



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

TRABAJO DE FÍN DE GRADO

**“Brotos causados por
Cronobacter sakazakii”**

AUTORA: TERESA SIGÜENZA ANDRÉS

TUTOR: EMILIANO QUINTO

Facultad de Medicina

4º GRADO NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

CURSO 2013-2014



Area de Nutrición y Bromatología
Facultad de Medicina y de Ciencias de la Salud
Universidad de Valladolid
C/ Ramón y Cajal 7
47005, Valladolid

Dr. Emiliano José Quinto Fernández, Profesor Titular del Área de Nutrición y Bromatología en la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid

Hace constar:

Que Dña. Teresa Sigüenza Andrés ha realizado, bajo su dirección, el estudio titulado “Brotos causados por *Cronobacter sakazakii*”, que presenta para optar al Título de Grado en Nutrición Humana y Dietética de la Universidad de Valladolid.

Y, para que conste donde corresponda, firmo la presente en Valladolid a doce de Junio de dos mil catorce.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Emiliano", with a long horizontal stroke extending to the right.

Dr. Emiliano José Quinto Fernández

RESUMEN

Cronobacter sakazakii es un bacilo gram-negativo, no esporulado y móvil que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Puede ser considerado como un patógeno reciente pues el primer caso en el ser humano con el que se le relaciona consta de 1958. Además la información sobre él es reducida.

Este microorganismo es ubicuo, es decir, se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente. Se ha hallado especialmente en alimentos deshidratados como la leche en polvo, ya que puede vivir mucho tiempo en entornos secos.

C. sakazakii es un patógeno oportunista relacionado con casos esporádicos o pequeños brotes alimentarios. Los más graves cursan con sepsis, meningitis o enterocolitis necrosante sobretodo en recién nacidos o lactantes, con una tasa de mortalidad que oscila entre el 40 y 80%. Este tipo de infecciones también afectan a personas de edad avanzada, a personas inmunodeprimidas y dentro del grupo de neonatos, son más susceptibles aquellos con bajo peso al nacer y prematuros.

La principal fuente de infección de los neonatos son las leches maternizadas en polvo ya que no son un producto estéril y puede contener esta cronobacteria patógena. Para evitar la contaminación de la fórmula en polvo, hay que llevar a cabo una serie de recomendaciones tanto en la fábrica como en el hogar porque una adecuada preparación y manipulación reduce el riesgo de la enfermedad.

El objetivo del presente trabajo ha sido investigar y buscar todos aquellos brotes y casos esporádicos causados por *C. sakazakii* en los últimos 20 años en Estados Unidos y Europa a pesar de que también los ha habido en otros lugares del mundo. Para ello se han examinado numerosos archivos, estudios, revisiones y páginas oficiales.

PALABRAS CLAVE: *Cronobacter*, *sakazakii*, infección neonatal, brote epidémico, caso esporádico, fórmula infantil.

ÍNDICE

1. Introducción.....	Pág. 1
I. Familia <i>Enterobacteriaceae</i>	
II. Género <i>Cronobacter</i>	
2. <i>Cronobacter sakazakii</i>	Pág. 9
a. Historia	
b. Características microbiológicas	
c. Reservorio y fuentes de infección	
d. Mecanismos de contaminación	
e. Grupos de riesgo	
f. Efectos sobre la salud humana	
g. Incidencia	
3. Objetivos.....	Pág. 14
4. Métodos.....	Pág. 15
5. Relación de los brotes de los últimos 20 años.....	Pág. 18
a. Epidemiología	
b. Resultados	
✓ Brotes en EE.UU.	
✓ Brotes en U.E.	
6. Conclusiones.....	Pág. 23
7. Bibliografía.....	Pág. 25

1. INTRODUCCIÓN

El trabajo que se va a exponer a continuación es una revisión bibliográfica de una bacteria poco conocida y una interesante propuesta del tutor. Este trabajo se puede vincular con la competencia microbiológica adquirida durante el grado y sobre todo con salud pública y seguridad alimentaria, rama importante de la nutrición.

I. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

Definición y características

Familia de bacterias que comprende más de 200 géneros y más de 2000 especies. Tienen un tamaño intermedio de 0,3 a 1,0 x 1,0 a 6,0 μm .

La mayoría de estas bacterias son bacilos, otros cocobacilos y algunos pleomórficos y se denominan *Enterobacteriaceae* porque forman parte de la flora intestinal (microbiota). También están presentes en otros órganos del ser humano, en otras especies animales, en el suelo y en el agua.

