

Prevención de la contaminación de los preparados para lactantes a partir de especies de Cronobacter y Salmonella entérica

Traducción libre al Español

Por: Lan Hu, CFSAN, FDA, Laurel, MD

Publicado en SciMedCentral 2017.

Resumen

Los preparados en polvo para lactantes (PIF) y los productos lácteos en polvo no son estériles con el proceso de fabricación actual, y pueden contaminarse con especies de Cronobacter, Salmonella enterica y otros patógenos durante sus fases de producción, almacenamiento y reconstitución. Las especies de Cronobacter son patógenos oportunistas emergentes que causan sepsis, meningitis y enterocolitis necrotizante en lactantes, especialmente en neonatos prematuros, de bajo peso al nacer y en aquellos con otras enfermedades o individuos inmunodeprimidos. Las salmonelas no tifoideas son los patógenos alimentarios más comunes que causan gastroenteritis aguda. Algunos casos pueden evolucionar a bacteriemia, meningitis y osteomielitis, especialmente entre los niños pequeños y las personas inmunodeprimidas. Varios brotes de infecciones por Cronobacter y Salmonella entre lactantes se han relacionado con el consumo de FPI o productos lácteos en polvo contaminados. Es importante conocer las características epidemiológicas, los métodos de detección e identificación y las estrategias preventivas de estas bacterias. Esta mini revisión presentará una visión general de las infecciones causadas por especies de Cronobacter y Salmonella enterica que se asocian a FPI y productos lácteos en polvo entre lactantes y niños pequeños, centrándose en las vías de infección, los brotes, los métodos de detección y las medidas preventivas para comprender la naturaleza de las infecciones y prevenir la contaminación bacteriana.

INTRODUCCIÓN

Los preparados en polvo para lactantes (PIF) y los productos lácteos en polvo son fuentes de nutrientes importantes y críticas para los bebés si la lactancia materna es imposible o insuficiente. Los preparados para lactantes en polvo y los productos lácteos en polvo no son estériles con el proceso de fabricación actual. La FIP y los productos lácteos en polvo pueden contaminarse con especies de Cronobacter (C), Salmonella (S) enterica y otros patógenos durante las fases de producción, almacenamiento y reconstitución. Cronobacter spp. y Salmonella enterica figuran en la lista de patógenos de clase a asociados a la FPI, y estas bacterias constituyen una gran amenaza para la salud infantil [1]. Cronobacter spp. son bacilos anaerobios facultativos, móviles y Gram negativos, y son patógenos oportunistas emergentes que causan sepsis, meningitis y enterocolitis necrotizante entre los lactantes (niños centrados en las vías de infección, los brotes y las medidas preventivas para comprender la naturaleza de la infección y reducir el riesgo.

Infección causada por Cronobacter spp. y Salmonella enterica entre los lactantes

Tras su ingestión a través de alimentos contaminados, como el PIF o los productos lácteos en polvo, Cronobacter spp. o Salmonella enterica causan gastroenteritis. Algunos casos de infección por Cronobacter pueden evolucionar a bacteriemia, meningitis, septicemia, enterocolitis necrotizante y abscesos cerebrales, y estas infecciones pueden causar graves alteraciones neurológicas como hidrocefalia, tetraplejia y retraso del desarrollo [7,8]. En los lactantes, los síntomas de las infecciones por Cronobacter suelen incluir fiebre, mala alimentación, llanto constante, somnolencia y convulsiones. La meningitis por Cronobacter suele producirse en los primeros días o semanas de vida. Por lo general, en Estados Unidos se notifican anualmente entre 4 y 6 casos de infección por Cronobacter en lactantes. Los lactantes prematuros y los inmunodeprimidos corren un alto riesgo de padecer enfermedades graves [1]. Cronobacter también puede causar diversas infecciones en los sistemas digestivo, respiratorio y urinario y en heridas entre niños y adultos, especialmente en ancianos o personas con enfermedades crónicas o inmunodeprimidas.

