalmente en el tratamiento inicial de la infección sospechosa por *Enterobacter*. Son bien conocidas las secuelas neurológicas a largo plazo.¹⁹

En los pocos brotes divulgados del 20% al 50% de los infantes que contrajeron la enfermedad murieron. Para los que sobreviven, pueden darse severas complicaciones duraderas, incluyendo desórdenes neurológicos. El resultado relacionado con la enfermedad en el adulto parece ser perceptiblemente más suave.⁷⁵

Entonces, se trata de una Infección con una baja frecuencia relativa 1 en 100.000 pero con una alta mortalidad entre el 20 y 50%. En general, la incidencia de la enfermedad es baja. *Enterobacter sakazakii*, vehiculizada a través de las fórmulas para lactantes, ha ocasionado:

Meningitis neonatal

Infección de las membranas que cubren el cerebro y la médula espinal (meninges).⁷⁶ La meningitis bacteriana aguda, causada por esta bacteria Gram-negativa, es muy grave y debe ser tratada inmediatamente para prevenir daño permanente.

Síntomas: fiebre, dolor de cabeza intenso, decaimiento, disminución del apetito, náuseas y vómitos, espasmos rígidos (cabeza, cuello y columna arqueadas hacia atrás), rigidez cervical, convulsiones, sensibilidad a la luz (fotofobia), cambios en el estado mental, síntomas que sugieren infección de la vejiga o los riñones, los intestinos o el pulmón que podría ser la fuente de la infección del líquido cefalorraquídeo.^{2,76}

Complicaciones: shock con daño a órganos, absceso cerebral (acumulación de bacterias en el cerebro mismo), daño cerebral y convulsiones.⁷⁶

La meningitis debida a esta bacteria, tiende a desarrollarse durante el periodo neonatal de los infantes; esto puede ser debido a los procesos inmunológicos y neurovasculares no aún completamente desarrollados en este grupo de edad.²⁰

La meningitis neonatal produce ventriculitis, abscesos cerebrales o formación de quistes, y el desarrollo de hidrocefalia. La mayoría de los pacientes mueren en el lapso de una semana y los que se recuperan sufren de algún retraso físico o mental.

Debido a que la meningitis bacteriana es una enfermedad mortal y que las defensas en el líquido cerebroespinal de los recién nacidos son limitadas, se deben utilizar antibióticos con la finalidad de erradicar el agente causal. Generalmente, la terapia con antibióticos por vía intravenosa se comienza de inmediato. En la mayoría de los casos reportados, se utiliza una combinación de ampicilina y gentamicina en el tratamiento de meningitis causada por *Enterobacter sakazakii*.²⁷

Algunos se recuperan completamente, pero un gran número sufre daño cerebral permanente o muere a causa de este tipo de meningitis. La probabilidad de la supervivencia depende de la edad del paciente, de otros problemas de salud y de la prontitud con que se trate la infección.⁷⁶

2. Bebé pretérmino. Que nace antes de la trigésimo séptima semana de gestación. Al nacer un bebé se clasifica como: prematuro (de menos de 37 semanas de gestación), a término (de 37 a 42 semanas de gestación), y post término o post maduro (nacido después de 42 semanas de gestación).

Enterocolitis necrotizante

Es una enfermedad adquirida, principalmente en bebés prematuros o recién nacidos enfermos, en la cual se presenta la muerte del tejido intestinal. El revestimiento de la pared intestinal muere y el tejido se desprende. Se desconoce la causa, pero se cree que la disminución del flujo sanguíneo hacia el intestino hace que éste no produzca el moco protector normal. Igualmente, las bacterias del intestino pueden ser también un factor causante.

Síntomas: intolerancia al alimento, decaimiento, inestabilidad de la temperatura, alteraciones en recuento de glóbulos blancos y shock; síntomas gastrointestinales: distensión abdominal, vómitos biliosos, diarrea, sangre en heces (macro o microscópica) y colecta de líquidos en exceso en cavidad abdominal.²

En caso de que se sospeche que un bebé presenta una enterocolitis necrotizante, se le debe suspender la alimentación y descomprimir el intestino de gases, insertando un tubo pequeño en el estómago. Los alimentos de fórmula o la leche materna se deben reemplazar con líquidos intravenosos e iniciar igualmente una terapia con antibióticos.

Complicaciones: sepsis, perforación intestinal, estenosis intestinal (área estrecha que puede conducir a una obstrucción intestinal), peritonitis (inflamación de la pared abdominal), derivando en una cirugía, la cual consiste en extraer el tejido intestinal muerto y realizar una colostomía o una ileostomía. El intestino se reconecta varias semanas o meses después, cuando la infección y la inflamación se hayan curado.

La enterocolitis necrotizante es una enfermedad grave con un índice de mortalidad que se acerca al 25%. Sin embargo, con un tratamiento temprano el resultado se puede mejorar.⁷⁶

Bacteremia/sepsis

Síntomas: shock, fiebre y enfermedad sistémica.²

El cuadro con bacteremia debida a *Enterobacter sakazakii* tiende a desarrollarse en infantes prematuros o en bebés menores de 2 meses.²⁰ Sin embargo, infantes inmunocomprometidos han desarrollado infección más tardía, por ejemplo a los 10 meses de edad.²⁰

2 - Fórmulas en polvo para lactantes

2.1 Descripción del producto alimenticio

La leche en polvo surgió en el siglo XIX; fue la manera que la industria escogió para conservar el exceso de leche que los ganaderos producían en esa época. En sus comienzos se utilizó para alimentación animal. Alrededor del año 1860, Henri Nestlé se le ocurrió mezclar esta leche en polvo con harina de cereales y comenzar a utilizarla para la alimentación de bebés.

El diseño nutricional de las fórmulas se ha ido modificando a medida que se fue profundizando el conocimiento de las propiedades de la leche humana. Cabe destacar que estas fórmulas no llegan a igualar los beneficios insuperables de un tejido vivo como es la leche humana para nuestra especie.⁶⁷

Ninguno de los anticuerpos que contiene la leche materna se encuentra en la leche artificial, lo que significa que ésta no proporciona al bebé la protección añadida contra las infecciones y enfermedades que proporciona la leche materna.

Es muy importante destacar que estos preparados en polvo no son productos estériles y pueden contener, en ocasiones, microorganismos patógenos.

Las fórmulas industriales por su composición pueden sustituir parcial o totalmente la alimentación a través de la leche materna.

2.2 Situaciones en las que se justifica la utilización de las fórmulas: En algunas situaciones, la lactancia no deber ser suprimida sino complementada o suspendida temporalmente.^{77, 18, 2, 59}

- Deterioro de la curva de crecimiento: en este caso se sugiere realizar intervenciones para mejorar la técnica de lactancia materna, seguimiento del niño según evaluación clínica y de acuerdo a tablas de incremento g/día. Si a pesar de ello deterioro persiste, se decidirá la complementación.
- Niños con cuadros de deshidratación: cuando el aporte de leche materna no es suficiente para resolver las pérdidas agudas de líquido y sales o cuando no es posible la ingesta oral, se debe complementar según estado clínico.
- Niños con enfermedades metabólicas que contraindican la lactancia: galactosemia; fenilcetonuria (se puede amamantar pero debe recibir enzimas pancreáticas y complemento con fórmula específica); enfermedad de la orina “del jarabe de arce”.
- Madres con enfermedades infecciosas:
 - Portadora del virus de la inmunodeficiencia humana adquirida: las recomendaciones de las NNUU

(OMS/UNICEF/ONUSIDA/FNUAP) indican que cuando la alimentación de sustitución es aceptable, factible, asequible, sostenible y segura, se recomienda que todas las madres infectadas con este virus eviten la lactancia. De lo contrario, se recomienda la lactancia exclusiva durante los primeros meses de vida y su interrupción tan pronto como sea factible.

- Se estima que entre el 5 y 20% de lactantes de madres HIV positivas adquieren la infección a través de la lactancia materna. Los datos de varios estudios indican que la lactancia hasta los dos años puede ser responsable del tercio a la mitad de las infecciones con el HIV en lactantes y niños pequeños en países de África.⁵⁷
- Herpes o varicela: si la madre presenta lesiones que pueden entrar en contacto con el bebé y no pueden ser cubiertas, especialmente en pezón y areola se suspende temporalmente la lactancia. En caso de varicela, con madre sintomática, entre los 6 días previos y 2 días después del parto y con bebé asintomático, se le administra gammaglobulina y/o tratamiento antiviral al lactante, se suspende la lactancia y se separa al bebé, que podrá reunirse nuevamente con su madre transcurrido el período de contagio.
- Tuberculosis bacilifera: se separa al bebé hasta instalar tratamiento materno y profilaxis en el niño.
- Hepatitis B: el niño recibe vacuna y puede seguir siendo amamantando.
- Madres que reciben tratamientos contraindicados para la lactancia materna: en caso de que no puedan ser suspendidos ni reemplazados por otros menos nocivos para el bebé (terapias farmacológicas, radiantes, isótopos nucleares y otras), se descartará la leche materna hasta que haya pasado el período de contraindicación, según evidencia científica actualizada.
- Madres drogadictas: en el caso de madres consumidoras de sustancias perjudiciales para el niño amamantado, por ejemplo: la cocaína pasa a la leche materna permaneciendo por un período de 24 a 36 horas, no siendo el recién nacido capaz de metabolizarla.
- Madres que padecen de enfermedad física o mental severa: se refiere al caso de enfermedades terminales, neoplasias, psicosis, etc. Valorar con el equipo profesional tratante las posibilidades de amamantamiento según el estado clínico.
- Madres en situaciones especiales:
 - Que expresamente manifiesta su deseo de no amamantar, a pesar de haberla informado sobre los beneficios de la lactancia para ella y su hijo, y ofrecido el sostén adecuado. Se respetará la postura de la madre.
 - Separada de su niño por situaciones extremas (convicta, internada, etc.) en que no puede amamantar en forma directa ni ofrecer leche extraída.
 - Que trabaja fuera de su casa en horarios prolongados, o debe ausentarse y no puede ni desea amamantar en forma exclusiva, ni extraerse leche, a pesar de contar con toda la información y el apoyo necesarios. Se respetará la postura de la madre.

2.3 Clasificación de los sucedáneos de la leche materna:

- **Fórmulas lácteas de inicio.** Diseñadas para cubrir los nutrientes del lactante sano durante los primeros seis meses de vida. La Organización Mundial de la Salud ha declarado que los preparados para lactantes para ser usados antes de los seis meses de edad deben ser considerados como medicamentos nutricionales.
- **Fórmulas lácteas de continuación.** Empleadas a partir de los seis meses de vida como parte de una alimentación variada.
- **Fórmulas lácteas de uso médico.** Se diseñan para lactantes con alguna patología o situación especial de salud (por ejemplo: bebés prematuros) y se usan para un fin dietético especial (por ejemplo: intolerancia a la lactosa, error congénito del metabolismo como fenilcetonuria); deben ser administrados bajo prescripción médica.

2.4 Ingredientes que componen las fórmulas en polvo: (A modo de ejemplo se describe los ingredientes de marcas presentes en el mercado de algunos de los diversos tipos de fórmulas para lactantes)

Fórmula de inicio:⁵⁶



Alimentación normal de lactantes sanos desde el nacimiento en adelante cuando falta leche materna o como complemento de la misma, bajo prescripción profesional durante los primeros seis meses de vida.

Ingredientes: fracción de suero de leche de vaca desmineralizado, oleína de palma, leche descremada de vaca, lactosa, aceite de palma kernel, aceite de canola, aceite de maíz, fracción de proteínas de suero de leche de vaca, citrato de calcio, citrato de potasio, cloruro de sodio, cloruro de magnesio, cloruro de calcio, sulfato ferroso, sulfato de zinc, sulfato de cobre, yoduro de potasio, sulfato de manganeso, selenato de sodio, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (DHA/ARA), lecitina de soja, vitamina C (ascorbato de sodio), inositol, vitamina E (acetato de tocoferol), Niacina (nicotinamida), panteonato de calcio, vitamina A (acetato de vitamina A), vitamina B6 (clorhidrato de piridoxina), vitamina B2 (Riboflavina), vitamina B1 (tiamina), vitamina D3 (calciferol), ácido fólico (folacina), vitamina K1 (filoquinona), D-biotina, vitamina B12 (cianocobalamina), L-arginina, taurina, nucleótidos, L-histidina, L-carnitina.

Fórmula de continuación:⁶⁶



Con hierro para lactantes. Se trata de una fórmula infantil completa a base de leche, con ácidos grasos esenciales, 13 vitaminas y 12 minerales. De 6 a 12 meses.

Ingredientes: leche fluida entera seleccionada, maltodextrina, lactosa, sacarosa, crema de leche, aceite refinado de girasol, aceite de canola, concentrado de proteínas de suero, premezcla de minerales (carbonato de calcio, bicarbonato de potasio, taurina, sulfato ferroso, sulfato de cinc, sulfato de cobre, sulfato de manganeso, yoduro de potasio, selenito de sodio), premezcla de vitaminas (ascorbato de sodio, alfa-tocoferol, acetato de vitamina A, nicotinamida, pantotenato de calcio, mononitrato de tiamina, clorhidrato de piridoxina, ácido fólico, filoquinona, biotina, vitamina D3, cianocobalamina) e inositol, emulsionante (lecitina) y cloruro de colina.

Fórmulas de uso médico:⁵⁸

- Fórmula para bebés prematuros:



Para lactantes prematuros y/o de bajo peso al nacer.

Ingredientes: proteína de suero desmineralizada, betapalmitato (aceite de palma reestructurado), leche parcialmente descremada, maltodextrina, lactosa, mezcla de aceites unicelulares (mortierella alpina y crypthocodium cohnii)³, fuentes de AA y DHA (ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico), carbonato de calcio, fosfato tricálcico, cloruro de calcio, inositol, ácido ascórbico, citrato trisódico, carbonato básico de magnesio, citrato tripotásico, taurina, hidróxido de sodio, vitamina E, vitamina A, sulfato ferroso desecado, nicotinamida, vitamina D, L-carnitina, sulfato de zinc, pantotenato de calcio, sulfato cúprico, vitamina B1, betacaroteno, vitamina B6 B2 B12, yoduro de potasio, sulfato de manganeso, vitamina K, selenito de sodio, biotina.

- Fórmula especial anti-reflujo:⁴⁷



Para lactantes con regurgitación excesiva, espesada con amilopectina, que se espesa en el estómago del bebé, impidiendo de esta manera que el alimento regrese en forma de vómito.

Ingredientes: leche descremada, almidón de arroz pregelatinizado, lactosa, aceite de palma oleína, jarabe de glucosa, aceite de nuez de coco, aceite de soya, aceite vegetal alto en ácido oleico, emulsificante (lecitina); minerales (cloruro cálcico, sulfato cúprico, sulfato ferroso, carbonato de manganeso, citrato potásico, yoduro sódico y sulfato de zinc). Vitaminas (acetato de alfa tocoferol, biotina, colecalciferol,

3. Son fuente de ácidos grasos de cadena muy larga (LCPUFA). Estos ácidos son el araquidónico (AA) y ácido docosahexaenoico (DHA); se obtienen a partir de hongos y algas. El DHA se sintetiza a partir de microalgas marinas (crypthocodium cohnii) y el AA a partir de hongos (mortierella alpina)

pantotenato de calcio, cianocobalamina, ácido fólico, niacinamida, fitonadiona, clorhidrato de piridoxina, riboflavina, ascorbato de sodio, clorhidrato de tiamina, palmitato de vitamina A), taurina, cloruro de colina y palmitato de ascorbilo.

- Fórmula sin lactosa:⁵⁸



Alimento que por carecer de lactosa, se emplea cuando los alimentos lácteos no están indicados.

Ingredientes: maltodextrina, caseinato de calcio, aceites vegetales (maíz y coco), glucosa, fosfato bipotásico, carbonato de calcio, lecitina, fosfato disódico, cloruro de sodio, carbonato básico de magnesio, vitamina C, sulfato de zinc, sulfato ferroso, nicotinamida, vitamina A, vitamina E, pantotenato de calcio, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B1, ácido fólico, sulfato de manganeso, vitamina K1, vitamina D, vitamina B12.

- Fórmula con proteínas de soja:¹



Fórmula de alimentación enriquecida con un extracto de proteínas de soja para lactantes que raccionan en forma atípica a la alimentación láctea, con diarrea, cólicos y vómitos. También está indicado en casos en que exista una manifiesta o sospechada sensibilidad a la proteína de la leche de vaca, caracterizada por eczemas y trastornos respiratorios no específicos. Está además indicado en lactantes y niños con intolerancia a la lactosa y como alimentación transitoria después de episodios de diarreas o vómitos.