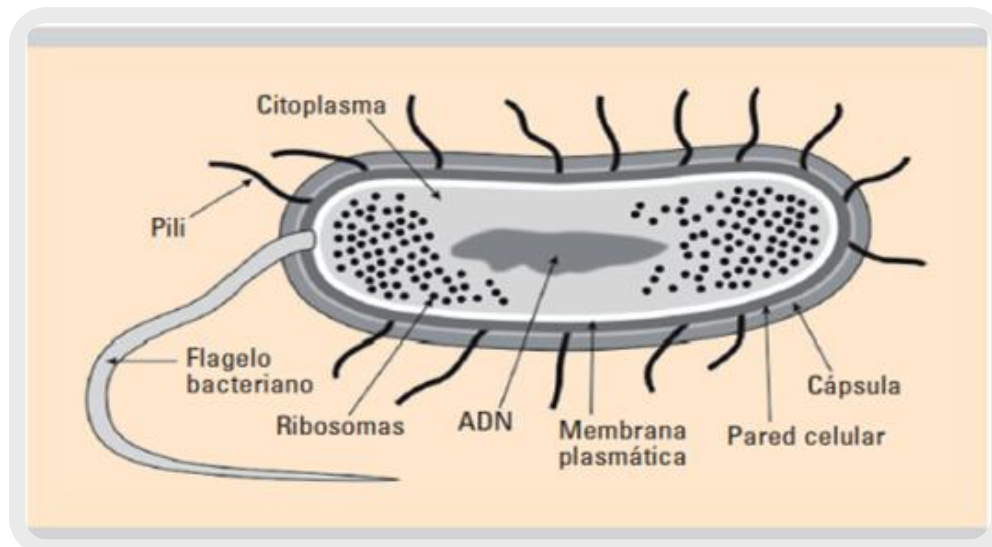


Imagen 1. Estructura del género *Enterobacteriaceae*

Tabla 1. Géneros y especies de la familia.

Género	Especies
<i>Escherichia</i>	<i>E.coli</i> , <i>E. alberti</i> , <i>E. alvei</i>
<i>Shigella</i>	<i>S. flexneri</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. dysenteriae</i>
<i>Salmonella</i>	<i>S. enterica</i> , <i>S. bongori</i> , <i>S. choleraesuis</i>

<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae, K. oxytoca, K. granulomatis</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae, E. aerogenes, E. agglomerans, E. gergoviae, E. sakazakii</i>
<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens, S. Odorifera, S. fonticola</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii, C. kooseri, C. omalonaticus, C. diversus</i>
<i>Proteus</i>	<i>P. vulgaris, P. mirabilis</i>
<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>
<i>Providencia</i>	<i>P. rettgeri, P. stuartii</i>
<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica, Y. Pestis, Y. pseudotuberculosis</i>
<i>Hafnia</i>	<i>H. alves</i>
<i>Plesiomonas</i>	<i>P. shigelloides</i>
<i>Edwarsiella</i>	<i>E. tarda</i>
<i>Ewingella</i>	<i>E. americana</i>

Fuente: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf
2010. Enterobacterias.

Los microorganismos que pertenecen a esta familia cumplen esta serie de requisitos
<http://cienciaybiologia.com/microbiologia/familia-enterobacteriaceae>, 2014):

- **Son bacterias Gram negativas**, no se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram.
- **Son de fácil cultivo**. No requieren medios enriquecidos.
En microbiología, un cultivo es un método para la multiplicación de microorganismos, tales como bacterias, hongos y parásitos, en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Hay muchos medios de cultivo dirigidos a enterobacterias como el agar SB, SS, XLD, VRBD y agar MC (MacConkey)...
- **Son oxidasa negativo** excepto el género *Plesiomonas*
Esta característica fenotípica determina si la bacteria produce citocromo oxidasa. En este caso carecen de la enzima.
- **Son catalasa positiva**. Esta enzima pertenece al grupo de las oxidorreductasas y cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en oxígeno y agua.
- **Son capaces de reducir nitrato en nitrito**. La enzima responsable de la reducción es la nitrato reductasa.

- **Son anaerobios facultativos**, es decir, pueden crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno.

- **Fermentan los hidratos de carbono en condiciones anaeróbicas**, produciendo o no gas (CO₂ Y H₂).

La fermentación es un proceso catabólico en el que se produce una oxidación incompleta en ausencia de oxígeno. El resultado de este proceso es un compuesto orgánico.

- **La mayor parte son móviles**. Poseen flagelos peritricos.

El flagelo es una estructura filamentososa que sirve para propulsar a la célula bacteriana. Los flagelos peritricos son aquellos que se proyectan en todas las direcciones y están uniformemente distribuidos sobre la célula.

También poseen **pilis** que son estructuras más cortas que los flagelos y no sirven para desplazarse.

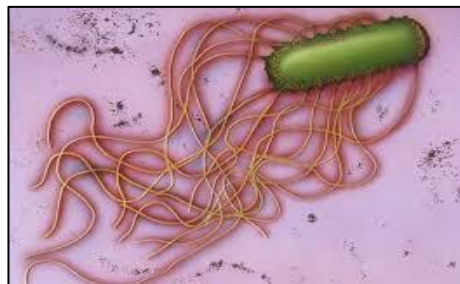


Imagen 2. Bacteria con flagelos peritricos

Además estas bacterias no forman esporas y no poseen cápsula, excepto el género *Klebsiella* que sí la posee y *Escherichia coli* que la puede obtener. Algunas de ellas producen toxinas. La temperatura óptima de crecimiento está entre 22 y 37°C.

Son organismos autótrofos, es decir, para producir energía necesitan compuestos orgánicos como el carbono y nitrógeno.