Los síntomas comunes causados por la ETN son fiebre, vómitos, dolor abdominal y diarrea, suelen aparecer entre 6 y 12 horas después de la infección por Salmonella y pueden durar hasta 10 días [9]. Aunque la gastroenteritis causada por los serovares de la NTS suele ser autolimitada, puede producirse bacteriemia secundaria, especialmente en niños pequeños y en personas con otras enfermedades o inmunocomprometidas [10]. La bacteriemia puede provocar un shock séptico e infecciones en el cerebro, el hígado, el bazo, la vesícula biliar y la médula ósea.

Incidencia, brotes y población susceptible El primer brote documentado de meningitis neonatal debida a *C. sakazakii* se produjo en Inglaterra en 1958 [11,12]. Tras este brote, se han notificado infecciones por Cronobacter en todo el mundo y se ha observado un aumento entre lactantes y niños. El estudio de Muytjens et al. [13], analizó la tasa de contaminación en 141 FIP de 35 países.

Se aisló *C. sakazakii* y otros miembros de Enterobacteriaceae en el 52,5% de los FIP procedentes de 13 países, y la concentración bacteriana era inferior a 1 unidad formadora de colonias (UFC)/g en los productos. Los datos sugieren que los FIP con un bajo nivel de contaminación podrían causar problemas para la salud de los lactantes.

Se ha informado de que la incidencia de *Cronobacter* spp. fue de 1 caso por cada 100.000 lactantes menores de 1 año, y de 8,7 por cada 100.000 lactantes entre los lactantes con bajo peso al nacer, y de 9,3 por cada 100.000 entre los lactantes con muy bajo peso al nacer en Estados Unidos [4,14]. Patrick et al. [15] investigaron 544 casos de infección por *Cronobacter* durante 2003-2009 en 6 estados de Estados Unidos. La incidencia de la infección por *Cronobacter* fue de 0,66 por cada 100.000 habitantes de todas las edades, mientras que el mayor porcentaje de infecciones invasivas se produjo en niños menores de 5 años [15]. En los Países Bajos, los casos de meningitis infectados por *Cronobacter* en toda la población fueron del 0,5-0,7% [16]. En la tabla 1 se resumen varios brotes y casos causados por *Cronobacter* spp. La incidencia de infecciones por *Salmonella* entre lactantes fue de 121,6 casos por 100.000 lactantes en Estados Unidos, y fue aproximadamente 8 veces superior a la incidencia entre otros grupos de edad [17]. Se han documentado varios brotes de *Salmonella* asociados al consumo de FPI [5,6].

La mayoría de estas cepas de *Salmonella* causantes son serovares poco comunes como Ealing, Tennessee, Anatum y Agona. En un brote ocurrido en 1985, 70 personas resultaron infectadas en el Reino Unido, los 48 lactantes entre los casos habían sido alimentados con un producto lácteo en polvo de un fabricante, y *S. Ealing* se aisló de paquetes precintados de PIF [18]. Otro brote (17 casos) se produjo en el Reino Unido y Francia entre lactantes entre 1996-1997, y se confirmó su relación con FPI contaminados por *S. anatum* [19]. Entre 2004-2005 se produjo un brote de *Salmonella* entre lactantes en Francia [20], y se investigaron 141 casos de lactantes, y los síntomas en la mayoría de los casos fueron diarrea acuosa o sanguinolenta y fiebre. Se identificó el mismo patrón de electroforesis en gel de campo pulsado de *S. agona* en las cepas aisladas de las muestras clínicas, PIF y ambientales [5,20].

Vías infecciosas

Cronobacter spp. se ha aislado de diversos alimentos, sustancias alimentarias, fabricantes de alimentos, entornos y tractos digestivos de humanos y animales [21-24]. La FPI se ha identificado como una de las fuentes infecciosas importantes, especialmente en los centros de cuidados neonatales. *Cronobacter* spp. se ha detectado en: (1) alimentos de origen lácteo, como la FIP y los productos lácteos en polvo. (2) alimentos de origen vegetal, como cereales, trigo, arroz, frutas, verduras, legumbres, hierbas y especias. (3) alimentos de origen animal, como carnes, pescados y quesos [4], agua y refrescos [21-24]. Un estudio realizado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (FDA) en 2002 detectó *Cronobacter* en aproximadamente el 23% de las muestras de FIP [25]. Lee et al. también informaron de que se aislaron *Cronobacter* en aproximadamente el 18,6% de las muestras de alimentos [22]. Aparte de los alimentos y el medio ambiente, los roedores y las moscas también sirven como vía de contaminación de *Cronobacter* spp [1]. Las guarderías de los hospitales, los hogares y otros entornos también son