Ingredientes: sacarosa, jarabe de maíz, aislado de soja, aceites vegetales, fosfato de calcio, cloruro de magnesio, carbonato de calcio, ácido ascórbico, L- metionina, cloruro de colina, sulfato ferroso, cloruro de sodio, sulfato de zinc, niacina, pantotenato de calcio, palmitato de vitamina A, sulfato de cobre, concentrado de vitamina D₃, riboflavina, tiamina, piridoxina, yoduro de potasio, acetato de alfatocoferol, fitomenadiona (Vitamina K1), biotina, ácido fólico, cianocobalamina.

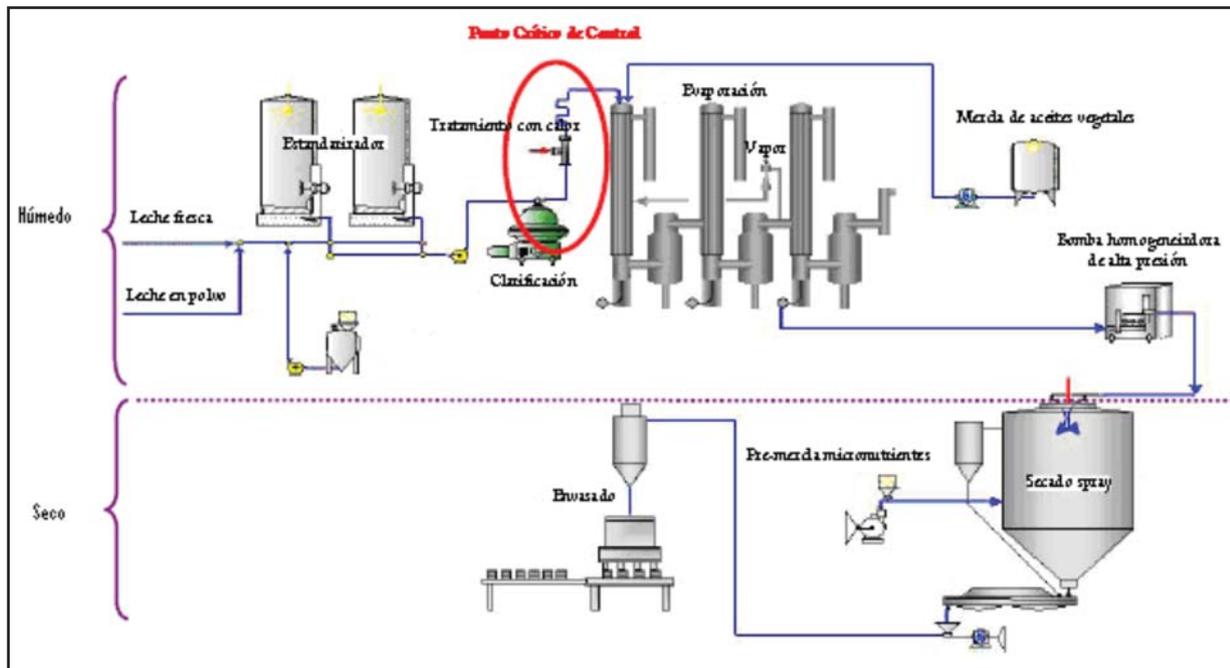
2.5 Fabricación del producto alimenticio

Los preparados en polvo para lactantes se fabrican de distintas maneras.

Etapas del proceso de fabricación:^{19, 12}

- Proceso de mezcla en húmedo: proceso por el cual ingredientes en fase líquida se someten a tratamiento térmico, se concentran por un proceso de evaporación, se homogenizan y se deshidratan. La fase de calor debe eliminar con eficacia las *Enterobacteriaceae*, por eso se lo identifica como un punto crítico de control.
- Proceso de mezcla en seco: ingredientes que se preparan por separado; luego se secan dependiendo de la sustancia y se mezclan en seco.
- Combinación de ambos procesos: proceso por el cual los componentes deshidratados obtenidos de la fase líquida son integrados con los ingredientes de la mezcla en seco.

Esquema tecnológico de flujo de una planta de fórmula en polvo para lactantes según proceso combinado ¹⁴



Descripción de un proceso habitual de fabricación:¹⁹

1. Los ingredientes (leche, derivados lácteos, concentrado de proteínas de soja, hidratos de carbono, etc.; que pueden estar en forma líquida o en polvo) se mezclan con agua para formar una solución líquida.
2. Se calienta la mezcla líquida. Pasteurización a 71,6°C durante 15 segundos o 74,4°C durante 25 segundos (para los alimentos que contienen almidones o espesantes) o a temperaturas más altas por ejemplo: 105-125°C durante por lo menos 5 segundos.
3. Se agrega la mezcla de aceites vegetales.
4. Se homogeniza y se evapora. (En algunos casos este producto obtenido se almacena en grandes depósitos refrigerados).
5. Se calienta a unos 82°C y se bombea con alta presión hasta las boquillas de los pulverizadores o un atomizador montado en una cámara amplia de secado a través de la cual fluye aire filtrado a temperatura elevada. La temperatura del aire de entrada varía entre 135-204°C y la del de salida entre 45-80°C (del spray).
6. Las vitaminas y minerales se añaden rápidamente antes del secado.
7. Se seca hasta obtener un polvo con actividad de agua (aw) $\leq 0,3$ en grandes secadores de pulverización. La mezcla líquida se seca de manera casi instantánea en el aire caliente y el polvo resultante cae al fondo del secador para su recogida. Otra posibilidad es recogerlo de la corriente de salida en un colector de ciclón o de polvo.
8. El polvo pasa luego de la cámara de secado a un lecho fluido de refrigeración donde se enfría con rapidez por debajo de 38°C utilizando filtros de partículas del aire de alta eficacia (HEPA) en condiciones de refrigeración.
9. El polvo se tamiza y transporta de manera neumática o mecánica a silos de almacenamiento, cajas o grandes cajones o directamente a las operaciones de envasado. Los recipientes se tratan con gas inerte y se sellan, codifican, etiquetan y embalan en cajas de cartón una vez llenos para su expedición.
10. Se retiene el producto terminado para someterlo a pruebas finales de calidad (contenido de nutrientes, uniformidad, análisis microbiológico).

Otras formas de procedimientos	Ventajas
Se realiza una mezcla en húmedo de los ingredientes principales (proteínas, grasa e hidratos de carbono). Se seca. A esto se lo denomina "polvo base de los preparados". Se mezclan los ingredientes secundarios secos (vitaminas, minerales y otros hidratos de carbono) con el polvo base en grandes mezcladores hasta obtener la formulación del producto final.	Secado más prolongado Facilita trabajar con distintas formulaciones de productos.
Se mezclan juntos todos los ingredientes previamente secados.	Más eficaz desde el punto de vista energético. Proporciona flexibilidad en las modificaciones de la formulación.

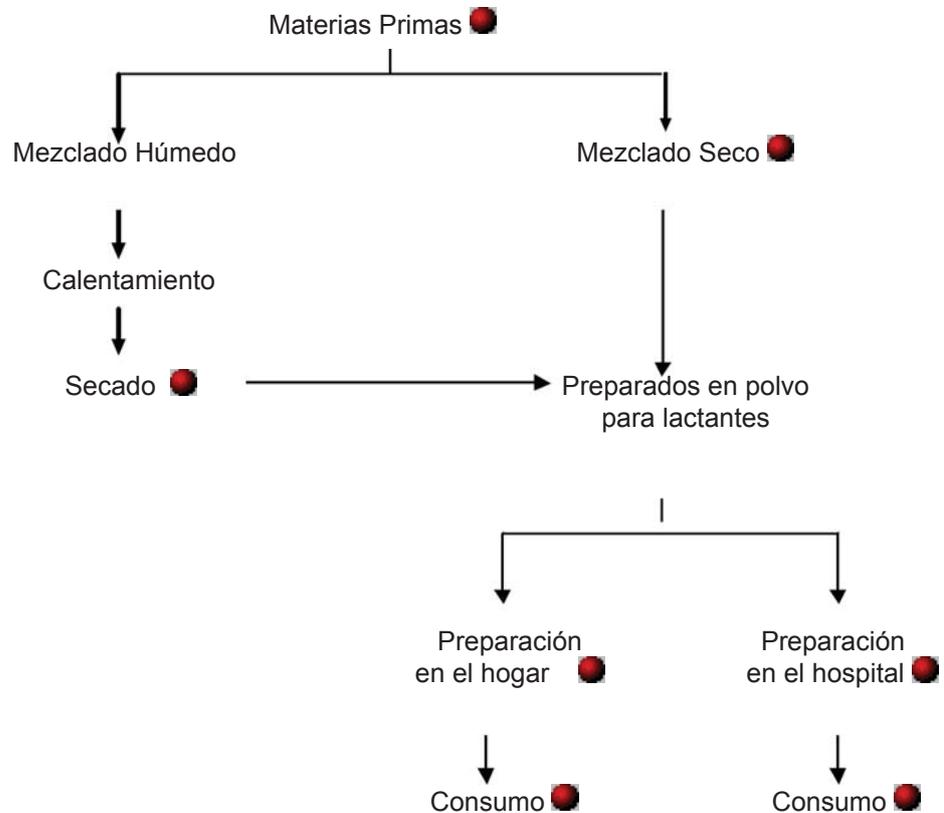
3 - Posibles focos de contaminación con Enterobacter sakazakii en la producción y uso de los preparados para lactantes en polvo

Existen 3 rutas básicas a través de las cuales *Enterobacter sakazakii* puede estar presente en una fórmula infantil y llegar al lactante:

- a través de las materias primas/ingredientes utilizados para elaborar la fórmula
- por contaminación luego de la pasteurización
- por contaminación de la fórmula al ser reconstituida en el hogar / institución antes de su administración

Diagrama de flujo de la producción y uso de las fórmulas infantiles en polvo²⁷

● Puntos en los que se podría producir una contaminación por bacterias



Materia prima:

En la fabricación de polvo para lactante algunas materias primas no son sometidas a tratamientos térmicos (aplicable a los procesos de mezcla en seco y combinados); por medio de ellas es que la bacteria puede estar presente en el producto final. Por consiguiente, es esencial que alcancen los mismos niveles microbiológicos exigidos para el preparado en polvo para lactantes.

Secado mezcla en húmedo:

Después de un tratamiento de calentamiento adecuado la contaminación puede ser adquirida del entorno de elaboración durante el secado o envasado.

Luego del tratamiento en los procesos combinados se agregan los aceites vegetales y las vitaminas. Es preciso que los mismos no posean el microorganismo.

Mezclado en seco:

Contaminación debida a los ingredientes: algunos ingredientes tienen un riesgo elevado de contener *Enterobacter sakazakii* mientras que otros tienen un riesgo bajo. La proporción puede depender de la situación y del lugar de origen.

Estudio de la industria para la detección de *Enterobacteriaceae* y *Enterobacter sakazakii* en los ingredientes utilizados en las operaciones de mezcla en seco para todos los tipos de preparados en polvo hasta los tres años.¹⁹

Ingredientes	n (10g)	Positivos <i>Enterobacteriaceae</i>	Positivos <i>E. sakazakii</i>
Vitaminas	793	8	0
Leche desnatada en polvo	835	1	1
Suero en polvo desmineralizado	23	3	0
Sacarosa	1691	28	0
Lactosa	2219	70	2
Banana en polvo	105	3	1
Naranja en polvo	61	1	1
Lecitina	136	1	1
Almidón	1389	155	40

Contaminación debida el entorno de elaboración se puede dar durante todo el proceso debido a que no se somete a tratamiento térmico.

Preparación en el hogar / hospital

Contaminación debida al entorno de preparación en el momento de su reconstitución o durante la manipulación de la fórmula.

Adición a los preparados en polvo para lactantes de ingredientes como almidón, féculas o azúcar pueden presentar riesgo de contaminación del producto. Estos ingredientes que se añaden deben cumplir las mismas prescripciones que los preparados en polvo.

Consumo en el hogar/ hospital:

El riesgo estimado de tiempos de espera prolongados entre la reconstitución y el consumo tiene carácter exponencial del crecimiento bacteriano. Por ejemplo: después de 6 horas de preparación a 25°C, el riesgo relativo aumenta 30 veces; después de 10 horas a 25°C aumenta 30.000 veces.

Se ha demostrado que *Enterobacter sakazakii* sobrevive en los preparados en polvo para lactantes durante períodos prolongados.¹⁹

Se conoce poco lo que ocurre con los preparados en polvo para lactantes contaminados en las condiciones ambientales de temperatura y humedad elevadas que son características de los países tropicales. La información actual indica que el contenido de humedad de los preparados en tales circunstancias no aumentaría hasta tal punto que pudiera favorecer el crecimiento de los contaminantes intrínsecos.¹⁹

4 - Medidas de Prevención

4.1. En la industria ^{19,12}

Los fabricantes deben:

- Establecer un sistema de control de la inocuidad de los alimentos mediante la utilización de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH) y el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP).
- Identificar en las operaciones todos los pasos que sean críticos a la inocuidad del producto final.
- Implementar procedimientos de control eficaces para los pasos críticos de la producción.
- Vigilar los procedimientos de control para asegurar su eficacia y continuidad.
- Revisar periódicamente los procedimientos de control.

En la actualidad no hay ninguna normativa de alcance mundial que exija a los fabricantes de preparados en polvo para lactantes la aplicación de planes HACCP; sin embargo, la mayoría de los productores han incorporado estos principios a sus programas de control, así como las buenas prácticas de higiene.

Puntos de control importantes desde el punto de vista microbiológico:

- calidad de las materias primas
- filtros de aire y líquidos
- filtros de criba
- temperaturas de pasteurización
- almacenamiento
- Determinar si el sistema de control de inocuidad de los alimentos adoptados están funcionando correctamente. Para ello se debe utilizar métodos, procedimientos y pruebas de verificación, validación y vigilancia (muestreo aleatorio, análisis, registro y estudio de los resultados).
- Establecer regímenes de muestreo para la verificación. Y establecer los distintos tipos de muestra: ingredientes que no reciben tratamiento térmico
 - productos terminados
 - superficies que entran en contacto con los alimentos
 - superficies que no entran en contacto con el alimento (muestras ambientales)



14

Para la verificación de los ingredientes que no reciben tratamiento térmico, del producto terminado y de las superficies que entran en contacto con el alimento se debería analizar *Enterobacteriaceae*. En caso de que una muestra tenga resultado positivo de *Enterobacteriaceae*. Se debería continuar su análisis en busca de *Enterobacter sakazakii*.

Para la verificación de las superficies que no entran en contacto con los alimentos se debería cuantificar *Enterobacteriaceae*. La empresa debería establecer límites internos de *Enterobacteriaceae* y un plan de acción de superarse el límite máximo establecido.