Tipos de clasificación

Clasificación científica

- Dominio: *Bacteria*
- Filo: *Proteobacteria*
- Clase: *Gammaproteobacteria*
- Orden: *Enterobacteriales*
- Familia: *Enterobacteriaceae*

Clasificación médica

- Género patógeno primario: producen enfermedad al ser humano y a algunos animales.

- Géneros patógenos oportunistas o comensales: producen infecciones urinarias, meningitis, abscesos, neumonías, otitis, sinusitis, meningitis... incluso pueden producir sepsis.

Tabla 2. Clasificación de los géneros de la Familia *Enterobacteriace*

Enterobacterias patógenas primarias	Enterobacterias patógenas oportunistas
<i>Género Salmonella</i>	<i>Género Escherichia</i>
<i>Género Shigella</i>	<i>Género Enterobacter</i>
<i>Género Yersinia</i>	<i>Género Klebsiella</i>
<i>Género Escherichia</i>	<i>Género Proteus</i>
	<i>Género Providencia</i>
	<i>Género Morganella</i>
	<i>Género Serratia</i>
	<i>Género Citrobacter</i>
	<i>Género Pantoea</i>
	<i>Género Hafnia</i>

Fuente: C. Cerquetti, <http://www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/teo210.pdf>, 2014

Estructura antigénica

Las enterobacterias poseen una estructura antigénica muy compleja (L. Merino, L. Lösch UNNE, 2014

<http://ecaths1.s3.amazonaws.com/catmicromed/APUNTE%20Enterobacterias.pdf>):

- **Antígenos Somáticos (O):** son parte de un **lipopolisacárido (LPS)** termoestable que se encuentra en la membrana externa de la bacteria. Este lipopolisacárido está constituido por tres componentes:
 - El oligosacárido que contiene al Antígeno O y determina la especificidad antigénica.
 - Un core de polisacárido central que es un antígeno común enterobacteriano.
 - Una parte lipídica conocida como lípido A, que constituye la endotoxina.

- **Antígenos capsulares (K):** están presentes sólo en aquellas bacterias capsuladas como el género *Klebsiella* y *Escherichia coli*.
- **Antígeno capsular (Vi):** es un polisacárido que rodea a la bacteria sin llegar a ser una cápsula. Exclusivo del género *Salmonella*
- **Antígenos flagelares (H):** proteínas de los flagelos bacterianos. Es específico de la especie y solo está presente en aquellas móviles. Es sensible al calor.
- **Antígeno fimbrial (F):** presente en las fimbrias o pilis. Son de naturaleza proteica.

Patogenia

Tabla 3. Patogenia.

Factores de virulencia que se asocian a las enterobacterias
Endotoxina
Cápsula
Variación de fase antigénica
Sistemas de secreción de tipo III
Secuestro de factores de crecimiento
Resistencia al efecto bactericida del suero
Resistencia antimicrobiana

Fuente: Murray y col., 2013. Microbiología Médica. Capítulo 4.

- ❖ **Endotoxina:** factor de virulencia que comparten las bacterias gram-negativas aerobias y algunas anaerobias. Las endotoxinas son integrantes tóxicos de la membrana y pared bacteriana. La endotoxina más potente es el lipopolisacárido (LPS) que se libera cuando la célula muere.
- ❖ **Cápsula:** proporciona propiedades antifagocitarias, ya que los antígenos hidrofílicos presentes en ella rehúsan la superficie hidrofóbica de las células fagocíticas.
- ❖ **Variación de la fase antigénica:** la expresión de los antígenos es alternativa, es decir, pueden expresarse o no. Es lo que protege a las bacterias de la destrucción celular mediada por anticuerpos.
 - Antígeno capsular K
 - Antígeno flagelar H

- ❖ **Sistemas de secreción de tipo III:** sistema efector para pasar sus factores de virulencia a las células eucariotas diana.
- ❖ **Secuestro de factores de crecimiento:** las bacterias producen sus propios sideróforos, que son proteínas que captan el hierro sérico para el desarrollo del microorganismo. Algunas de estas proteínas son la enterobactina y la aerobactina.
- ❖ **Resistencia al efecto bactericida del suero:** La cápsula bacteriana puede proteger del efecto bactericida de la sangre y de otros fluidos corporales. Además pueden evitar el desencadenamiento de la cascada del complemento.
- ❖ **Resistencia antimicrobiana:** Los microorganismos son resistentes a antibióticos comunes como la penicilina, pero también pueden hacerse resistentes a nuevos antibióticos.

II. GÉNERO *CRONOBACTER*

Definición y etiología

Cronobacter está compuesta por dos palabras procedentes del griego: **Cronos** (Κρόνος) que en mitología era un joven titán hijo de Urano que devoraba a sus hijos según nacían y **Bacter** que significa báculo, bastón, vara o varilla, por lo tanto Cronobacteria se define como aquél bastón que puede producir daño o enfermedad a recién nacidos (http://www.foodsafetynews.com/2009/09/the-naming-of-cronobacter-sakazakii/#.U6GJ1pR_u0j , 2009).