fuentes contaminadas de Cronobacter [26]. Las Cronobacter se aíslan de la mayoría de las muestras clínicas, como sangre, líquido cefalorraquídeo, médula ósea, orina y heces. Se han detectado Cronobacter y Salmonella en PIF y productos lácteos en polvo en fábricas de productos lácteos. La incidencia de contaminación de la FIP fue de aproximadamente el 6,6% en los estudios archivados notificados por la FDA, y de aproximadamente el 2,4-14% en estudios internacionales [13,27-29].

DOSIS INFECCIOSAS

La dosis infecciosa de Cronobacter por ingestión entre los lactantes fue de unas 104 bacterias propuesta por la OMS/FAO en 2007 [1]. La dosis infecciosa puede disminuir en neonatos prematuros o en aquellos con baja acidez estomacal o individuos inmunodeprimidos. La dosis infecciosa varía según los serovares de Salmonellae. Para NTS, la dosis infecciosa es de aproximadamente 103 bacterias por ingestión [30]. Los lactantes, los ancianos o los individuos inmunodeprimidos pueden infectarse con una dosis infecciosa pequeña. Los medicamentos de venta libre, como los antiácidos, o alimentos como la leche pueden reducir la dosis infecciosa al disminuir la acidez estomacal.

PATOGÉNESIS

Las enfermedades bacterianas del tracto gastrointestinal suelen ser el resultado de un complejo conjunto de interacciones entre la bacteria agresora y el huésped. Aunque el mecanismo de patogenicidad y los factores de virulencia de Cronobacter no se conocen bien, Cronobacter puede adherirse, invadir, transitar a través de células epiteliales y endoteliales intestinales y sobrevivir en macrófagos [31,32]. Tras la ingestión de alimentos o agua contaminados, Salmonella se adhiere e invade las células intestinales empleando múltiples factores de virulencia, como flagelos, fimbrias, un sistema de secreción de tipo 3 y plásmidos, para sobrevivir y replicarse, e inducir la infección intestinal y la respuesta inmunitaria [33]. Se ha demostrado que Cronobacter spp. es más resistente al calor, la desecación, los ácidos, el estrés osmótico, la luz ultravioleta y los reactivos antimicrobianos que otros miembros de Enterobacteriaceae.

La alta resistencia contribuye a que Cronobacter sobreviva en alimentos deshidratados como los FIP y los productos lácteos deshidratados, y la resistencia puede atribuirse a su capacidad para adherirse a superficies hidrófilas e hidrófobas, formar biopelículas y expresar factores de virulencia [34-36]. Cronobacter puede tomar los ingredientes de la FPI como nutrientes potenciales para multiplicarse y sobrevivir. Estos ingredientes de los FIP incluyen lactosa, proteínas de suero y soja, aceite vegetal, vitaminas, minerales, jarabe de maíz y maltodextrina de maíz [27]. La Salmonella también puede formar biofilm. La biopelícula formada por celulosa, fimbrias y otras sustancias contribuye a la capacidad de la salmonela para sobrevivir en un entorno de hachís y a los reactivos antimicrobianos [37]. Los factores del huésped parecen desempeñar un papel importante en las infecciones bacterianas. Los lactantes son más susceptibles a las infecciones de patógenos transmitidos por los alimentos, como Cronobacter y Salmonella, que otros grupos de edad, porque sus sistemas digestivo e inmunitario no están

suficientemente maduros para luchar contra los patógenos bacterianos ofendidos, y los lactantes producen menos ácidos estomacales o una acidez estomacal más débil que los de otros grupos de edad.