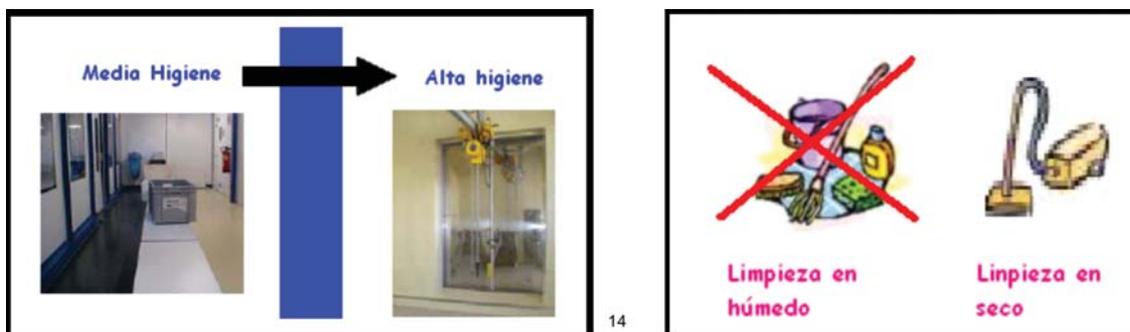
Características de los planes:

- son flexibles y se adaptan a los resultados obtenidos
- varían de un fabricante a otro
- alertan ante posibles contaminaciones
- permiten tomar medidas correctivas a tiempo
- reducen costos (pérdidas de lotes enteros de productos listos para la venta)
- Aplicar medidas correctivas de acuerdo al estudio de los datos obtenidos en el laboratorio. Que pueden ser:
 - Rechazar los productos para uso como fórmula para lactantes.
 - Reprocesar los productos (relativo a que producto se trate)

- Intensificar la limpieza
- Rastrear fuentes de contaminación específica (aumentar las pruebas ambientales)
- Revisar las prácticas de higiene

A continuación se detallan algunos ejemplos para lograr reducir el nivel de *Enterobacteriaceae* en:

- las materias primas (Es preciso recordar que es esencial que los ingredientes que no se van a someter a procedimientos térmicos deben alcanzar los mismos niveles microbiológicos exigidos para el preparado en polvo para lactantes). Esto se puede lograr:
 - Exigir al proveedor un plan que garantice: condiciones adecuadas de higiene (BPH), buenas prácticas de manufactura (BPM), procedimiento de verificación de la calidad y distribución adecuada.
 - Auditar al proveedor, controlar y vigilar los procedimientos.
 - Realizar análisis periódicos de los ingredientes que ingresan a planta.
- el entorno de producción:
 - Idear un programa de higiene efectivo de la instalación.
 - Separar las operaciones de elaboración en húmedo y en seco.
 - Dividir entre zonas de alta higiene y media higiene.
 - Separar físicamente los alimentos crudos o sin procesar de los alimentos listos para el consumo.
 - Tratar de reemplazar la limpieza en húmedo por la limpieza en seco (sobre todo en las zonas de secado, mezclado y envasado).
 - Cambiar el calzado en el paso de divisiones sanitarias.
 - Eliminar el agua en las zonas de alta higiene.
 - Controlar el flujo de personal.
 - Poseer accesos específicos a cada zona.
 - Colocar los tomas de aire externo lejos de escapes del secador, el hervidor y contaminantes ambientales.
 - Cambiar, limpiar e higienizar con regularidad los filtros de aire.



- en los procesos:
 - Calibrar rutinariamente los termómetros contra un instrumento de referencia.
 - Registrar las temperaturas en intervalos regulares.
 - Controlar que no existan rebordes, varillas, abrazaderas o huecos en el equipamiento que puedan acumular material durante el proceso.
 - Evitar escapes de residuos finos de polvo.
 - Controlar que los equipos se encuentren debidamente limpiados y desinfectados.
- Guardar y conservar registros del procedimiento, producción y distribución. También tener la información detallada de toda la materia entrante.
- Poseer un sistema de auditorías e inspecciones para comprobar la eficacia de los sistemas de saneamiento.
- Seguir estudiando tratamientos posteriores a la elaboración y envasado que permitan lograr preparados en polvo estériles.

En la actualidad con la tecnología que se cuenta sólo es posible la esterilización del producto final en su forma seca mediante la irradiación. Sin embargo, las dosis que se precisan para inactivar *Enterobacter sakazakii* producirían un deterioro organoléptico del producto.

Otras tecnologías como la presión ultra alta y los campos magnéticos, son opciones posibles. Pero se encuentran en una fase inicial de desarrollo y por el momento ninguna es adecuada para los ingredientes secos.¹⁹

- Alertar a través de las etiquetas u otros medios, acerca de que la fórmula infantil en polvo no es un producto estéril. Y cuidados que se deben tener después que es abierto el mismo; forma de preparación, administración y almacenamiento.
- Estar preparados ante un posible procedimiento para el retiro de productos del mercado. Es importante recordar que las fórmulas en polvo para lactantes son productos que se comercializan internacionalmente debido a esto es necesario una red efectiva y eficiente entre productores y distribuidores del producto.

4.2 En las instituciones (hospitales, clínicas o similares) ⁵⁰

De ser aceptable, factible, asequible, sostenible y seguro se recomienda que las fórmulas en polvo para lactantes sean reemplazada por productos líquidos esterilizados para la alimentación de los lactantes con mayor riesgo de infección, en especial: neonatos de bajo peso al nacer.

- Los espacios físicos deben estar:
 - Separados de las zonas donde se realiza la atención directa de los pacientes.
 - Dedicados exclusivamente a la preparación de fórmulas infantiles o productos de nutrición enteral, de una forma aséptica.
 - Recubiertos (paredes, suelos y techos) con material que garantice el buen control sanitario.
- Los equipos y materiales deben:
 - Cumplir todas las regulaciones sanitarias vigentes.
 - Tener protocolos escritos de mantenimiento.
 - Ser adecuados y exclusivos.
 - De ser posible de material descartables (tetinas, biberones, sonda para alimentación nasogástrica).

Es muy importante la adecuada limpieza y desinfección de equipos, escobillas, mezcladoras y cualquier otro material empleado en la reconstitución de estos preparados por la posibilidad de que la bacteria pueda formar biofilms. En algunos casos se utiliza la esterilización con autoclaves.

- El personal debe:
 - Ser experimentado y calificado en la preparación de fórmulas infantiles.
 - Poseer vestimenta adecuada.
 - Cumplir con las buenas prácticas de higiene personal.



- En el momento de preparación y manipulación de las fórmulas debe:
 - Reducir el tiempo que media entre la preparación y su administración.
 - Existir protocolos claros de preparación y manejo de las fórmulas infantiles que se encuentren a mano del que esta realizando la actividad.
 - Emplear técnicas de preparación aséptica.
 - Repartir la fórmula reconstituida en recipientes adecuados inmediatamente después de su preparación.
 - Etiquetar los recipientes con la fecha, hora y nombre del producto.
 - De no prepararse para su uso inmediato almacenar la fórmula reconstituida a una temperatura igual o inferior a 4°C durante un periodo no superior a 24 horas.
 - Calentar la fórmula sólo inmediatamente antes de su utilización, sin sobre calentar.
 - No permanecer la fórmula reconstituida a temperatura ambiente por más de 4 horas.
 - Empleo de agua estéril o hervida, según corresponda.
 - Mantener registros que permitan la trazabilidad. Para poder rastrear, por ejemplo, el número de lote de fórmula en polvo que se empleó para preparar el biberón del paciente de la habitación N°4.

4.3 En el domicilio y guarderías maternas

- El espacio físico (habitualmente la cocina):



- La mesada de trabajo debe estar limpia y desinfectada.
- No permitir el ingreso de animales domésticos.
- Controlar los insectos y roedores (mosquiteros en las ventanas).
- Poseer un lugar limpio y seco para almacenar la lata del preparado en polvo.
- El producto (preparado en polvo para lactante):
 - Al adquirir elija el tamaño del envase adecuado, considerar que es conveniente consumir el producto en su totalidad antes de los 30 días de abierto.
 - Verificar que no se encuentre vencido (en el momento de la compra y durante su uso).
 - Limpiar y desinfectar la superficie del mismo al ingresarlo a su hogar.
 - Mantener el envase bien tapado durante el almacenamiento.
 - No suministrar al bebé aquellos productos cuyas características organolépticas (color, olor, sabor) sean diferentes a las habituales.
- Los utensilios, mamaderas, tetinas:
 - Asegurar que la cuchara o medida utilizada para servir la porción necesaria se encuentre perfectamente limpia y seca. No guardar en el interior de la lata.
 - Esterilizar las mamaderas y tetinas.
 - Limpiar y desinfectar los cepillos que se utilizan para limpiar el interior de los biberones.
- El agua:
 - Utilizar agua potable.
 - Reconstituir la fórmula en polvo con agua hervida (durante al menos cinco minutos).
 - Enfriar el agua hervida en el momento de su utilización a 50°C. Esta recomendación se debe a que si el agua está muy caliente puede: provocar una pérdida de nutrientes (en particular de vitamina C, producir una aglutinación en ciertos preparados en polvo y causar quemaduras en el preparador o lactante. En la actualidad se están realizando estudios para poder utilizar agua hervida atemperada a 70-90°C para reducir el riesgo.

Modo de preparación de una mamadera con fórmula en polvo para lactantes: ²³



Lave muy bien sus manos, brazos y debajo de sus uñas con jabón y agua tibia. Enjuague con abundante agua.



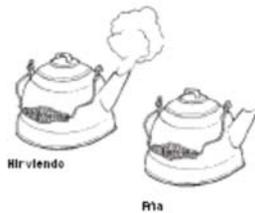
Lave botellas y tetinas utilizando cepillos para este fin. Tapas, aros y utensilios de preparación. En agua tibia con detergente luego enjuague con abundante agua.



Haga pasar agua a través de la tetina para asegurar que no esté tapada.



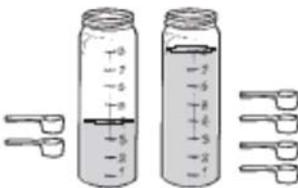
Coloque en una cacerola las botellas, tetinas, tapas y aros, cubrir con agua potable. Hierva por cinco minutos. Quite los elementos con una pinza limpia y colocalos sobre una superficie limpia. Deje enfriar y secar al aire.



Si el agua a utilizar es de canilla deje correr previamente agua por 2 minutos antes de recolectarla en el recipiente que va a utilizar para hervir. Hierva el agua para la reconstitución del producto por 5 minutos, luego deje enfriar.



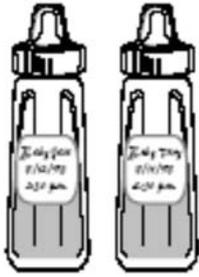
Si se abre una lata nueva: remueva y lave con agua y jabón la tapa plástica. Coloque la fecha de apertura del envase sobre la tapa de la parte de afuera. Limpie con jabón y agua la parte por donde se va a cubrir la lata y seque. De ser necesario utilizar un abre latas, debe estar previamente lavado con jabón y agua caliente. Abra la lata y remueva la cuchara medidora que viene en el envase. De tener que tocar el producto para retirar la cuchara lave previamente sus manos.



Añada la cantidad de agua hervida atemperada (a 50°C) y luego el polvo de acuerdo a las indicaciones del producto empleado. Solo utilice la cuchara medidora que viene en el envase. Recuerde que si utiliza una jarra para medir el volumen de agua o utiliza un utensilio para enrasar la medida deben estar limpios. Las proporciones de producto y agua deben ser según las instrucciones que se indican en el rótulo del producto para su preparación, utilizando las cantidades especificadas ya que las fórmulas infantiles son productos balanceados para cubrir las necesidades nutricionales del bebé, preparaciones más concentradas o más diluidas podrían causar daño al niño.



Coloque la tetina y el aro, ajústelos y agite bien. Agite enérgicamente, enfríe hasta una temperatura adecuada para beber (prueba en el dorso de la mano), administre directamente. Muy importante: minimice el tiempo entre la preparación y su administración.



Es conveniente la preparación de la mamadera antes de cada toma. De tener que preparar más de una mamadera ya sea para el mismo lactante o si se está preparando para más de uno cierre la mamadera con su tapa. Coloque una etiqueta con el nombre del bebé, el día y horario de preparación de la fórmula.

La fórmula reconstituida no debe mantenerse caliente en aparatos térmicos. La fórmula reconstituida no debe guardarse en un termo o dispositivo similar. Como alternativa, guardar el agua hervida en un termo y mezclar con la fórmula en polvo justo antes de su administración.



De preparar más de un biberón o de administrarlo inmediatamente luego de su preparación: refrigere hasta la hora de toma, en una heladera que tenga un termómetro para verificar que su temperatura se encuentra entre los 2-4° C. La heladera debe permanecer el mayor tiempo cerrada para mantener la temperatura adecuada y se debe encontrar limpia y desinfectada; de ser posible debería estar destinada solo al almacenamiento de biberones (aplicado a guarderías maternas) en el caso de tener que compartirla con otros alimentos los biberones deberán estar en el estante superior y no debe ser compartida con ningún otro tipo de alimento. El tiempo de refrigeración máximo de un biberón es de 24 horas transcurrido ese tiempo debe ser descartado.



Lo que sobre de una toma debe descartarse. No se utiliza para la siguiente toma. Lave el biberón minuciosamente y esterilice nuevamente.

Nunca recaliente productos que hayan sido ofrecidos al bebé o probados por el niño.



Almacenar la lata bien cerrada en un lugar limpio y seco. Asegurarse que ningún líquido pueda caer sobre ella.



La cuchara medidora luego de su utilización debe ser lavada con agua caliente y detergente. Enjuagada con abundante agua y secada al aire.



En caso que el bebé quedara hambriento, prepare en el momento una mamadera adicional en las mismas condiciones.

5. Metodología

En las fórmulas infantiles en polvo se han hallado varios integrantes de la familia *Enterobacteriaceae*, por ejemplo: *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Pantoea agglomerans*, *Escherichia vulneris*, etc.; en consecuencia son necesarios métodos de detección específicos para poder aislar *Enterobacter sakazakii*.¹⁹

En 1980, se detecta la presencia de *Enterobacter sakazakii* en una lata de leche en polvo. No se encuentra documentada la metodología utilizada para el aislamiento.²²

En 1982, en una investigación de ocho casos de meningitis neonatal en los Países Bajos, Muytjens *et al.* aislan el microorganismo de la fórmula en polvo reconstituída. Fueron ellos mismos, en 1988, los que describieron el primer método cuantitativo para el aislamiento de *Enterobacter sakazakii* de fórmulas infantiles en polvo. Los niveles de *Enterobacter sakazakii* reportados se encontraban en el rango de 0,36 a 66 ufc/100g.

La metodología utilizada se resume en los siguientes pasos:

- Pre-enriquecimiento: 100g, 10g y 1g de fórmula infantil en polvo con agua peptonada tamponada (dilución 1:10). Incubada por una noche a 36°C.
- Enriquecimiento: 10mL del pre-enriquecimiento en 90mL Caldo EE (de cultivo para el enriquecimiento de *Enterobacteriaceae*). Incubada por una noche a 36°C.
- Aislamiento primario: 1mL del caldo de enriquecimiento en Agar VRBG por duplicado (36°C, por una noche).
- Identificación de las colonias presuntivas: Colonias típicas de *Enterobacteriaceae*, sembradas en agar sangre ovina y agar azul eosin-methylene. Reacción: α - glucosidasa: positiva. Siembra en agar nutritivo a 25°C 48 horas para observar el desarrollo de colonias amarillas. Identificación bioquímica a través del sistema API 20E.

En 1989, Simmons *et al.* utilizaron un método similar para aislar *Enterobacter sakazakii* de fórmulas en polvo asociadas con un brote en la unidad de cuidados intensivos de Memphis, Tennessee, Estados Unidos de América. El nivel de *Enterobacter sakazakii* presente en las fórmulas fue de 8 ufc/100g.

En 1998, van Acker *et al.* durante la investigación de un brote de enterocolitis necrotizante, que ocurrió en la unidad de cuidados intensivos de neonatos en Bruselas, Bélgica, aislaron *Enterobacter sakazakii* de fórmulas en polvo reconstituídas. Realizaron siembra directa de la fórmula líquida en: agar tripticasa de soja con sangre ovina, agar Mac Conkey y un caldo generando anaerobiosis. De este reporte no se sabe cual de los métodos utilizados fue el que dio positivo. Los datos que obtuvieron permitieron afirmar que en los lotes de fórmula en polvo la contaminación microbiológica es heterogénea. De esto se desprende que es necesario e importante tomar varias sub-muestras de un lote para determinar la aceptabilidad del mismo. En este mismo estudio se reportó la presencia del microorganismo en varias latas abiertas de uno de los dos lotes utilizados en el hospital. No se intentó cuantificar los niveles de *Enterobacter sakazakii* en dichas fórmulas.