Este género de la familia *Enterobacteriaceae* apareció por primera vez en 2007 ya que antes estos microorganismos se incluían dentro de la especie *Enterobacter sakazakii* Actualmente el género *Cronobacter* engloba siete especies y tres subespecies.

Tabla 4. Especies y subespecies de *Cronobacter*

<i>Cronobacter spp.</i>	Biogrupos
<i>C. sakazakii</i>	1-4, 7, 8, 11, 13
<i>C. malonaticus</i>	5, 9, 14
<i>C. muytjensii</i>	15
<i>C. turicensis</i>	16
<i>C. dublinensis</i>	6,10,12
<i>C. dublinensis subesp. dublinensis</i>	12
<i>C. dublinensis subesp. lausannensis</i>	10

<i>C. dublinensis subesp. lactaridi</i>	6
<i>C. condimenti</i>	-
<i>C. universalis</i>	-

Fuente: Dra. Luigi, A. Martínez, 2012.

<http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/3335/1/T026800002765-0-trabajodegrado6Maribel.Petrola-000.pdf>

Todas las especies excepto *C. condimenti* se han asociado con infecciones y *C. sakazakii* y *C. malonaticus* son las responsables de causar la mayor parte de las enfermedades en niños que principalmente cursan con meningitis y enteritis neonatal. La transmisión de estos microbios se produce a través de los alimentos y afortunadamente la incidencia de estos brotes es bastante baja, aunque la mortalidad es elevada.

Hábitat

Se desconoce el origen de las cronobacterias pero tienen carácter ubiquitario. Se pueden encontrar en el suelo, en el agua, en animales y en plantas.

Se han aislado muestras en alimentos como los cereales y harinas, hierbas o vegetales, quesos, carnes y productos deshidratados como la leche en polvo, con la que se asocian la mayoría de las infecciones.

También se ha identificado en el tracto intestinal de algunas moscas (Kuzina y col., 2001) y en ratas (Gakuya y col., 2001).

Requisitos de supervivencia

Las cronobacterias pueden sobrevivir durante largo tiempo en ambientes poco húmedos. Hasta dos años en preparados deshidratados en polvo con una actividad de agua muy baja, 0,14-0,27.

En cuanto a la temperatura, la que más optimiza el desarrollo y el crecimiento de los microorganismos oscila entre 37° y 43°C.

La resistencia térmica y el pH van a depender de las distintas cepas del género (http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir3226/acsabrief2013_07_cronobacter_es.pdf, 2013).

Tabla 5. Condiciones de crecimiento

Parámetros	Crecimiento	
	Óptimo	Rango
Temperatura (°C)	37- 43	6 - 47
pH	5 - 9 (según la cepa)	3 - 10

Fuente: http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir3226/acsabrief2013_07_cronobacter_es.pdf 2013.

2. CRONOBACTER SAKAZAKII

A. Historia

Originariamente era conocido como “amarillo pigmentado *Enterobacter cloacae*” o “*Enterobacter cloacae* con pigmento amarillo” ya que los cultivos presentaban ese color. En 1980, Farmer y col. la reclasificó como una nueva especie: “***Enterobacter sakazakii***”.

A pesar de que esta especie tenía un comportamiento bioquímico similar a *E. cloacae*, ambos presentaban diferencias en las reacciones bioquímicas, en la sensibilidad a antibióticos y en la hibridación del ADN.

Una vez definido, *E. sakazakii*, se incluyó en el género *Enterobacter*, formando parte de una de las 16 especies diferentes. La bacteria se nombró Sakazakii en reconocimiento del microbiólogo japonés Richi Sakazakii.

Desde su asignación, numerosas cepas se clasificaron como *E. sakazakii* a pesar de que poseían diferentes genotipos y biogrupos. Debido a ello, en 2007, Iversen y col. examinó la relación taxonómica entre las distintas cepas de *E. sakazakii* llevando a cabo una serie de estudios genéticos que reconocían muchas especies diferentes.

Tras el estudio, el grupo de investigación propuso incluir *E. sakazakii* en un nuevo género llamado ***Cronobacter***. A él, también se agregaron otras cinco especies: *C. malonaticus*, *C. turicensis*, *C. muytjensii*, *C. dublinensis* y *genomospecies* que junto con *C. sakazakii*, se clasificaron en 16 biogrupos. En 2011, Joseph y col. identificaron una nueva especie *C. condimenti* y *genomospecies C1* se sustituyó por *C. universalis* englobando siete especies dentro del género.

B. Características microbiológicas

C. sakazakii es un bacilo gram-negativo no esporulado y móvil que posee flagelos peritricos. También es oxidasa negativo y catalasa positivo, reduce el nitrato en nitrito e hidroliza la esculina y la arginina. Es una bacteria anaerobia facultativa que no posee cápsula y es la especie tipo del género *Cronobacter*.

Este patógeno oportunista es termotolerante y tiene la capacidad de crecer entre 5,5° y 47° C. Además es resistente al estrés causado por una baja actividad de agua (0,14-0,27). Esta resistencia al estrés osmótico le permite estar presente en ambientes secos como por ejemplo las instalaciones de una fábrica de producción de leche en

polvo. Por otra parte, el microbio puede tener una fase de latencia corta (entorno a 1,7h) en fórmulas infantiles a una temperatura óptima para crecer.