MÉTODOS DE DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN

Se han desarrollado diversas técnicas para detectar e identificar *Cronobacter* y *Salmonella* a partir de FPI y productos lácteos en polvo. Los métodos tradicionales para el aislamiento y la identificación de *Cronobacter* spp. requieren un paso de preenriquecimiento no selectivo seguido de un cultivo selectivo de enriquecimiento de Enterobacteriaceae (EE) durante toda la noche a 37°C. El caldo EE se inocula en agar glucosa bilis rojo violeta (VRBGA) y se incuba toda la noche a 37°C. Las colonias presuntivas se seleccionan y se cultivan en Trypti case Soy Agar (TSA) durante unos 3 días a 25°C, y las colonias pigmentadas de amarillo se confirman con una tira bioquímica [38]. En el procedimiento de detección de *Cronobacter* del Manual Analítico Bacteriológico (BAM) de la USFDA, las muestras sospechosas de FIP se incuban con agua de peptona tamponada suplementada con antibióticos durante unas 20 h a 37°C. Tras un segundo enriquecimiento en agua de peptona tamponada durante 4-6 h, se extrae el ADN y se utilizan ensayos de reacción en cadena de polímeros (PCR) o PCR en tiempo real para confirmar la bacteria objetivo [39]. Los métodos basados en cultivos para la detección de *Salmonella* consisten en un cultivo de enriquecimiento previo en agua de peptona tamponada no selectiva, un subcultivo en dos caldos selectivos y, a continuación, la inoculación en medios de agar seleccionados (agar xilosa-lisinedeoxicolato (XLD), agar Hektoen enteric (HE), agar verde brillante o agar sulfito de bismuto) a 37 °C durante 24 horas [40].

Un aislado presuntamente positivo suele analizarse mediante serotipado, fagotipado, PFGE y sensibilidad a los antibióticos. Los métodos moleculares para la detección de la ENT incluyen la PCR, la qPCR, la PCR en tiempo real, la espectrometría de masas por ionización de desorción láser asociada a la matriz en tiempo de vuelo (MALDI-TOF-MS), los biosensores y otros. Los genes más populares para diseñar cebadores para ensayos de PCR son el gen de invasión de *Salmonella* *invA*, el gen de la flagelina *fliC*, el gen capsular *viaB*, y otros genes relacionados con la virulencia *hila*, *sopB*, *stn*, *PefA*, *spvC*, y el ARN 16s [41,42]. Se han desarrollado diversos métodos de tipificación y subtipificación de *Salmonella*. Los métodos fenotípicos incluyen el serotipado y la tipificación de la resistencia a los antimicrobianos (AMP), mientras que los métodos genotípicos incluyen la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), el ribotipado y la tipificación de secuencias multilocus (MLST). Los métodos de identificación y subtipado de *Cronobacter* incluyen PCR, ribotipado, secuenciación de genes, electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), tipado de plásmidos y ensayos de serogrupo [38]. Se eligen muchos factores de virulencia y genes de mantenimiento para diseñar cebadores para ensayos de PCR, incluyendo ARN 16S, ARNt, *ompA*, *zpx*, *cpa*, *fhaB* y otros [38,43]. El ensayo PCR multiplex es una herramienta valiosa para identificar rápidamente bacterias sospechosas.

Diseñamos cebadores dirigidos a los genes del segundo mensajero bis-(3'-5') - monofosfato de dimericuanosina cíclico (c-di-GMP) de *Cronobacter* spp. [44]. El gen *cgcA*, uno de los genes c-di-GMP, se

presenta en todas las especies de Cronobacter y se utilizó para diseñar varios conjuntos de cebadores para detectar seis especies de Cronobacter. En el ensayo PCR multiplex, se investigaron 305 cepas de Cronobacter aisladas de diferentes fuentes, incluidos aislados de muestras de FPI. Nuestros resultados demuestran que el método multiplex dirigido al gen *cgcA* es un ensayo altamente sensible y específico y puede identificar rápidamente especies de Cronobacter en una sola reacción [44].