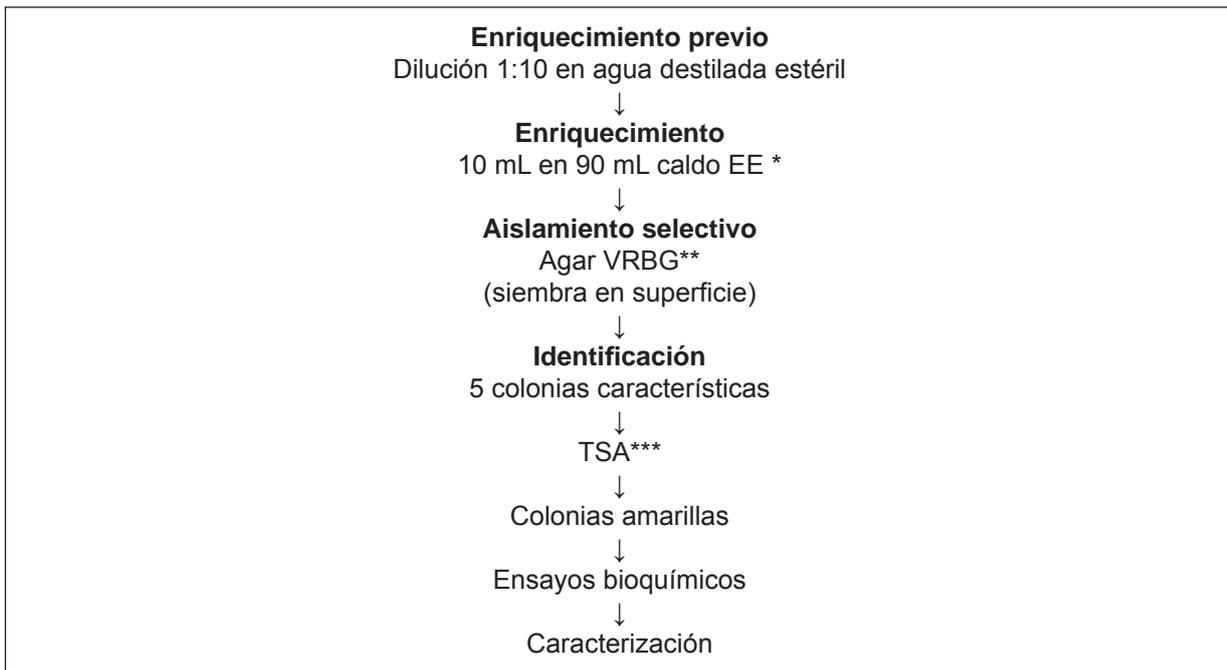
Durante un estudio, en Canadá, sobre la incidencia de *Enterobacter sakazakii* en fórmulas infantiles en polvo, el método de Muytjens *et al.* fue utilizado con mínimas modificaciones. La sensibilidad del método fue equivalente al método original. *Enterobacter sakazakii* se aisló en 8 de 120 latas de 5 fabricantes distintos, al nivel de 0,36 ufc/100g.

Enterobacter sakazakii fue aislado, de una fórmula en polvo comercializada, durante una investigación de una infección fatal de un neonato hospitalizado. El método empleado por el Centro de Control de Enfermedades y Prevención de los Estados Unidos de América estaba basado en el método de Muytjens, *et al.*, 1988.

En el 2001, Heuvelink *et al.* utilizaron un método de ausencia/presencia de *Enterobacter sakazakii* a partir del análisis de 25g de muestra pre-enriquecida con 225mL de agua peptona tamponada.

El procedimiento de FDA (Food and Drug Administration) 2002, es derivado del método canadiense, el cual fue basado en la metodología de Muytjens *et al.*, 1988.

Es un método de aislamiento y enumeración de *Enterobacter sakazakii* para fórmulas infantiles en polvo. Los resultados finales se pueden obtener al quinto día de comenzado el análisis. Esta basado en el método de número más probable (NMP) utilizando de este modo 333g de producto (3x100g, 3x10g y 3x1g). El procedimiento contiene los pasos convencionales: de pre-enriquecimiento, enriquecimiento y aislamiento utilizando un medio selectivo. Hasta estos pasos sería un método de aislamiento selectivo de *Enterobacteriaceae* pero de este último paso se toman cinco colonias presuntivas de *Enterobacter sakazakii* y se las cultiva en agar tripticasa de soja a 25°C por 2 o 3 días para ver la producción de pigmento amarillo. Seguidamente se confirma bioquímicamente utilizando el sistema API 20E. El límite mínimo de detección es de 0,36ufc/100g. Así el método de FDA puede detectar niveles menores que los recomendados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) = 3 ufc/g en fórmulas infantiles en polvo.

Flujograma metodología FDA

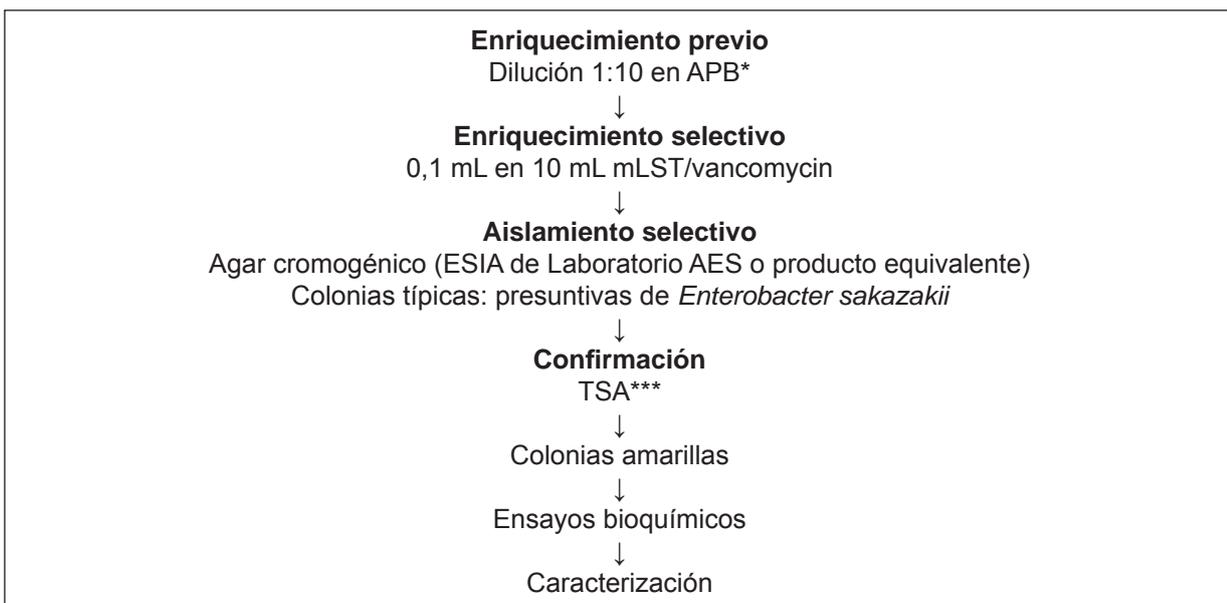
* Caldo EE: caldo de cultivo para el enriquecimiento de *Enterobacteriaceae*;

** Agar VRBG: agar bilis rojo neutro-cristal violeta con glucosa.

***TSA: Agar tripticasa de soja

En la metodología recomendada por el FDA la falta de especificidad puede llevar a resultados falsos negativos.

El método de la norma ISO (ISO/TS 22964:2006) tiene una gran diferencia con el método FDA 2002; que es la utilización de un agar selectivo para aislamiento de *Enterobacter sakazakii* y no de un agar selectivo para la familia *Enterobacteriaceae* en general.

Flujograma Norma ISO

*APB: agua de peptona buffereada (tamponada)

**mLST/vancomycin: Triptosa Lauril Sulfato- modificado con solución de Vancomicina (10µg de vancomicina/1mL de mLST)

***TSA: Agar tripticasa de soja

El siguiente cuadro comparativo resume las actuales metodologías aplicadas para la detección de *Enterobacter sakazakii* en fórmulas infantiles en polvo.

Métodos de detección de *Enterobacter sakazakii* en fórmulas infantiles en polvo²⁰

Método	Pre-enriquecimiento (37°C)	Enriquecimiento	Aislamiento primario	Identificación de las colonias presuntivas
FDA (US Food and Drug Administration 2002)	Agua destilada estéril	Caldo de cultivo para el enriquecimiento de <i>Enterobacteriaceae</i> (Caldo EE) (36°C)	Agar bilis rojo neutro-cristal violeta con glucosa (AVRBG) (36°C)	Colonias púrpuras con halo púrpura de precipitados de ácidos biliares. Luego aisladas sobre Agar tripticosa de soja(TSA) (25°C por 48-72 horas), colonias de pigmento amarillo
DFI (Iversen, Druggan y Forsythe, 2004)	Agua de peptona tamponada	Caldo EE (37°C)	Agar DFI (37°C) (Agar de Iversen, Druggan y Forsythe)	Colonias azules/verdes
NES(Guillaume-Gentil et al.,2005)	Agua de peptona tamponada	mLST+van (45°C)	TSA (37°C)	Colonias amarillas, α- glucosidasa positivo
ISO (ISO/TS 22964:2006)	Agua de peptona tamponada	mLST+van (45°C) (Triptosa Lauril Sulfato- modificado con solución de Vancomicina, 10µg de vanco-micina/1mL de mLST)	ESIA (44°C) (Agar para el aislamiento de <i>Enterobacter sakazakii</i>) u otro producto con iguales resultados.	Colonias azules/verdes
R&F ESPM-ESSM (Restaino et al., 2006)	Agua destilada estéril	Caldo EE (35-37°C)	ESPM (35-37°C) Medio cromogénico para <i>Enterobacter sakazakii</i> seguido de un screening sobre ESSM doble placa (35-37°C por 4-6 horas)	Colonias levantadas de fondo azul de 1-2mm de diámetro. 6 horas de screening (placas doble azúcar con melibiosa y sucrosa) Color amarillo alrededor de las colonias. Los ensayos del metabolismo de glucosa 1 fosfato, sacarosa y arginina dan buenos resultados.

Existen discrepancias con respecto a la identificación de la bacteria:

Una característica de la mayor parte de las cepas de *Enterobacter sakazakii* es la producción de pigmento amarillo no difusible por debajo de 37°C, pero no es una característica exclusiva de esta bacteria. Se encuentra también en el género *Pantoea*; que también fue aislado de fórmulas infantiles en polvo.¹⁹ Hay cepas de *Enterobacter sakazakii* que son de color blancas. Ya en 1980, Farmer *et al.* habían reportado que no todas las cepas de *Enterobacter sakazakii* tienen pigmento amarillo. La presencia de pigmento amarillo depende de la temperatura para muchas cepas. El método FDA incuba placas de TSA a 25°C por 48 a 72 horas. Guillaume-Gentil *et al.*, 2005 sostiene que la producción de pigmento está relacionado con el delgado espesor de la placa y por el uso de luz artificial blanca; la temperatura de incubación que utilizan es de 37°C. El método utilizado por Nazarowec-White and Farber (1997), a diferencia de los otros métodos que incuban a temperaturas de 44-45°C, reportan que sólo 3 de 11 cepas de *Enterobacter sakazakii* crecen a 44-45°C. La temperatura máxima de crecimiento para 4 de 11 cepas es de 41°C (incluida la cepa ATCC 29544).²⁰

Otro rasgo utilizado para la identificación presunta es la producción de α -glucosidasa. El agar DFI (Druggan-Forsythe-Iversen) es un cromogénico usado para indicar la actividad α -glucosidasa. El medio esta basado en la reacción α -glucosidasa la cual es detectada mediante el uso de 5-bromo-4-cloro-3-indolyl- α ,D-glucopyranoside. *Enterobacter sakazakii* hidrolisa este sustrato a un pigmento indigo produciendo colonias verdes-azules.³³ El mismo sustrato es el que se encuentra en el medio cromogénico recomendado por la norma ISO.

Cabe destacar que la actividad α -glucosidasa no es exclusiva de las cepas de *Enterobacter sakazakii*.

Hay investigadores que sostienen que la identificación basada en kits de perfil bioquímicos tiene problemas. Por ejemplo: se utilizó en paralelo al sistema API20E uno basado en ADN (BAX DuPont Qualicon) dando diferentes resultados.²⁰

Hemos visto las metodologías que alcanzan el aislamiento primario de la bacteria (enriquecimiento previo, enriquecimiento y agar diferencial selectivo con identificación bioquímica); pero existe un paso más allá que es de gran utilidad que es la tipificación del microorganismo.

Tipificación de plásmidos, la ribotipificación, la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y la tipificación de ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD). Esto es de gran utilidad para poder observar si los aislamientos clínicos se encuentran relacionados con los alimentarios.¹⁹ También se utilizan mucho en los estudios de la contaminación ambiental en los entornos de elaboración de las instalaciones y rastreo de la fuente de contaminación.

A estos métodos los podemos clasificar en:

- Métodos fenotípicos: biotipo y antibiograma
- Métodos genotípicos: ribotipificación (método de tipificación molecular), tipificación de ADN polimórfico amplificado al azar y electroforesis en gel de campo pulsado (método de tipificación molecular).

Recientemente, se han desarrollado un número de pruebas basadas en ADN para la detección de *Enterobacter sakazakii*. Por ejemplo existe un método capaz de detectar 100ufc/mL de fórmula infantil reconstituida basado en PCR (reacción de la cadena polimerasa) sin enriquecimiento.²⁰

En la actualidad, en los laboratorios del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires (GCBA), se utiliza la metodología USDA-FDA 2002 y PCR. Para lograr el aislamiento y tipificación de la bacteria en los lotes de fórmulas en polvo para lactantes que analizan.

6 - Legislación

6.1 Legislación en Argentina

En nuestro país no existe una especificación microbiológica para *Enterobacter sakazakii* en el Artículo 1340 del Código Alimentario Argentino que se refiere a las normas microbiológicas a las que se deben ajustar los alimentos dietéticos o alimentos para regímenes especiales.

Las autoridades que intervienen en los procedimientos de inspección y control, recurren a la aplicación del Decreto 2126/71, Anexo II, Artículo 14 Inciso d) para el procedimiento de muestreo (Ver anexo I-a) y al Código Alimentario Argentino Artículo 6 Inciso 6 para encuadrar al producto como alimento contaminado ante el eventual hallazgo de *Enterobacter sakazakii*. (Ver anexo II-b)⁴⁸ Esto hace que se declare contaminado a un lote de alimento con el análisis de una muestra constituida por un solo envase.

Es así que, el Artículo 14 Anexo II del Decreto 2126/71 no contempla en forma apropiada el concepto de muestra desde el punto de vista microbiológico, es decir que para el análisis microbiológico generalmente "una muestra está constituida por varias unidades" que son analizadas aplicando el procedimiento analítico apropiado.

La legislación vigente para productos para lactantes y niños de corta edad solo contempla la búsqueda de coliformes a 37°C (NMP) menor de 3/g. Y no tiene ningún criterio específico para *Enterobacter sakazakii*.

Estos criterios microbiológicos del Código Alimentario Argentino difieren con los que recomienda la Unión Europea en el Reglamento de la Comisión (EC) 2073/2005. En el cual se especifica la búsqueda de *Enterobacter sakazakii* en un total de 300g de preparado deshidratado para lactante. A su vez los mismos criterios han sido recomendados por Codex Committee on Food Hygiene, Working Group Meeting on Infant Formulae (Ottawa, Canada, May 15-17, 2006) en la "Proposed Draft Revisión of the International Code of Hygienic Practice for Powdered Formulae for Infants and Young Children".

La comisión del Código Alimentario Argentino deberá rever a la brevedad el artículo 1340 para adecuarlo a las necesidades actuales del consumidor.

6.2 Normativas internacionales

En la actualidad, las especificaciones microbiológicas vigentes a nivel mundial del *Codex Alimentarius* respecto de las fórmulas infantiles en polvo expresa límites para bacterias coliformes; *Enterobacter sakazakii* pertenece al grupo coliformes. Este límite es probable que ayude a reducir el número de brotes por esta bacteria pero en realidad no provee un nivel de inocuidad suficiente ya que se han observado brotes que han sido causados por fórmulas con concentraciones de *Enterobacter sakazakii* inferiores al mismo (<3ufc/g).^{29, 31}

Especificaciones microbiológicas vigentes de carácter consultivo del *Codex Alimentarius* para los productos secos e instantáneos. (Incluidos los productos destinados al consumo tras la adición de líquido, preparados en polvo para lactantes, cereales instantáneos para lactantes, etc.).

Bacterias	Clase de plan de muestreo	n	c	Límite por g ^a	
				m	M
Aerobias mesófilas	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Coliformes	3	5	1	3 ^b	20
<i>Salmonella</i> ^c	2	60	0	0	-

^a Los límites microbiológicos establecidos son aplicables al producto seco.

^b Implica que no hay ningún tubo positivo en el método del número más probable.

^c Muestras de 25g.

n = número de unidades que componen la muestra

c = número de unidades de muestreo con valores superiores a m o comprendidos entre m y M m = valor límite por debajo del cual se puede admitir el lote

M = valor límite por encima del cual se rechaza el lote

En el 2004, la FAO/OMS y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria publicaron informes en los cuales se alertaban sobre los peligros de la presencia de *Enterobacter sakazakii* en los preparados en polvo para lactantes. Se recomendó que se revisaran los lineamientos internacionales del *Codex* para mejorar las especificaciones microbiológicas establecidas para este producto.

A consecuencia de estos informes, la Comunidad Europea publicó el Reglamento 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios; se estableció, así, la obligatoriedad de detectar *Enterobacter sakazakii* en los preparados en polvo para lactantes y en los alimentos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses. Este criterio establece la ausencia de *Enterobacter sakazakii* en 300g (30 muestras de 10g) de producto analizado y es aplicable a los productos comercializados durante toda su vida útil.