Otra cualidad importante de *C. sakazakii* es que posee la capacidad de formar biopelículas o biofilms que atrapan nutrientes suficientes para el crecimiento de las bacterias. Estos biofilms una vez maduros protegen frente a agentes físicos como la temperatura y la desecación y de agentes químicos como antibióticos y desinfectantes.

Todas estas propiedades favorecen la supervivencia de *C. sakazakii* en ambientes desfavorables en comparación con el resto de enterobacterias.

C. Reservorio y fuentes de infección

C. sakazakii se puede encontrar en el ambiente, en el intestino de los animales y en él del ser humano. Asimismo, se halla en preparados de leche en polvo para lactantes gracias a su resistencia a condiciones secas.

Sin embargo, *C. sakazakii* también se encuentra distribuido ampliamente en el entorno y en otros alimentos.

Dentro del ambiente, el tipo de superficie suele tener gran importancia como hábitat microbiano, ya que la concentración de microorganismos que proliferan en una superficie suele ser mayor que la concentración de los que crecen en la solución. Además el desarrollo de las colonias es más rápido.

(Asociación SINA, 2012

<http://www.asociacionsina.org/2012/02/04/crono-bacter-sakazakii/>).



Imagen 3. Leche en polvo

Las leches maternizadas en polvo no son un producto estéril, aunque en su fabricación se haya llevado a cabo respetando todas las normas de higiene vigentes. Esto significa que el producto puede contener agentes patógenos capaces de provocar enfermedades. Según expertos, los microorganismos cuya presencia es más preocupante en estos tipos de fórmulas son *Salmonella entérica* y *C. sakazakii* (FAO/OMS, 2004).

La preparación en polvo para lactantes (PPL) reconstituida es un medio apropiado para la proliferación de esas bacterias. La adecuada preparación y manipulación, reducen el riesgo de enfermedad.

D. Mecanismos de contaminación.

Los alimentos en polvo destinados a los recién nacidos o a niños de corta edad entre otros, son productos de riesgo de contaminación y fuentes de infección.

La contaminación de las fórmulas infantiles se puede producir de varias maneras ya que no son productos estériles y no existen preparados inertes que no alteren las propiedades nutricionales de éste.

A pesar de que las cronobacterias no sobreviven al proceso de pasteurización, se puede producir una contaminación posterior al tratamiento térmico del producto. Por ejemplo, por falta de higiene en las fases de envasado y manipulación o al tener poco cuidado una vez que el producto se ha abierto en casa o en otro lugar.

En la fábrica, el inicio de la contaminación suele ser un ingrediente sucio que se utiliza para hacer la fórmula, o el polvo de la fórmula toca una superficie cubierta con *C. sakazakii* o incluso partículas de polvo del entrono pueden llegar al alimento arrastradas por el aire y contaminar el producto.

En casa, *C. sakazakii* podría colonizar la fórmula si la tapa o el cacillo están en contacto con una superficie contaminada, si la fórmula se mezcla con agua o si se introduce en una botella donde se halla el microorganismo.

En resumen, se pueden identificar tres vías de contaminación (Elika, 2013 http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento88/Copia%20de%2010.Cronobacter.pdf):

- A través de la adicción de materias primas y nutrientes al preparado de leche en polvo, si no ha sido sometido previamente a un tratamiento de calor.
- Por contacto directo con el equipo y líneas de procesado que pueden estar contaminados (una vez que la fórmula ha realizado la pasteurización).
- Tras reconstituir la fórmula, el preparado no se refrigera de manera adecuada o no se han llevado a cabo unas buenas prácticas de higiene.

Puede haber otras maneras de que los bebés puedan contagiarse, sin embargo, se desconoce si la infección de *C. sakazakii* puede transmitirse de una persona a otra ya sea de forma directa o indirecta.

E. Grupos de riesgo

Hay tres grupos principales a los que les afecta más la infección por *Cronobacter sakazakii*. Son los siguientes (Dra. Luigi, A. Martínez, 2012. <http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/3335/1/T026800002765-0-trabajodegrado6Maribel.Petrola-000.pdf>):

- **Personas de edad avanzada** que pueden presentar enfermedades crónicas como diabetes.
- **Personas inmunodeprimidas** que suelen ser más susceptibles por su estado. Los lactantes afectados del sistema inmunitario o cuyas madres son seropositivas al VIH, también corren riesgo, ya que es posible que necesiten fórmulas específicas y que sean más vulnerables al contagio.
- **Neonatos menores de 12 meses.** Presentan mayor riesgo de infección aquellos bebés menores de 28 días, especialmente los prematuros y los lactantes que reciben lactancia artificial con bajo peso al nacer (< 2500 g).

Aparte de la utilización de fórmulas maternizadas en polvo, existe otro factor importante para explicar la infección de neonatos por *C. sakazakii*. Se conoce que el estómago de los recién nacidos, especialmente el de los prematuros, tiene un pH menos ácido que el de los adultos, lo que contribuye a la supervivencia del microorganismo.