PREVENCIÓN

Las estrategias de prevención de la contaminación bacteriana de la FIP deben centrarse en mejorar la producción, el almacenamiento y la reconstitución de la FIP y en mantener limpios los entornos de los centros de atención sanitaria neonatal y los hogares. La Organización Mundial de la Salud, la USFDA y los CDC han elaborado directrices para la producción, el almacenamiento y la preparación de la FIP [45-48]. El control de la contaminación por Cronobacter y Salmonella es muy difícil en un entorno de procesamiento debido a la naturaleza generalizada de las bacterias y a su alta resistencia al calor, la sequedad, el estrés osmótico, la luz ultravioleta y los reactivos antimicrobianos [35,36]. Investigadores recientes basados en normas microbiológicas internacionales sugirieron que Cronobacter spp. no debería detectarse a partir de 10 g de FPI [49]. Por lo tanto, es fundamental implantar métodos de detección fiables, una vigilancia ambiental eficaz y prácticas higiénicas estrictas durante la producción, el almacenamiento y la reconstitución de la FPI para minimizar la exposición neonatal a los patógenos bacterianos y reducir el riesgo de infecciones graves. La lactancia materna puede prevenir a los lactantes de las infecciones por estas bacterias.

En el caso de los bebés que dependen de la FIP o de los productos lácteos en polvo, es importante seguir unas normas básicas para evitar la multiplicación de los patógenos en los productos. Las reglas básicas pueden incluir (1) elegir leche de fórmula líquida comercial estéril para neonatos, especialmente para neonatos prematuros. (2) Preparar la FPI cuidadosamente para conseguir una temperatura adecuada, una buena higiene personal y un tiempo de mezcla suficiente. La FPI debe consumirse inmediatamente después de ser reconstituida o almacenada a menos de 5°C. (3) Lavar los biberones de leche y mantener limpias las superficies de trabajo de encimeras y fregaderos para minimizar la entrada de Cronobacter en los productos y eliminar cualquier posibilidad de multiplicación bacteriana [45,38]. Se están desarrollando numerosos métodos y tecnologías para reducir/eliminar la posible contaminación bacteriana de la FIP y los productos lácteos en polvo. Estos métodos pueden incluir métodos químicos (dióxido de carbono supercrítico, cobre, ácidos lácticos y monolaurina), físicos (radiación gamma, irradiación por haz de electrones, calor, microondas, luz ultravioleta y radiación infrarroja cercana) y biológicos (péptidos antimicrobianos bioactivos, probióticos y prebióticos) [50-52]. Sin embargo, estos métodos aún están siendo investigados o evaluados para su empleo en FPI y productos lácteos deshidratados por cuestiones de seguridad, sabor, calidad, reproducibilidad y relación coste/beneficio [51,44].

CONCLUSIÓN

La FPI y los productos lácteos en polvo no son estériles. Varios brotes de infecciones por Cronobacter y Salmonella en lactantes se han relacionado con el consumo de FPI o productos lácteos en polvo contaminados. La FPI y los productos lácteos en polvo pueden contaminarse con bacterias patógenas durante las fases de producción, almacenamiento y reconstitución. La característica más destacada de los brotes de infecciones por Cronobacter y Salmonella es que las bacterias se detectan en niveles bajos en la FPI y los productos lácteos en polvo. Los brotes y casos de infecciones pueden representar sólo una pequeña proporción de la incidencia real de infecciones por Cronobacter y Salmonella entre lactantes y niños pequeños. Por lo tanto, deben desarrollarse métodos de detección y cribado más sensibles y fiables para proporcionar FPI y productos lácteos en polvo seguros. En todas las etapas de producción, almacenamiento y reconstitución de FPI y productos lácteos en polvo, es fundamental mantener entornos limpios y normas de higiene estrictas para reducir/eliminar la contaminación y multiplicación bacterianas.

<Referencias en el texto original en inglés.>

NOTA: La traducción libre es una traducción que, respetando el sentido del texto, no sigue fielmente la forma de expresión de la obra original. Los datos y conocimientos del texto no se han alterado y siguen siendo fieles al original. Sin embargo, al no ser una traducción oficial del autor se recomienda leer la fuente original en su idioma original si es posible.

Enlace a la publicación Original:

<https://www.jscimedcentral.com/public/assets/articles/foodprocessing-2-1011.pdf>

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD:

NO reclamamos ningún derecho intelectual sobre el contenido o la información presentada aquí. Todo el contenido/información presentado aquí es propiedad de sus autores originales y/o entidades editoras.
Utilícese únicamente para fines educativos.