Criterios microbiológicos aplicables a los preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de seis meses. Según Reglamento 2073/2005 de la Comunidad Europea

Microorganismo	Fase en la que se aplica el criterio	Método analítico de referencia	Plan de toma de muestras		Límites	
			n	c	m	M
<i>Enterobacteriaceae</i> ^a	Final del proceso de fabricación	ISO 21528-1	10	0	Ausencia en 10g	
<i>Enterobacter sakazakii</i>	Productos comercializados durante su vida útil	ISO / DTS 22964	30	0	Ausencia en 10g	
<i>Salmonella</i>	Productos comercializados durante su vida útil	EN/ISO 6579	30	0	Ausencia en 25g	

^a Si se detectan *Enterobacteriaceae* en cualquiera de las muestras, el lote deberá analizarse para detectar *Enterobacter sakazakii* y *Salmonella*. Se deberá mejorar la higiene de la producción para minimizar la contaminación.

^b Tal como se contempla en los criterios para las *Enterobacteriaceae*

n = número de unidades que componen la muestra

c = número de unidades de muestreo con valores superiores a m o comprendidos entre m y M.

Para estos casos se entiende que m = M.

Mediante el uso actual de la tecnología de mezcla en seco, no parece ser posible garantizar que los preparados en polvo para lactantes estén libres de *Enterobacteriaceae*.¹⁹

La Comisión de Higiene de Alimentos del *Codex Alimentarius* se encuentra elaborando el Código de Prácticas de Higiene para las Fórmulas en Polvo para Lactantes y Niños Pequeños. Ya han presentado una serie de anteproyectos. Se estima que el trabajo podría completarse para el año 2008 con el propósito de remitirlo a la Comisión para su adopción en el año 2009.

Especificaciones microbiológicas presentes en los anteproyectos (se exige la utilización de los métodos ISO para todas las determinaciones).

	Clase de plan de muestreo	n	c	Límite	
				m	M
Aerobias mesófilas ^a	3	5	2	100/g ó 500/g	1000/g ó 5000/g
<i>Enterobacteriaceae</i>	2	10	0	0/10g	0/g
<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	30	0	0/10g	0/g
<i>Salmonella</i>	2	60	0	0/25g	0/g

^a El valor de m y M en las sucesivas reuniones tomó valores diferentes.

En países como México, la normativa vigente (NOM-131-SSA1-1995) para preparados en polvo para lactantes no especifica la detección de *Enterobacter sakazakii*. Permite un máximo de 20 coliformes totales NMP/g.²⁷

A nivel mundial nos encontramos en una etapa de cambio; esto debe ir acompañado de programas de monitoreo de la producción y una fuerte vigilancia epidemiológica.

7 - Casos aislados y brotes reportados en la bibliografía

El número de documentos de brotes y casos de infecciones de neonatos por *Enterobacter sakazakii* son varios y se resumen en las siguientes fichas:

(Nota: los espacios en blanco se deben a datos no especificados en la bibliografía)

Año del brote: 1958
Lugar: St. Albans, Inglaterra
Número de neonatos o niños afectados: 2
Edades (post-natales): 5 y 10 días
Otros datos: 1 de ellos era 1 de gemelos.
Número de defunciones: 2
Fuente: Desconocida. En uno de los casos se sospecha de la incubadora.
Síntomas: Meningitis
Observaciones: Primeros casos documentados. En esos tiempos aún se la describía a la bacteria como una cepa inusual de pigmento amarillo de *Enterobacter cloacae*.
Reportado por: Urmenyi y White-Franklin, 1961

Año del brote: 1958
Lugar: Dinamarca
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 2 días
Otros datos: Sexo femenino. Peso al nacer: 3.200g
Número de defunciones:
Fuente: Desconocida
Síntomas: Meningitis
Observaciones: Reportado como meningitis neonatal causada por bacteria atípica del género *Enterobacter* con colonias de pigmento amarillo.
Reportado por: Jøker, Norholm y Siboni, 1965
Groover et al., 1961

Año del brote: 1958
Lugar: Macon, Georgia, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 7 días
Otros datos: Sexo masculino. Peso al nacer: 2.600g
Número de defunciones: 0
Fuente: Desconocida
Síntomas: Bacteremia
Observaciones: Primer caso reportado de *Enterobacter sakazakii* que no causó meningitis.
Reportado por: Monroe y Tift, 1979

Año del brote: 1958
Lugar: Oklahoma, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones: 0
Fuente:
Síntomas: Sepsis y Meningitis
Observaciones:
Reportado por: Adamson y Rogers, 1981

Año del brote: 1958
 Lugar: Indiana, Estados Unidos de América
 Número de neonatos o niños afectados: 1
 Edades (post-natales): 5 semanas
 Otros datos: Sexo femenino. Gestación completa.
 Número de defunciones: 0
 Fuente: Desconocida
 Síntomas: Meningitis
 Observaciones: Luego de su recuperación la niña quedó con serios retrasos en el aprendizaje.
 Reportado por: Kleiman, Allen, Neal y Reynolds, 1981

Año del brote: 1977-1981
 Lugar: Países Bajos
 Número de neonatos o niños afectados: 8
 Edades (post-natales): 3 a 9 días
 Otros datos:
 Número de defunciones: 6
 Fuente: Formula Infantil y utensilios de preparación de la fórmula. Canal de parto
 Síntomas: Meningitis. Bacteremia. Enterocolitis necrotizante en 2 de ellos.
 Observaciones: Pudieron aislar el microorganismo de la fórmula infantil preparada pero no del polvo.
 Reportado por: Muijtjens et al., 1981
 Smeets et al., 1998

Casos del brote

Nº Paciente	Días de vida	Sexo	Peso al nacer (g)	Edad gestacional	Complicaciones/Síntomas	Resultado
1	5	M	2.830	36	Incubadora/ Temperatura, irritable, reacción lenta ante estímulos, debilidad muscular	Recuperado con problemas de retardo, falleció a los 2,5 años
2	3	F	2.400	39	Incubadora/ bacteremia	Falleció
3	3	F	1.670	32	Incubadora/ ruptura de membranas	Falleció
4	4	M	1.900	32	Incubadora/ ruptura de membranas	Falleció
5	5	F	2.690	40	Bacteremia	Falleció
6	5	M	2.085	38	Incubadora, cesárea, gemelo/ Bacteremia, Enterocolitis necrotizante	Falleció
7	5	F	1.370	Prematuro	Incubadora, cesárea, previo desprendimiento placenta/ Bacteremia, Enterocolitis necrotizante, sangrado intraventricular, hemorragia	Falleció
8	9	F	850	30	Incubadora/ Bacteremia	Recuperado con hidrocefalia. Contrae neumonía y muere a los 16 meses

Año del brote: 1977-1981
Lugar:
Número de neonatos o niños afectados:
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente:
Síntomas:
Observaciones:
Reportado por: Aldová *et al.*, 1983
Postupa y Aldová, 1984

Año del brote: 1984
Lugar: Atenas, Grecia
Número de neonatos o niños afectados: 11
Edades (post-natales):
Otros datos: Unidad de cuidados intensivos de neonatos
Número de defunciones: 4
Fuente: Desconocida
Síntomas: 4 de los 11 presentaban un cuadro grave de sepsis y 1 de 11 meningitis.
Observaciones:
Reportado por: Arseni, Malamou-Ladas, Koutsia, Xanthou y Triikka, 1987

Año del brote: 1984
Lugar: Missouri, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 21 días
Otros datos:
Número de defunciones: 0 ó 1
Fuente: Desconocida
Síntomas: Meningitis
Observaciones:
Reportado por: Naqvi, Maxwell y Dunkle, 1985

Año del brote: 1984
Lugar: Boston, Massachussets y Nueva Orleans, Los Ángeles. Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 2
Edades (post-natales): 8 días y 4 semanas
Otros datos:
Número de defunciones: 0 ó 1
Fuente: Desconocida
Síntomas: Meningitis
Observaciones: Los casos no son geográficamente próximos.
Reportado por: Willis y Robinson, 1988

Año del brote: 1986-1987
 Lugar: Reykiavik, Islandia
 Número de neonatos o niños afectados: 3
 Edades (post-natales): 5 - 6 días
 Otros datos: Sexo: masculino. Gestación completa
 Número de defunciones: 1
 Fuente: Fórmula infantil en polvo
 Síntomas: Meningitis. Septicemia
 Observaciones: Se tomaron muestras del ambiente y no se encontró. La encontraron en un lote de fórmula infantil que utilizó el hospital. El microorganismo se encontraba en baja concentración en las latas pero los biberones de fórmulas eran ocasionalmente mantenidos por largos periodos de tiempo a 35-37°C en los calentadores de biberones favoreciendo la multiplicación del mismo.
 Reportado por: Biering et al., 1989
 Clark et al., 1990

Casos del brote

Nº Paciente	Días de vida	Sexo	Peso al nacer (g)	Edad gestacional (semanas)	Alimentación/ Complicaciones/ Síntomas	Resultado
1	5	M	3.144	36	Alimentado con pecho y suplementado con fórmula infantil/ Septicemia	Con retraso mental y cuadripléjico
2	5	M	2.508	Término completo	Alimentado con fórmula infantil/ Síndrome de Down's, operado a las 24hs para abrir el orificio anal, problemas cardíacos	Falleció
3	6	M	3.308	38	Suplementado con fórmula infantil	Retraso moderado en todas las áreas del conocimiento

Año del brote: 1986-1987
 Lugar:
 Número de neonatos o niños afectados: 4
 Edades (post-natales):
 Otros datos:
 Número de defunciones:
 Fuente: Desconocida
 Síntomas: Apendicitis, conjuntivitis del recién nacido, herida exudativa
 Observaciones: Pacientes con cultivos positivos de *E. sakazakii*
 Reportado por: Reina Parras, Gil, Salva y Alomar, 1989

Año del brote: 1981-1988
Lugar: Portugal
Número de neonatos o niños afectados: 2 o 1
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones: 2
Fuente: Desconocida
Síntomas: Meningitis
Observaciones:
Reportado por: Lecour, Seara y Cordeiro, 1989

Año del brote: 1988
Lugar: Memphis, Tennessee, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 4
Edades (post-natales): 28-34,5 semanas
Otros datos:
Número de defunciones: 0
Fuente: fórmula infantil en polvo
Síntomas: Sepsis y diarrea con sangre
Observaciones: Unidad de cuidados intensivos de neonatos. La fórmula infantil en polvo fue contaminada durante los procesos de elaboración. La posible fuente de contaminación pudo haber sido una mezcladora que se lavaba con agua potable rutinariamente y ocasionalmente con desinfectantes. Como medida se implementó el uso de mezcladoras estériles. Luego de este cambio no se documentaron nuevos casos.
Reportado por: Simmons *et al.*, 1989
Clark *et al.*, 1990

Año del brote: 1988
Lugar: Baltimore, Maryland, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 6 meses
Otros datos: Sexo: femenino.
Número de defunciones: 0
Fuente: Fórmula infantil
Síntomas: Bacteremia
Observaciones: *Leuconostoc mesenteroides* fue otro de los microorganismos encontrados, no se conoce cual fue el causante de la bacteremia. La fórmula infantil que estaba en stock fue analizada pero no se aislaron ninguna de las dos bacterias. Sin embargo la mezcladora que se utilizaba para preparar las fórmulas presentó una alta contaminación con estos dos microorganismos. Se cree que se encontraban presentes en la fórmula pero en muy baja cantidad y el número se incrementaba en el momento de la preparación. El hospital implementó nuevo protocolo en el cual la mezcladora debía ser lavada y autoclavada diariamente luego de su utilización.
Reportado por: Noriega *et al.*, 1990

Año del brote: 1988
Lugar: Cincinnati, Ohio, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 2 días
Otros datos:
Número de defunciones: 0
Fuente:
Síntomas: Meningitis
Observaciones:
Reportado por: Gallagher y Ball, 1991

Año del brote: Período de 5 años
Lugar:
Número de neonatos o niños afectados:
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente:
Síntomas: Enterocolitis necrotizante
Observaciones:
Reportado por: Chan, Saing, Yung, Yeung y Tosí, 1994

Año del brote: Período de 5 años
Lugar:
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente: Desconocida
Síntomas: Meningitis
Observaciones:
Reportado por: Reis, Harms y Scharf, 1994

Año del brote: Período de 5 años
Lugar:
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 20 meses
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente: Desconocida
Síntomas: Infección en heridas
Observaciones:
Reportado por: Tekkok, Baeesa, Higgins y Ventureyra, 1996

Año del brote: 1993-1998
Lugar: Israel
Número de neonatos o niños afectados: 4
Edades (post-natales):
Otros datos: El primer caso involucra a un neonato nacido a término alimentado con fórmula infantil (1993). El segundo caso ocurrió en 1995 en un neonato de sexo femenino, síntoma: conjuntivitis. El tercer caso niño de 6 años en 1997 que tenía hecho un transplante el cuál se lo realizaron a los 3 días de vida; *E. sakazakii* se aisló del catéter del paciente. El cuatro caso en 1998 involucra una niña de 6 días que padeció meningitis.
Número de defunciones:
Fuente:
Síntomas: Bacteremia. Meningitis
Observaciones:
Reportado por: Block et al., 2002

Año del brote: 1997
 Lugar:
 Número de neonatos o niños afectados: 1
 Edades (post-natales): 7 días
 Otros datos:
 Número de defunciones: 0
 Fuente: Desconocida
 Síntomas: Meningitis
 Observaciones:
 Reportado por: Weekly Report , 1997

Año del brote: 1998
 Lugar: Bruselas, Bélgica
 Número de neonatos o niños afectados: 12
 Edades (post-natales): 5 a 56 días
 Otros datos:
 Número de defunciones: 2
 Fuente: Fórmula infantil
 Síntomas: Enterocolitis necrotizante
 Observaciones: Unidad de cuidados intensivos de neonatos. Los 12 neonatos peso menor 2.000g y alimentados con fórmula infantil; 10 de los 12 fueron alimentados con la misma marca de fórmula infantil en polvo (Nestle Alfare). *Enterobacter sakazakii* fue aislado de varias latas no abiertas del mismo lote.
 Reportado por: Van Acker *et al.*, 2001

Casos del brote

Nº Paciente	Días de vida	Sexo	Peso al nacer (g)	Edad gestacional (semanas)	Complicaciones/Síntomas	Resultado
1	56	M	850	27	Enterocolitis necrotizante	
2	17	F	1.930	31	Enterocolitis necrotizante	
3	41	M	995	27	Gemelo/ Enterocolitis necrotizante	Falleció
4	33	M	965	27	Gemelo/ Enterocolitis necrotizante	Falleció
5	40	F	815	29	Enterocolitis necrotizante	
6	23	F	1.200	28	Enterocolitis necrotizante	
7	9	M	1.100	28	Enterocolitis necrotizante	
8	40	F	590	27	Enterocolitis necrotizante	
9	18	F	1.350	31	Enterocolitis necrotizante	
10	10	F	1.490	32	Enterocolitis necrotizante	
11	8	M	1.290	32	Enterocolitis necrotizante	
12	5	M	1.550	30	Enterocolitis necrotizante	

Año del brote: 1999-2000
Lugar: Jerusalén, Israel
Número de neonatos o niños afectados:
Edades (post-natales):
Otros datos: Neonatos prematuros
Número de defunciones:
Fuente: Fórmula infantil preparada y ambiental
Síntomas:
Observaciones: En el hospital. La bacteria no pudo ser aislada de la fórmula infantil en polvo; pero se aisló de la fórmula preparada y una mezcladora de la cocina en donde se preparaba la fórmula.
Reportado por: Block *et al.*, 2002

Año del brote: 1999-2000
Lugar: Jerusalén, Israel
Número de neonatos o niños afectados: 2
Edades (post-natales): 4 días y 9 días
Otros datos: Unidad de cuidados intensivos de neonatos. Ambos bebés con bajo peso al nacer: 2.100g y 600g. Una niña nacida a término y fue alimentada con fórmula infantil en polvo. El otro un varón nacido prematuro alimentado con fórmula infantil en polvo por vía enteral.
Otros 3 neonatos de 3, 4 y 8 semanas estaban colonizados por la bacteria pero no desarrollaron infección.
Número de defunciones: 0
Fuente: Mezclador de la cocina en donde se reconstituían las fórmulas lácteas en polvo. Tenía una pequeña rajadura y continuó dando positivo el test para detectar *Enterobacter sakazakii* por 5 meses.
Síntomas: 1 de los casos padeció sepsis, el otro sepsis y meningitis.
Observaciones:
Reportado por: Bar-Oz *et al.*, 2001