Independientemente de estos grupos, se han registrado casos de infección por *C.sakazakii* en personas de todas las edades.

F. Efectos sobre la salud humana

Ente los miembros del mismo género, *C. sakazakii* es considerado un patógeno oportunista de carácter invasivo responsable de infecciones tanto esporádicas como de brotes. Las principales manifestaciones clínicas son en forma de meningitis, sepsis, cerebritis y en menor frecuencia enterocolitis necrosante.

La meningitis a menudo produce una infección generalizada desencadenada por una hemorragia cerebral, infarto, necrosis y finalmente la



Imagen 4. Aspecto de un recién nacido afectado por *C. sakazakii*

formación de abscesos cerebrales o quistes y deterioro neurológico grave.

La afectación de la salud del huésped parece depender del grupo demográfico y del estado de salud subyacente como ya he comentado en el apartado “grupos de riesgo”. De esta manera, las infecciones en lactantes van a tener consecuencias más graves (CDC, 2012)

- Bebés menores de 1 año. La bacteria entra en el corriente sanguíneo y va a afectar al revestimiento del cerebro y de la espina dorsal ocasionando meningitis. La enfermedad en los bebés comienza con fiebre alta, falta de apetito, llanto o letargo. Los afectados también desarrollan signos típicos de sepsis como irritabilidad y algunos de ellos convulsiones.
- En el resto de la población, *C. sakazakii* puede causar problemas en cortes, arañazos o incluso cicatrices de operaciones quirúrgicas. Asimismo puede acceder por el tracto urinario. Aquellas personas que no puedan combatir el germen, serán víctimas de la infección

G. Incidencia

Los primeros casos relacionados con *C. sakazakii* se produjeron en 1958 en Inglaterra (Urmenyi y Franklin, 1961). Desde entonces hasta 2008 se han documentado 120-150 casos y se han identificado 27 muertes a partir de informes obtenidos de las organizaciones de salud pública y laboratorios. Se cree que la cifra de casos puede ser mayor porque anteriormente no había mecanismos que diagnosticaran la infección.

La tasa de mortalidad de la población general era del 50% o más, aunque este porcentaje se ha reducido a menos del 20% en los últimos años. La meningitis producida por *C. sakazakii* mata en torno al 40-80% de los recién nacidos infectados y la enterocolitis necrosante aparece en el 2-5% de los prematuros y en el 13% de los bebés con bajo peso al nacer (<1,5 Kg). Además un número de los lactantes que sobreviven a la infección quedan con discapacidades permanentes: retraso mental y otras enfermedades neurológicas.

Se estima que la tasa de incidencia anual entre los niños con bajo peso al nacer (peso < 2500 g y < 12 meses de edad) es de 8,7 por /100000 niños en EEUU según la FAO/OMS, 2006.

La prevalencia de las infecciones por especies Cronobacter en adultos es mayor en ancianos con disfagia y que por lo tanto pueden requerir suplementos de proteína en polvo reconstituidos como parte su dieta diaria (FAO/OMS 2008).

3. OBJETIVOS

- Conocer las características microbiológicas, la patogenia y el reservorio de la familia *Enterobacteriaceae* y del género *Cronobacter*.
- Conocer el impacto de *C. sakazakii* sobre el ser humano por medio de los alimentos, especialmente de las fórmulas maternizadas en polvo causantes de la mayor parte de las muertes.
- Conocer los mecanismos de contaminación y los grupos de riesgo a los que afecta en mayor medida *C. sakazakii*.
- Conocer las principales fuentes de información científica sobre brotes alimentarios.
- Investigar y evaluar los casos esporádicos y brotes ocasionados por la bacteria desde su hallazgo.
- Conocer el proceso de elaboración de las leches maternizadas y el protocolo de seguridad que llevan a cabo las fábricas que las producen.

4. MÉTODOS

En esta memoria se va a efectuar una recopilación de estudios realizados por diferentes instituciones y grupos de investigación. En ellos se van a analizar y evaluar los diferentes brotes que se han dado desde el hallazgo de *C. sakazakii* hasta nuestros días.

La mayor parte de los estudios recopilados en la revisión son retrospectivos y descriptivos.

La recogida de datos se ha llevado a cabo a partir de las publicaciones de los autores, de información no confidencial de los padres, de registros médicos y de documentos legales.

El material examinado ha sido obtenido de archivos, estudios, casos publicados y revisiones de literatura y bibliográficas de las siguientes páginas web: CDC, FDA, ECDC, EFSA, WHO, Eurosurveillance, HPA y Pubmed. También de revistas científicas como: JCM, Pediatrics, BMC Microbiology, Applied and Environmental Microbiology

Acto seguido, se describirán algunas de estas páginas oficiales y fuentes de información:

- ✓ World Health Organization (WHO)

www.who.int

La Organización Mundial de la Salud (OMS) es la autoridad directiva y coordinadora de la acción sanitaria en el sistema de las Naciones Unidas.

Es la encargada de desempeñar una función de liderazgo en los asuntos sanitarios mundiales, configurar la agenda de las investigaciones en salud, establecer normas, articular opciones de política basadas en la evidencia, prestar apoyo técnico a los países y vigilar las tendencias sanitarias mundiales.

- ✓ Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

www.cdc.gov

Los CDC son uno de los dispositivos operativos más importantes del Departamento de Salud y Servicios Humanos. La estructura organizativa de los CDC es muy amplia, en la página web se puede ver la composición del organigrama.

La función de los CDC es defender a los EE.UU. de amenazas contra la salud y seguridad, independientemente de si son extranjeras, nacionales si las

enfermedades se originan en los Estados Unidos o en otros países. Para llevar a cabo su misión, realizan investigaciones científicas críticas y proporcionan información con el objetivo de proteger la salud de los ciudadanos.

- ✓ Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA)

www.efsa.europa.eu/

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) es una agencia independiente financiada por la UE que funciona de forma separada a la Comisión Europea, al Parlamento Europeo y a los Estados miembros de la UE.

El papel de la EFSA es evaluar y comunicar todos los riesgos asociados con la cadena alimentaria. Una gran parte del trabajo de la agencia se lleva a cabo a partir de las peticiones específicas de asesoramiento científico que se reciben de los distintos órganos de la UE. Además, la EFSA también compromete el trabajo científico realizado por iniciativa propia, lo que se ha denominado auto-tarea.

Aparte de estas funciones, la EFSA también gestiona los riesgos y pueden realizar los procesos de adopción o revisión de la legislación europea sobre alimentos o seguridad de los piensos o de decidir si aprueba o no las sustancias reguladas como los pesticidas y los aditivos alimentarios.

- ✓ European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

www.ecdc.europa.eu

El Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) se fundó en 2005. Se trata de una agencia de la UE cuyo objetivo es fortalecer las defensas de Europa contra las enfermedades infecciosas. Está situado en Estocolmo, Suecia y trabaja con expertos de toda Europa.

De acuerdo con el artículo 3 del Reglamento de creación, la función del ECDC es identificar, determinar y comunicar las amenazas actuales y emergentes para la salud humana que representan las enfermedades infecciosas. Para ello el ECDC colabora con los organismos nacionales de protección de la salud de toda Europa con el objetivo de fortalecer y desarrollar la vigilancia de enfermedades en todo el continente y de los sistemas de alerta temprana.

- ✓ Journal Clinical of Microbiology (JCM)

<http://Jcm.asm.org>

El Journal of Clinical Microbiology (JCM) es una revista científica mensual fundada en 1975.

JCM publica las investigaciones más recientes relacionadas con el diagnóstico de laboratorio de las infecciones en humanos y animales, y el papel del laboratorio, tanto en el manejo de las enfermedades infecciosas como el esclarecimiento de la epidemiología de las infecciones.

Criterios de inclusión

Se han seleccionado aquellos artículos relacionados con brotes de *C. sakazakii* basándome en los siguientes criterios:

- Casos de brotes procedentes de fuentes seguras o de relevancia.
- Casos de brotes producidos exclusivamente por *C. sakazakii*.
- Casos de brotes que se hayan producido en los últimos 20 años.

5. RELACIÓN DE LOS BROTES DE LOS ÚLTIMOS 20 AÑOS

Epidemiología

Según la OMS es el estudio de la distribución y los determinantes de estados o eventos (en particular de enfermedades) relacionados con la salud y la aplicación de esos estudios al control de enfermedades y otros problemas de salud. Hay diversos métodos para llevar a cabo investigaciones epidemiológicas: la vigilancia y los estudios descriptivos se pueden utilizar para analizar la distribución, y los estudios analíticos permiten analizar los factores determinantes.

La transmisión al hombre de *C. sakazakii* se efectúa exclusivamente por vía alimentaria. Los recién nacidos constituyen el grupo de población más susceptible. En menor medida, los niños de 2 a 12 meses de edad, las personas mayores y las inmunodeprimidas. De los numerosos casos registrados hasta 2009, solo se han documentado 13 en adultos.

Aunque la incidencia de casos es muy baja, porque se producen seis casos al año en todo el mundo, las tasas de mortalidad se pueden considerar altas.

Resultados

En este apartado se describirán una serie de casos y brotes causados por *Cronobacter sakazakii* en el mundo. Estos brotes se han detectado en EE.UU., países suramericanos y algunos países de Europa como Francia, Holanda o Bélgica.

En 1958 se produjeron los 2 primeros casos de *C. sakazakii* en Inglaterra. Más tarde entre los ochenta y los noventa, hubo 25 casos esporádicos en niños que ocasionaron las muertes de todos ellos en Tennessee, Maryland, Ohio, Massachusetts y Louisiana. También se produjeron otros casos de infecciones en Islandia, Grecia, Holanda y Canadá.

A continuación, se enumerarán los brotes ocurridos en los últimos 20 años en Estados Unidos y en Europa.

✓ Brotos en EE.UU

- Massachusetts 1995. Se reportaron cinco casos por un brote con paciente de edades comprendidas entre 3 y 82 años. Los tres pacientes más ancianos murieron (Lai., 2001).

Sólo los dos pacientes más jóvenes sobrevivieron después del tratamiento con antibióticos.