Año del brote: 1999-2000
Lugar:
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 3 años
Otros datos:
Número de defunciones: 0
Fuente:
Síntomas: Bacteremia
Observaciones:
Reportado por: Lai, 2001

Año del brote: 2000
Lugar: Wiston Salem, Norte de California, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 6 días
Otros datos: Sexo: femenino. Peso al nacer: 3.300g. Semanas de gestación: 35
Número de defunciones: 0
Fuente:
Síntomas: Meningitis
Observaciones: Sin secuelas aparentes.
Reportado por: Burdette y Santos, 2000

Año: 2001
Lugar:
Número de neonatos o niños afectados: 11
Edades (post-natales): 11 días
Otros datos:
Número de defunciones: 1
Fuente: Fórmula infantil
Síntomas: Meningitis, enterocolitis
Observaciones:
Reportado por: Himelright *et al.*, 2002

Año del brote: 2001
Lugar: Tennessee, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): neonato
Otros datos: Masculino. Peso al nacer 1.270g. Semanas de gestación: 33,5. Hospitalizado en la unidad de cuidados intensivos de neonatos.
Número de defunciones: 1
Fuente: Fórmula infantil en polvo
Síntomas: Meningitis.
Observaciones: El lote de fórmula implicado fue retirado del mercado por la fábrica. El personal del hospital revisó atentamente los pasos que se siguieron para la preparación de la fórmula en polvo y no encontró errores. Para prevenir otras infecciones el hospital hizo severos cambios: Las fórmulas para los pacientes de cuidados intensivos de neonatos no serán en polvo sino la fórmula líquida lista para consumir con esterilidad comercial; de precisar que se prepare una fórmula especial se realizará en sala acondicionada. El tiempo de administración se redujo de 8 a 4 horas.
Reportado por: Weekly report, 2002

Año del brote: 2001
Lugar: Knoxville, Tennessee, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 3
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones: 1
Fuente: Fórmula infantil en polvo para individuos con problemas nutricionales y de mala absorción.
Síntomas: Meningitis
Observaciones: Unidad de cuidados intensivos de neonatos. Se investigaron 49 niños: 10 dieron positivos a *Enterobacter sakazakii* y 1 murió de meningitis. De esos 10 estaban colonizados pero no presentaron síntomas. Como medida redujeron el tiempo de administración de biberones de 8 a 4hs.
Reportado por:

Año del brote: 2002
Lugar:
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 4 días
Otros datos:
Número de defunciones: 1
Fuente: Desconocida
Síntomas: Meningitis
Observaciones:
Reportado por: Safetylist

Año del brote: 2002
Lugar: Wisconsin, Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente:
Síntomas:
Observaciones:
Reportado por: CDC (unpublished data)

Año del brote: 2003
Lugar: Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 6
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente:
Síntomas:
Observaciones:
Reportado por: CDC (unpublished data)

Año: 2004
Lugar: Estados Unidos de América
Número de neonatos o niños afectados: 2
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente:
Síntomas:
Observaciones:
Reportado por: CDC (unpublished data)

Año del brote: 2004
Lugar: Nueva Zelanda
Número de neonatos o niños afectados: 1
Edades (post-natales): 5 días
Otros datos: prematuro, 33 semanas de gestación. Alimentado con leche materna y fórmula infantil.
Número de defunciones: 1
Fuente: Fórmula infantil en polvo
Síntomas: Daños neurológicos, meningitis
Observaciones: Luego de éste caso se siguió investigando en la unidad de cuidados intensivos de neonatos y se encontró otros cuatro bebés colonizados por la bacteria.
Reportado por: Jarvis, 2005
Ministry of Health, 2005

Año del brote: 2004

Lugar: Francia

Número de neonatos o niños afectados: 9

Edades (post-natales):

Otros datos: Los niños eran prematuros y con bajo peso al nacer (menor a 2.000g). Excepto el niño que padeció colitis entero hemorrágica que su gestación fue de 37 semanas y su peso era de 3.250g. Los 2 niños que fallecieron fueron alimentados desde el nacimiento con fórmula infantil en polvo.

Número de defunciones: 2

Fuente: Fórmula infantil en polvo hipoalergénica Pregestimil®

Síntomas: Meningitis (2), conjuntivitis (1), colitis entero hemorrágica (1) y colonización (5)

Observaciones: De ésta fórmula infantil 4 lotes implicados producidos durante un período de 6 meses estaban contaminadas con niveles de 1 a 10 UFC/100g. Dos de los lotes que tenían la mayor contaminación fueron los que afectaron a 8 de los 9 casos. Cinco hospitales fueron investigados: uno de ellos no cumplían con los procedimientos recomendados de preparación, manejo y almacenamiento de los biberones. Cuatro hospitales almacenaban la fórmula reconstituida por periodos mayores a 24 horas, en heladeras domésticas en las cuales no poseen un control trazable de la temperatura. Uno de los lotes implicados de fórmula había sido enviado a Algeria, no se reportaron casos de ese país.

Reportado por: In VS, 2006

Coignard *et al.*, 2006

Año del brote: 2005

Lugar: La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Número de neonatos o niños afectados: 1

Edades (post-natales): 34 días

Otros datos: Sexo: masculino. A los pocos días de su nacimiento presentó un problema de regurgitación (reflujo), por lo que le recetaron leche Enfamil AR.

Número de defunciones: 0

Fuente: Fórmula en polvo para lactante con reflujo fisiológico. Enfamil AR

Síntomas: problemas estomacales, fiebre, diarrea y vómitos

Observaciones: Al recurrir a la clínica por estos síntomas debió permanecer 12 horas internado. Manifestaron que no se trataba del problema original del bebé, sino de lo que estaba consumiendo, y que podía ser una intoxicación. Al ver la leche que estaba consumiendo los profesionales de la clínica advirtieron un color amarillo muy fuerte y un olor intenso; no se le administró más esa leche. A los pocos días el bebé ya estaba bien. La denuncia realizada por el padre hizo que se investigara y encontrara *Enterobacter sakazakii* en ese producto (Enfamil AR). Esto implicó la prohibición de la venta de esa marca en Argentina. Se cree que posiblemente el niño no sufrió infección por esta enterobacteria por no presentar otros tipos de síntomas más característicos de la misma; pero sirvió para alertar a la industria y a la población.

Reportado por: Periódicos de difusión pública de Argentina, 2005.

Año del brote: 2005

Lugar: Estados Unidos de América

Número de neonatos o niños afectados: 2

Edades (post-natales):

Otros datos:

Número de defunciones:

Fuente:

Síntomas:

Observaciones:

Reportado por: CDC (unpublished data)

Año del brote: 2006
Lugar: Francia
Número de neonatos o niños afectados: 2
Edades (post-natales):
Otros datos:
Número de defunciones:
Fuente:
Síntomas:
Observaciones:
Reportado por: In Vs, 2006

Esta serie de casos aislados y brotes de neonatos infectados con *Enterobacter sakazakii* pone en evidencia: los grupos vulnerables y la baja frecuencia de enfermedad con una muy alta gravedad.

Cabe destacar que en varios de estos reportes se pudo detectar la mala manipulación en los procesos de preparación y almacenamiento de las fórmulas infantiles en polvo en los hospitales.

En Argentina, el caso aislado del bebé de la Ciudad de la Plata en verdad se cree que su enfermedad no estuvo relacionada con la bacteria *Enterobacter sakazakii*; sin embargo permitió alertar a la comunidad la presencia de la misma en los preparados en polvo para lactantes comercializados en nuestro país.

8 - Una denuncia desató la investigación

En el año 2005 en la ciudad de La Plata, Provincia de Buenos Aires un padre denunció que su bebé presentaba cuadro de gastroenteritis debido al consumo de la fórmula Enfamil AR. El primer llamado telefónico fue a la distribuidora del producto en Capital Federal. La distribuidora solicitó se le remiera la fórmula infantil con la promesa de que se la cambiarían por otra. El padre del consumidor trató de denunciar en distintos lados de la ciudad de La Plata: Municipalidad, Bromatología, Defensa del Consumidor y Ministerio de Salud; hasta que llegó al Instituto Nacional de Alimentos (INAL) donde le pidieron el código que tenía el envase.

El INAL comenzó así su investigación; pidió el testeó de esa partida pero no se encontraron latas para la venta. Los análisis se realizaron en los laboratorios del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires; se confirmó la presencia de *Enterobacter sakazakii* en 4 muestras intervenidas sobre un total de 46 analizadas. Esto motivó la prohibición de la venta y distribución del producto en todo el país y el alerta al público a través de la prensa.

A continuación se describen brevemente los hechos acontecidos a partir de este suceso:

* **28/07/2005** Por medio del Boletín Oficial. Disposición N° 4178/05. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT).

Se prohibió la comercialización en todo el territorio nacional del producto "Alimento en polvo, a base de leche descremada, almidón de arroz, lactosa, aceites, con vitaminas y minerales para lactantes", marca Enfamil AR (fórmula en polvo para lactante con reflujo fisiológico), Laboratorio Med Johnson, importado de México por Bristol Myers Squibb Argentina S.A., R.N.P.A. N° 53-07037543, R.N.E. N° 010030341, por tratarse de un alimento contaminado. Se ordenó a la firma a que proceda al retiro del mercado de todos los lotes del producto mencionado.

* **12/08/2005** Por medio del Boletín Oficial. Disposición N° 4371/2005. ANMAT.

Se prohibió la comercialización y uso de los productos:

Enfamil 1 con Hierro -R.N.P.A. N° 5307045993

Enfamil sin Lactosa - R.N.P.A. N° 0530023

Enfamil Soya - R.N.P.A. N° 0530022

Enfamil Prematuros - R.N.P.A. N° 5307037463

Enfamil 2 con Hierro - R.N.P.A. N° 0530001

* **24/05/2006** Disposición N° 2930/06. ANMAT.

Se realizó el retiro preventivo del mercado de la Fórmula láctea en polvo con hierro para lactantes de inicio marca NAN 1, Nestlé Argentina S. A., R.N.P.A. N°: 0270217, R.N.E. N° 00014591, lote N°: 5248121521, peso: 1Kg. Se alertó a la población que se abstenga de consumir ese lote en cualquiera de sus tamaños. Se notificó a la empresa para que proceda al retiro del producto del mercado.

Esta medida de carácter preventivo se realizó a raíz de los análisis efectuados por la Dirección General de Higiene y Seguridad Alimentaria del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires cuyos resultados dieron positivos a la presencia de *Enterobacter sakazakii* en 333g. Se toma la medida para proteger la salud de los consumidores y hasta tanto se resolviera el proceso de investigación realizado por el INAL.

* **25/05/2006** Nestlé publicó una solicitada anunciando el retiro del mercado. Diario La Nación.

* **25/05/2006** Noticia en los diarios: falleció el 19/05/2006 un bebé salteño de 22 días. En el hospital donde fue atendido informaron que murió aparentemente por una bacteria que habría atacado sus pulmones. Se sospechó que podría tener que ver con el consumo de leche maternizada cuya partida fue retirada del mercado por la empresa fabricante.

* **28/05/2006** En los diarios aparece la noticia de trillizas de 3 meses del Bajo Flores fallecieron el 25/05/2006; su madre sostenía de que le daba fórmula láctea de Nestlé Nidina.

A este caso se le sumó el de una pequeña de dos meses que sufrió un severo cuadro de fiebre, vómitos y taquicardia en la localidad bonaerense de Libertad, Merlo. La nena terminó en el Hospital Posadas, donde comenzó a evolucionar favorablemente tras empezar a consumir otra leche.

* **14/06/2006** Se levantó la prohibición de comercialización del producto "Fórmula Láctea en Polvo con Hierro para Lactantes de 0 a 6 meses" marca: Nestlé, NAN1, R.N.E. N° 00014591, R.N.P.A. N°0270217, lote N°: 5248121521, elaborado por Nestlé Brasil Ltd. Importado por Nestlé Argentina S. A.

El INAL realizó una inspección en el depósito de la firma Nestlé Argentina S. A. en Tortuguitas, Provincia de Buenos Aires, en el cual se obtuvieron muestras del producto. De estas se realizó el análisis y concluyeron que eran microbiológicamente aptas para el consumo. Por consiguiente se levantó la prohibición de su comercialización.

* **20/10/2006** Se levantó la prohibición de comercialización de los productos: Enfamil AR, Enfamil 1 con Hierro, Enfamil sin lactosa, Enfamil soya, Enfamil prematuros y Enfamil 2 con hierro. Debido a que se auditó el establecimiento Bristo Myers Squibb de México para determinar que el establecimiento respondía a estándares internacionales del *Codex Alimentarius*. Se informó que en la planta se aplicaban Buenas Prácticas de Fabricación y solo presentaban algunas anomalías no graves. Se realizó el análisis de un lote de Enfamil Premiun 1 con Hierro de acuerdo a las especificaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana dando como resultado apto para el consumo.

* **04/11/2006** Las trillizas de tres meses que fallecieron en mayo se debió a ingesta de alcohol y no de fórmula láctea contaminada.

* **08/11/2006** En el Tercer Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos el grupo de investigación liderado por el Licenciado Sergio Epszteyn expuso un poster en el que se presentaron cifras alarmantes:

Analizaron en total 179 muestras de fórmulas lácteas de distinto tipo, de 42 lotes diferentes; y se detectó contaminación por *Enterobacter sakazakii* en 103 muestras correspondientes a 5 lotes de anti-reflujo y a 3 lotes de fórmulas fortificadas con hierro. El lote más distribuido en la población mostró la mayor proporción de muestras contaminadas (por lo menos el 95%).¹⁷

* **05/01/2007** Retiro preventivo del mercado de las fórmulas para lactantes de bajo peso al nacer marca Nutrilon Prematuros de Nutricia Bagó por 400g, origen Holanda, por haberse detectado *Enterobacter sakazakii*. Importado por Kasdorf S.A., R.N.E.N° 00000013, R.N.P.A.N° 0660070, lote N° 202255, fecha de vencimiento 23/06/2008. Se advirtió a la población que se abstenga de consumir ese producto. Nutricia Bagó cumplió con el retiro preventivo.

9 - Investigación práctica

El propósito del práctico es identificar una cepa de *Enterobacter sakazakii* utilizando la metodología propuesta por la Norma ISO/TS 22964:2006. De manera adicional se realizó una tinción de Gram a la cepa dando las características típicas: bacilo Gram-negativo.

Para esta investigación:

- Se compró una cepa de *Enterobacter sakazakii* (ATCC 51329).
- Se utilizó como matriz fórmula en polvo para lactantes prematuros.



Identificación de la muestra	Descripción de la muestra
1	"Nutrilon prematuros" Nutricia Bagó
2	Duplicado muestra 1
3	"PRE NAN" Nestlé
4	Duplicado muestra 3
5	Fórmula en polvo para lactantes prematuros con la adición de $0,1\text{mL} \times 10^{-6}$ ufc de <i>Enterobacter sakazakii</i>
Control positivo (C +)	<i>Enterobacter sakazakii</i>
Control negativo (C -)	-

Preparación del inóculo:

Se realizó un repique de *Enterobacter sakazakii* a partir de un cultivo de reserva en caldo tripticasa de soja (TSB).

Se incubó a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas.

Se prepararon diluciones decimales sucesivas (hasta 10^{-6}) en tubos con 9mL de agua de peptona al 0,1% (AP). (Esta misma dilución se utilizó para inocular la muestra 5 y el control positivo)

Se sembró de la dilución 10^{-6} : 0,1mL en una placa de Petri con el agregado de agar para recuento total (PCA). Siembra en profundidad.

Se incubó la placa a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas.

Se realizó el recuento de la placa con el fin de determinar la concentración del microorganismo inoculado en la muestra 5. Resultó = $110 \text{ ufc}/0,1\text{mL} \times 10^{-6}$.

Enriquecimiento previo:

Se pesaron 10g de cada muestra.

Se adicionaron con 90mL de agua peptona tamponada (APB).

A la muestra número 5 (matriz con APB) se la inoculó con $0,1\text{mL} \times 10^{-6}$ de *Enterobacter sakazakii*. Por los datos obtenidos en el recuento en placa ($110 \text{ ufc}/0,1\text{mL} \times 10^{-6}$) se estima que se agregó a la bolsa $1,1 \times 10^9$ ufc de *Enterobacter sakazakii*.

Control positivo: 90mL APB inoculados con $0,1\text{mL} \times 10^{-6}$ de *Enterobacter sakazakii*. Por los datos obtenidos en el recuento en placa ($110 \text{ UFC}/0,1\text{mL} \times 10^{-6}$) se estima que se agregó a la bolsa $1,1 \times 10^9$ ufc de *Enterobacter sakazakii*.

Control negativo: 90mL APB sin inocular.

Se homogeneizaron.

Se incubaron a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 16 a 20 horas.

**Enriquecimiento selectivo:**

Se tomaron 0,1mL de los homogenatos y se los colocaron en tubos con 10mL caldo triptosa lauril sulfato modificado con solución de vancomicina (mLST/vancomycin).

Se incubaron a $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 22 a 26 horas.

**Aislamiento selectivo:**

Se tomó de cada tubo con un asa de rulo el cultivo y se aisló por agotamiento en una placa de agar cromogénico COMPASS (Biokar).

En otras placas de agar cromogénico se sembraron otras bacterias pertenecientes a la familia de las *Enterobacteriaceae* con el propósito de observar la diferencia entre las colonias desarrolladas sobre este medio.

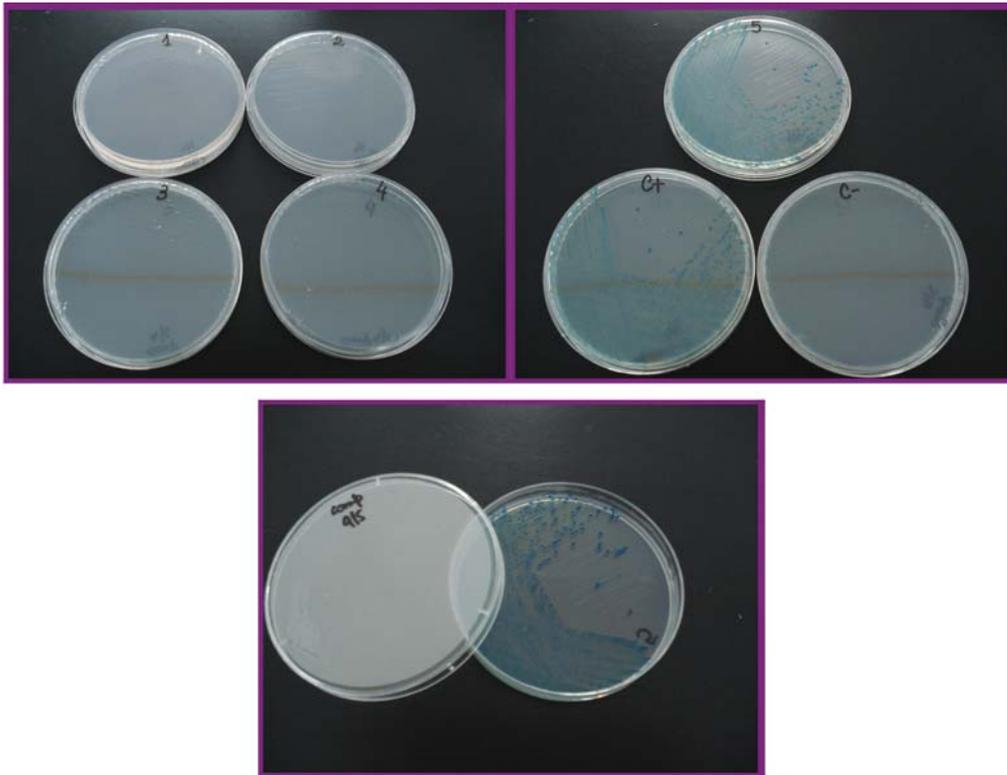
A su vez al agar cromogénico se le practicó la prueba ecométrica para garantizar la productividad y selectividad del medio de cultivo; es decir, su buen funcionamiento. Cepas de *Staphylococcus aureus* y *Enterobacter sakazakii*.

Se incubaron a $44\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 22 a 26 horas.

Observación de las placas:

Las placas pertenecientes a las muestras 1, 2, 3 y 4 no presentaron desarrollo; al igual que el control negativo.

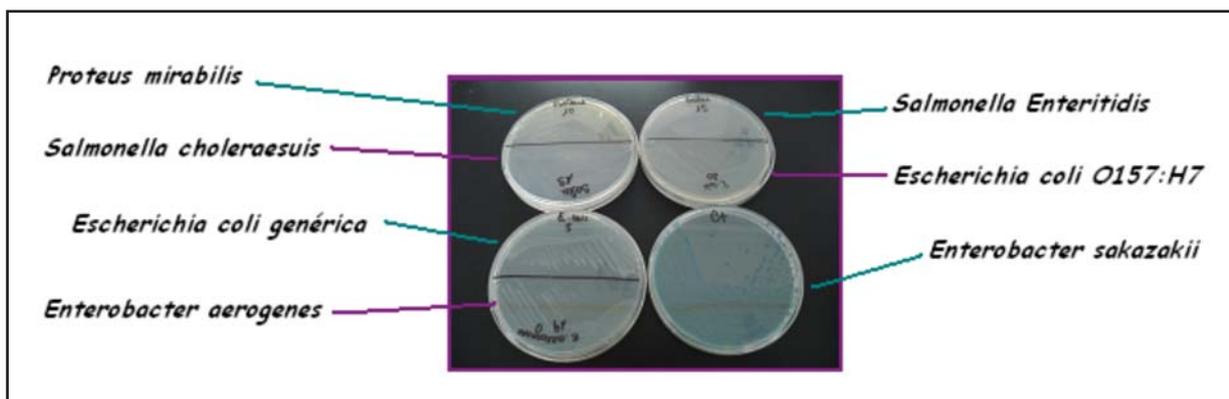
La placa 5 y el control positivo presentaron colonias típicas: pequeñas de aproximadamente 3mm verdes azuladas.



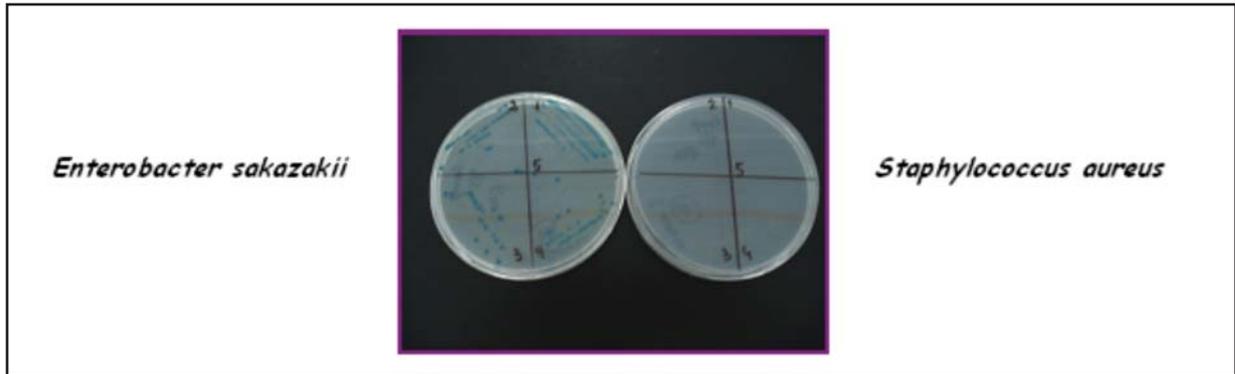
Las placas sembradas con otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* mostraron colonias atípicas, transparentes tenues y/o coloreadas de violeta.

Esto se debe a que está demostrado que el 100% de las cepas de *Enterobacter sakazakii* son positivas a la enzima α -glucosidasa y no lo las demás bacterias del género *Enterobacter*.

La enzima α -glucosidasa hidroliza al X- α -glucosido (sustrato presente en el agar cromogénico) y libera el sustrato 5-bromo-4-cloro-indol. En presencia del oxígeno este compuesto se desmineraliza y forma el pigmento bromo-cloro-índigo.



Las placas de agar cromogénico preparadas para la prueba ecométrica dieron los resultados esperados. En la placa en la cual se sembró *Staphylococcus aureus* no presentó desarrollo; en cambio, la de *Enterobacter sakazakii* presentó el máximo nivel de desarrollo.

**Confirmación:**

Se seleccionaron colonias típicas presuntivas de *Enterobacter sakazakii* de la muestra 5 y del control positivo.

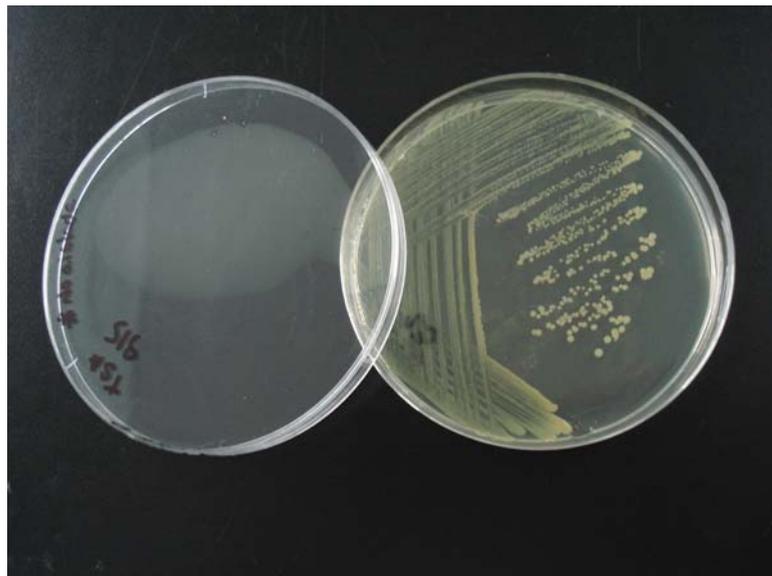
Se sembraron sobre agar tripticasa de soja (TSA).

En otras placas de agar TSA se sembraron otras bacterias pertenecientes a la familia de las *Enterobacteriaceae* con el propósito de observar la diferencia entre las colonias desarrolladas sobre este medio.

Se incubaron a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 44 a 48 horas.

Observación de las placas:

Las placas sembradas (muestra 5 y el control positivo) presentaron colonias típicas: amarillas.



Las placas sembradas con otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* mostraron colonias atípicas: sin producción de pigmento amarillo.





Caracterización bioquímica:

Se suspendió material con pigmento amarillo en solución fisiológica.

Se procedió a la siembra de los microtubos del sistema API 20E de Biomerieux.

Se incubó a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18-24 horas

Lectura del API 20E:

Test	Componentes activos	Reacciones/enzimas	Resultado
ONPG	2-nitro-fenil- β D-galactopiranosidasa	β -galactosidasa (orto-nitro-fenil- β D-galactopiranosidasa)	+
ADH	L-arginina	Arginina-dihidrolasa	+
LDC	L-lisina	Lisina Descarboxilasa	-
ODC	L-ornitina	Ornitina Descarboxilasa	+
CIT	citrato trisódico	utilización del citrato	+
H ₂ S	tiosulfato sódico	producción de H ₂ S	-
URE	urea	ureasa	-
TDA	L-triptófano	Triptofano Desaminasa	-
IND	L-triptófano	producción de Indole	+
VP	piruvato sódico	producción de acetoína (Voges Proskauer)	+
GEL	gelatina	Gelatinasa (gelatina)	+
GLU	D-glucosa	Fermentación/oxidación glucosa	+
MAN	D-manitol	Fermentación/oxidación manitol	+
INO	inositol	Fermentación/oxidación inositol	+
SOR	D-sorbitol	Fermentación/oxidación sorbitol	+
RHA	L-ramnosa	Fermentación/oxidación rhamnosa	+
SAC	D-sacarosa	Fermentación/oxidación sacarosa	+
MEL	D-melibiosa	Fermentación/oxidación melibiosa	+
AMY	Amigdalina	Fermentación/oxidación amygdalina	+
ARA	L-arabinosa	Fermentación/oxidación arabinosa	+
OX*		citocromo oxidasa	-

* El ensayo de oxidasa no se encuentra en los microtubos del API 20E. Se realizó la reacción sobre un disco de oxidasa; dando un resultado negativo, tal cual corresponde.



CE 07223 C REF: 5

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

API 20 E

1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4

ONPG ADH LDC ODC CIT H₂S URE TDA IND LYE GEL GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA OX NO₂ N₂ MOB McC OF-D OF-F

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :

Imprimé en France / Printed in France

BUENA IDENTIFICACION

Galería	API 20 E V4.1
Perfil	3 3 4 7 7 7 3
Nota	POSIBILIDAD DE <i>Enterobacter cloacae</i>

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Enterobacter sakazakii</i>	97.8	0.59	IND 25% GEL10% SOR 8%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Serratia odorifera</i> 1	2.1	0.3	ADH 0% LDC95%

Pruebas complementarias(s)	AMARILLO	ESC (HYD.)
<i>Enterobacter cloacae</i>	0%	30%
<i>Enterobacter sakazakii</i>	98%	100%

Estos análisis se realizaron con el único fin de poder experimentar algunas de las características de la bacteria en el laboratorio.

Discusión

Como profesionales de la salud debemos, en primer lugar, proteger y promocionar la lactancia materna. En aquellos casos, que la nutrición del lactante deba ser a través de fórmulas en polvo, es nuestra misión: informar a quienes se ocupan de alimentar a los bebés acerca de las normas de higiene básicas en relación con la manipulación, almacenamiento y preparación de los preparados. Previamente, deberíamos unificar criterios en las recomendaciones dirigidas a los padres o cuidadores en lo que respecta a la preparación y manipulación de los biberones.

Enterobacter sakazakii fue aislado de fórmulas en polvo para lactantes de diferentes marcas líderes del mercado en varios países; sin embargo, como consumidores tendemos a pensar que: al ser tan reconocida la marca no nos va a enfermar. Por ello, es preciso advertir, que no se tratan de productos estériles y pueden estar contaminados pudiendo causar graves enfermedades en los lactantes.

Debido a las limitaciones en los sistemas de control actuales y la amplia utilización de los preparados en polvo para lactantes en todo el mundo, la posible presencia de éste microorganismo patógeno en los productos y sus potenciales efectos en los lactantes podría constituir un significativo problema de salud pública.

A nivel mundial, se deberían mejorar los sistemas de vigilancia de las enfermedades para poder contar con la verdadera epidemiología originada por éste microorganismo.

Las autoridades sanitarias de todo el país deberían unirse para lograr una apropiada vigilancia de estos productos y para ello es preciso: adoptar rápidamente un nuevo criterio microbiológico, con procedimiento de análisis reconocido internacionalmente, para evaluar *Enterobacter sakazakii* en las fórmulas en polvo para lactantes.

Las investigaciones realizadas en los laboratorios del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires fueron las pioneras de carácter oficial en busca de *Enterobacter sakazakii* en las fórmulas en polvo para lactantes, sirviendo como antecedente.

Es necesario, promover la investigación a fin de conocer mejor la ecología, taxonomía, virulencia y otras características de ésta bacteria.

La industria de la alimentación infantil debe: reducir al mínimo la posibilidad de que sus productos se encuentren contaminados y seguir investigando la forma en que se pudiera esterilizar este producto.

Creo conveniente, que las empresas en sus etiquetas deberían colocar un instructivo universal de preparación del biberón elaborado por un organismo oficial reconocido. Con la única diferencia: las proporciones de las medidas que se deban agregar de polvo y agua. Hoy en día, por ejemplo: fórmulas en polvo que se encuentran en el mercado para bebés prematuros, una de las latas en el instructivo de preparación omite: el lavado previo de las manos, la advertencia de que se administre inmediatamente después de preparado, que una vez finalizada la toma los utensilios deben ser lavados y que no se vuelve a utilizar resto de preparado reconstituidos que hallan quedado en el biberón. Todos estos puntos que se olvidaron de poner en el instructivo pueden dar lugar a la manipulación del producto y su consecuente contaminación.

A nivel hospitalario, se deberían rever las prácticas higiénicas de reconstitución de los preparados en polvo, reduciendo el tiempo que media entre la preparación y la administración, evitando la multiplicación del microorganismo. Se debería poner especial cuidado en la limpieza adecuada de equipos (uno de los equipos de los que se pudo aislar la bacteria en distintos brotes fue la mezcladora), escobillas y otros. Los cuidadores y el personal hospitalario que tienen a cuidado lactantes de riesgo deben conocer que las fórmulas en polvo para lactantes no son productos estériles, estar regidos por estrictas pautas de higiene y de ser conveniente recurrir al empleo de preparados líquidos estériles.

Cabe destacar, que la opción de alimentar al bebé con fórmulas líquidas estériles, listas para consumo, pueden constituir una alternativa que evita la contaminación intrínseca del producto y disminuye la posibilidad de contaminación que pueda ocurrir durante la preparación del biberón; pero tiene sus desventajas, una de las más importantes es que no permiten modificar la concentración para variar su densidad calórica requerida por el lactante; que si se logra con las fórmulas en polvo.

Como argentinos, tendríamos que aprender del padre que realizó la denuncia a nivel estatal y no accedió al cambio de lata sugerida por la distribuidora. Posiblemente este hombre salvó la vida de muchos lactantes.

Referencias

1. ABBOTT. <http://www.abbott.com/>
2. ANMAT. Preguntas frecuentes acerca de la inocuidad de las fórmulas infantiles. www.anmat.gov.ar (16/01/07)
3. Arts M. *Enterobacter sakazakii* in factories and households. The Lancet, Julio-Agosto 2004, 364 (9432): 414
4. Bacteriología médica. *Enterobacteriaceae*. Capítulos 33, 34y35: 737-771
5. Bergey's Manual. Familia *Enterobacteriaceae*: 465-469
6. Biering G, Karlsson S, Clark N, Jonsdottir K, Ludvigsson P, Steingrímsson O. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. Journal of Clinical Microbiology, Septiembre 1989, 27 (9): 2054-2056
7. Breeuwer P, Lardeau A, Peterz M, Joosten H M. [Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*](#). Journal Of Applied Microbiology, 2003, 95 (5): 967-973
8. Bowen A, Braden C. Invasive *Enterobacter sakazakii* disease in infants. Emerging Infectious Diseases. Agosto 2006. 12(8): 1185-1189
9. CDC. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula – Tennessee, 2001. Weekly Report. Abril 2002, 51(14): 297-300
10. Codex Alimentarius Comisión. Report of The thirty-eight session of the Codex Committee on Food Hygiene. Diciembre 2006
11. Código Alimentario Argentino. Capítulo I, XVII. www.anmat.gov.ar
12. Comisión del Codex Alimentarius. Anteproyecto de la revisión del Código Internacional Recomendado de Prácticas para los Alimentos de Lactantes y Niños Pequeños. Diciembre 2004. www.fao.org (16/01/07)
13. Cordier, J. Medidas para el control de *Enterobacter sakazakii* durante la producción de fórmulas infantiles. En: Tercer Congreso de Microbiología de Alimentos. Buenos Aires. 2006
14. Cordier J. Relating microbiological testing and microbiological criteria to Public Health Goals. 2005
15. Coulin P, Farah Z, Assanvo J, Spillmann H, Puhán Z. Characterisation of the microflora of attiéké, a fermented cassava product, during traditional small-scale preparation. International Journal of Food Microbiology, Febrero 2006, 106 (2): 131-136
16. Drudy D, O'Rourke M, Murphy M, Mullane N, O'Mahony R, Kelly L, "et al". Characterization of a collection of *Enterobacter sakazakii* isolates from environmental and food sources. International Journal of Food Microbiology, Julio 2006, 110 (2): 127-134
17. Epsztejn S, Marey E, Motter M, Ferrer M, Mingorance S, Melamed C. Aislamiento y detección de *Enterobacter sakazakii* en muestras de fórmulas lácteas para lactantes en la Ciudad de Buenos Aires. En: Tercer Congreso de Microbiología de Alimentos. Buenos Aires. 2006
18. Farber J. *Enterobacter sakazakii*—new foods for thought? The Lancet, Enero 2004, 363 (9402): 5-6. / Farber J. *Enterobacter sakazakii* ¿nuevo alimento para el pensamiento? The Lancet. Correo de la SAP. 1171: 24-25.
19. FAO/WHO. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula. Microbiological Risk Assessment Series n°6, Italy; 2004
20. FAO/WHO. *Enterobacter sakazakii* and Salmonella in powdered infant formula. Microbiological Risk Assessment Series n°10: meeting report; 2006
21. FDA. Isolation and Enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. Julio 2002
22. FDA. Microbial Detection of *Enterobacter sakazakii*: Food and Clinical. www.fda.gov (14/4/07)
23. FNS. Food and Nutrition Service. A guide for use in the child nutrition programs. www.fns.usda.gov
24. Guo M, Hendricks G, Kindstedt P. [Component Distribution and Interactions in Powdered Infant Formula](#). International Dairy Journal, Abril 1998, 8 (4): 333-339
25. Gurtler J, Kornacki J, Beuchat L. *Enterobacter sakazakii*: una preocupación creciente para la salud infantil. International Journal of Food Microbiologic. Correo de la SAP. 1172: 25-26
26. Gurtler J, Kornacki J, Beuchat L. *Enterobacter sakazakii*: A coliform of increased concern to infant health. International Journal of Food Microbiology, Septiembre 2005, 104(1):1-34
27. Gutiérrez Rojo R, Torres Chavolla E. Un patógeno emergente en alimentos. Énfasis Alimentación. Octubre/Noviembre 2005, (5): 82-86.
28. Havelaar A, Zwietering M. On the risk of *Enterobacter sakazakii* in infant milk formula. Trends in Food Science & Technology, Febrero 2004, 15 (2): 99-100
29. IBFAN. Red Internacional de Grupos de pro Alimentación Infantil. Preguntas y respuestas acerca

- de *Enterobacter sakazakii* en las fórmulas infantiles en polvo. www.ibfan-alc.org (18/03/07)
30. IFT. Bacteria associated with foodborne diseases. Scientific Status Summary
 31. INFOSAN. *Enterobacter sakazakii* en las formulas infantiles. Enero 2005. www.who.int (16/01/07)
 32. ISO/TS 22964:2006 (E) IDF/RM 210:2006 (E) Milk and milk products- Detection of *Enterobacter sakazakii*
 33. Iversen C, Druggan P, Forsythe S. A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*, a preliminary study. International Journal of Food Microbiology, Noviembre 2004, 96 (2): 133-139
 34. Iversen C, Forsythe S. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacteriaceae* from powdered infant formula milk and related products. Food Microbiology, Diciembre 2004, 21 (6): 771-777
 35. Iversen C, Forsythe S. Response to 'On the risk of *Enterobacter sakazakii* in infant milk formula'. Trends in Food Science & Technology, Febrero 2004, 15 (2): 101-102
 36. Iversen C, Forsythe S. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. Trends in Food Science & Technology, Noviembre 2003, 14 (11): 443-454
 37. Iversen C, Lane M, Forsythe S J. [The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk](#). Letters In Applied Microbiology, 2004, 38 (5): 378-382
 38. Jarvis C. New Investigator Award, Blue Ribbon Abstract Award: Fatal *Enterobacter sakazakii* infection associated with powdered infant formula in a neonatal intensive care unit in New Zealand. American Journal of Infection Control, Junio 2005, 33 (5): 19
 39. Kandhai M C, Reij M, Gorris L, Guillaume-Gentil O, van Schothorst M. *Enterobacter sakazakii* in factories and households. The Lancet, Julio-Agosto 2004, 364 (9432): 414-415
 40. Kandhai M C, Reij M, Gorris L, Guillaume-Gentil O, van Schothorst M. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. The Lancet, Enero 2004, 363 (9402): 39-40
 41. Kim, Hoikyung, Beuchat, Larry R. [Survival and growth of *Enterobacter sakazakii* on fresh-cut fruits and vegetables and in unpasteurized juices as affected by storage temperature](#). Journal Of Food Protection, Diciembre 2005, 68 (12): 2541-2552
 42. Kim H, Ryu J-H, Beuchat L. Survival of *Enterobacter sakazakii* on fresh produce as affected by temperature, and effectiveness of sanitizers for its elimination. International Journal of Food Microbiology, Septiembre 2006, 111 (2): 134-143
 43. Kleiman M, Allen S, Neal P, Reynolds J. Meningoencephalitis and Compartmentalization of the Cerebral Ventricles Caused by *Enterobacter sakazakii*. Journal of Clinical Microbiology, Septiembre 1981, 14 (3): 352-354
 44. Leuschner R, Baird F, Donald B, Cox L. Retraction Notice to A medium for the presumptive detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula [Food Microbiology 2004, 21 (5): 527-533]. Food Microbiology, Junio 2006, 23 (4): 409
 45. Martín de Santos R. *Enterobacter sakazakii*: un patógeno emergente para lactantes de riesgo. <http://weblogs.madrimasd.org> (16/01/07) (Nota: De esta página se tomó la foto de la carátula)
 46. Mayor S. El encuentro FAO/OMS advierte sobre la contaminación en las leches en polvo para bebés. Correo de la SAP: 38
 47. Mead Johnson. www.b-ms.com.ar
 48. Ministerio de Salud Secretaría de Políticas y Regulación Sanitarias Consejo Asesor de la Comisión Nacional de Alimentos. Acta de Reunión del Consejo Asesor de la Comisión Nacional de Alimentos. 31 de Mayo y 1 de Junio de 2006
 49. Monroe P, Tift W. Bacteremia associated with *Enterobacter sakazakii*. Journal of Clinical Microbiology. Diciembre 1979, 10(6): 850-851
 50. Moreno Villares J, Galiano Segovia M, Dalmau Serra J. Preparación y manejo de las fórmulas infantiles en polvo. Reflexiones en torno a las recomendaciones del Comité de Nutrición de la ESPGHAN. Acta pediatr. Esp. 2005, 63: 279-282
 51. Muytjens H, Zanen H, Sonderkamp H, Kollée L, Kaye Wachsmuth I, Farmer J. Analysis of Eight Cases of Neonatal Meningitis and Sepsis Due to *Enterobacter sakazakii*. Journal of Clinical Microbiology, Julio 1983, 18 (1): 115-120
 52. Nazarowec-White M, Farber J. *Enterobacter sakazakii*: a review. International Journal of Food Microbiology, Febrero 1997, 34 (2): 103-113
 53. Nazarowec-White M, Farber J M. [Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula](#). Letters In Applied Microbiology, Enero 1997, 24 (1): 9-13
 54. Nazarowec-White M, McKellar R, Piyasena P. Predictive modelling of *Enterobacter sakazakii* inactivation in bovine milk during high-temperature short-time pasteurization. Food Research In-

- ternational, Junio 1999, 32 (5): 375-379
55. NCBI. National Center for Biotechnology Information. Abstracts www.ncbi.nlm.nih.gov.
 56. Nestlé. www.nestle.com.ar
 57. NNUU (OMS/UNICEF/ONUSIDA/ FNUAP9 El HIV y la alimentación infantil. Pautas para tomadores de decisiones: 9-13
 58. Nutricia Bagó. www.nutricia-bago.com.ar
 59. OMS. Nutrición del lactante y del niño pequeño. Informe de la Secretaría. Diciembre 2004 www.who.int (16/01/07)
 60. OMS. Nutrición del lactante y del niño pequeño. Informe de la Secretaría. Mayo 2005 www.who.int (16/01/07)
 61. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of Ziziphora clinopodioides. Food Control, Mayo 2007, 18 (5) Volume 18, Issue 5, May 2007: 535-540
 62. Poirel L, Nordmann P, De Champs C, Eloy C. Nosocomial spread of QnrA-mediated quinolone resistance in *Enterobacter sakazakii*. International Journal of Antimicrobial Agents, Septiembre 2006, In Press, Corrected Proof, Available online: www.sciencedirect.com.
 63. Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
 64. Reyad Shaker, Tareq Osaili, Wail Al-Omary, Ziad Jaradat, Mahmoud Al-Zuby. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter sp.* from food and food production environments. Food Control, Octubre 2006, In Press, Corrected Proof, Available online: www.sciencedirect.com.
 65. Rosset P, Noel V y Morelli E. Time-temperature profiles of infant milk formula in hospitals and analysis of *Enterobacter sakazakii* growth. Food Control, Noviembre 2006, In Press, Corrected Proof, Available online: www.sciencedirect.com.
 66. Sancor. www.sancor.com.ar
 67. Sociedad Argentina de Nutrición "Guía de alimentación para niños sanos de 0 a 2 años". 2001: 46-48
 68. Soriano J, Rico H, Moltó J, Mañes J. Incidence of microbial flora in lettuce, meat and Spanish potato omelette from restaurants. Food Microbiology, Abril 2001, 18 (2): 159-163
 69. Stoll B, Hansen N, Fanaroff A, James A. *Enterobacter sakazakii* is a rare cause of neonatal septicemia or meningitis in vlbw infants. "Lemons and for the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network". The Journal of Pediatrics, Junio 2004, 144 (6): 821-823
 70. Telang S, Berseth C, Ferguson P, Kinder J, Deroin M, Petschow B. Fortifying Fresh Human Milk with Commercial Powdered Human Milk Fortifiers Does Not Affect Bacterial Growth During 6 Hours at Room Temperature. Journal of the American Dietetic Association, Octubre 2005, 105 (10):1567-1572
 71. Townsend S, Caubilla Barron J, Loc-Carrillo C, Forsythe S. The presence of endotoxin in powdered infant formula milk and the influence of endotoxin and *Enterobacter sakazakii* on bacterial translocation in the infant rat. Food Microbiology, Febrero 2007, 24 (1): 67-74
 72. van Acker J, de Smet F, Muyldermans G, Bougatef A, Naessens A, Lauwers S. [Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula](#). Journal Of Clinical Microbiology, Enero 2001, 39 (1): 293-297
 73. Weir E. Powdered infant formula and fatal infection with *Enterobacter sakazakii*. Public Health JAMC, Junio 2002, 166(12): 1570
 74. Yin Liu, Xiaoning Cai, Xia Zhang, Qili Gao, Xiaochuan Yang, Zejun Zheng, Maohuang Luo, "et al". Real time PCR using TaqMan and SYBR Green for detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. Journal of Microbiological Methods, Abril 2006, 65 (1): 21-31
 75. 3M Petrifilm. *Enterobacter sakazakii* (folleto)
 76. www.medlineplus.gov - Medline Plus
 77. www.msal.gov.ar - Ministerio de Salud Presidencia de la Nación

Anexo

I a Anexo II Reglamentación de la ley 18284. Artículo 14. Inciso d.

d) Cuando se juzgue necesario, se procederá a la extracción de muestras de materia prima, de productos en fase de elaboración o terminados, en número de tres, representativas del lote. Las muestras serán precintadas por medio de sellos o lacres que eviten cambios o sustituciones.

De estas tres muestras, una, considerada original, se empleará para el análisis en primera instancia; la segunda, considerada duplicado, se reservará por la autoridad sanitaria nacional para una eventual pericia de control, y la tercera, triplicado, quedará en poder del interesado para que se analice conjuntamente con el duplicado en la pericia de control o para contraverificación.

En el acta que se levante con los recaudos del Inc c), se individualizará el o los productos muestreados, con detalles de su rotulación, etiquetas y atestaciones adheridas al envase; contenido de la unidad; partida y serie de fabricación y fecha de envasamiento y/o vencimiento en su caso, condiciones en que estaba conservado, naturaleza de la mercadería y denominación exacta del material en cuestión, para establecer la autenticidad de las muestras.

Dentro de los 3 días de realizado el análisis el establecimiento, instituto

o servicio oficial que lo hubiere realizado, por carta certificada con aviso de retorno, notificará su resultado a la firma propietaria del o de los productos, con remisión de copia del o de los pertinentes protocolos. El original y copia de éstos se agregarán al expediente respectivo.

El interesado, dentro del plazo de 3 días de notificado podrá solicitar pericia de control, la que se llevará a cabo dentro de los 10 días con la presencia del o los técnicos que designe, quienes suscribirán el protocolo con el funcionario técnico oficial a cargo de la pericia.

El resultado de la pericia de control se agregará al expediente, el que será elevado dentro del plazo de cuarenta y ocho (48) horas, para la iniciación del sumario de práctica si correspondiere.

El resultado del análisis se tendrá por válido y se considerará plena prueba de la responsabilidad del imputado, si en el término establecido en el quinto párrafo de este inciso no se solicitare pericia de control o habiéndola solicitado no compareciera a ésta.

I b Ley 18284 Código Alimentario Argentino. Capítulo I Disposiciones Generales. Artículo 6. Inciso 6. 6. Alimento contaminado: el que contenga:

- a) Agentes vivos (virus, microorganismos o parásitos riesgosos para la salud), sustancias químicas, minerales u orgánicas extrañas a su composición normal, sean o no repulsivas o tóxicas.
- b) Componentes naturales tóxicos en concentración mayor a las permitidas por exigencias reglamentarias.