- EE.UU. 1996. Caso de un niño de 20 meses de edad con infección del SNC. Se detecta un absceso cerebral debido a la infección por *C. sakazakii* (Tekkok y col, 1996).

- Carolina del Norte 2000. Una niña pretérmino de 3,3 Kg nacida en la 35 semana de gestación, desarrolló síntomas típicos de infección por *C.sakazakii* (Burdette and Santos, 2000).

Los síntomas eran absceso cerebral 6 días después de su nacimiento, incluyendo fiebre alta, irritabilidad y actividad convulsiva. La bacteria se aisló en sangre y líquido cefalorraquídeo, pero no en orina. Cinco semanas después de ser tratada, la niña fue dado de alta sin aparentes déficits neurológicos o de desarrollo.

- Tennessee 2001. Comprendió 10 casos. El uso de la fórmula infantil fue el único factor asociado con los casos (Gurlter 2005).

El fallecido fue un bebé varón nacido por cesárea a las 33 semanas y media pesa 1270g. Es hospitalizado en unidad neonatal de cuidados intensivos por su prematuridad, su bajo peso y por posibles peligros respiratorios. El niño tenía fiebre, taquicardia, disminución de la perfusión vascular y anomalías neurológicas a los 11 días. Tras analizar los líquidos corporales del bebé se descubrió un recuento anormal de células de la sangre, proteínas y glucosa y se detecta *C. sakazakii* en el líquido cerebrospinal. Nueve días más tarde el bebé muere.

- Nuevo México 2008. El informe describe el aislamiento de *C. sakazakii* en dos bebés a término, un niño de 7 meses y una niña de 6,5 semanas de vida (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5842a3.htm> 2009).

La niña desarrolló una lesión cerebral grave e hidrocefalia y el otro murió. El Departamento de Salud de Nuevo México (NMDOH) llevo a cabo una investigación que determinó que el consumo de PPL fue el único factor de riesgo en los dos casos, aunque no se pudo asegurar la presencia de la cronobacteria en las fórmulas. Sin embargo, el organismo finalmente fue aislado de una lata de leche en polvo abierta que fue consumida por el varón y que se aisló también de la sangre de éste una vez fallecido.

✓ Brotos en Europa

- Francia 1994. Brote de *C. sakazakii* ocurrido en la unidad de neonatos de cuidados intensivos. Fueron infectados 17 neonatos. Más de la mitad de los infectados presentaban síntomas clínicos severos: 7 de ellos enterocolitis necrosante (uno de ellos con perforación abdominal), un caso septicemia y otro caso meningitis. Los otros 8 neonatos permanecieron asintomáticos. Se produjeron 3 muertes. Una cuarta muerte se produjo por un shock séptico durante el brote (BMC Microbiol. 2008. 10.1186/1471-2180-8-64).

Tabla 6. Descripción de las diferentes cepas de *C. sakazakii* y *E. cloacae*. Francia 1994

Organismo	Número de cepa	Lugar de aislamiento	Síntomas	Fecha de aislamiento
<i>C. sakazakii</i>	696	Heces	NEC	08/06/1994
<i>C. sakazakii</i>	701	Fluido peritoneal	NEC (muere)	07/04/1994
<i>C. sakazakii</i>	767	Tráquea	Meningitis (muere)	11/05/1994
<i>C. sakazakii</i>	709	Tráquea	Septicemia	12/05/1994
<i>C. sakazakii</i>	695	Tráquea	NEC (muere)	07/06/1994
<i>C. sakazakii</i>	693	Heces	Asintomático	18/06/1994
<i>C. sakazakii</i>	716	Fórmula infantil		11/07/1994
<i>E. cloacae</i>	766	Cultivo en sangre	Sepsis (muere)	04/06/1994

Fuente: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2386127/> , 2008

- Bélgica 1998. Se reportan 12 casos y 2 muertes. (Van Acker y col.,2001)
La fórmula infantil fue confirmada como la fuente de infección. Se trata de una epidemia de enterocolitis necrosante caracterizada por necrosis y neumatosis intestinal. El agente causal fue aislado del aspirado gástrico y de la sangre de 6 de los 12 pacientes. Casualmente la cepa de *C. sakazakii* aislada de las muestras clínicas era la misma que la encontrada en las muestras de leche en polvo usadas en la alimentación de los bebés.
- Francia 2004. Infección de 4 lactantes por el consumo de un producto comercializado en farmacias holandesas. A consecuencia de la infección extraña fallecen 2 de los 4 bebés (http://www.inha.sld.cu/doc_pdf/zacasakii.pdf , 2009)

En las Tablas 7 y 8 se incluyen los casos y brotes de *C. sakazakii* hasta la actualidad. Éstas tablas contienen más casos esporádicos que los que se han desarrollado anteriormente ya que este microorganismo es poco conocido y la información de las infecciones causadas por él es escasa y exclusiva.

A pesar de que hay multitud de órganos que investigan estos brotes y casos, las infecciones desarrolladas en Europa han sido especialmente complicadas a la hora de buscar información, estudios o revisiones sobre ellas. Sin embargo, se han recogido todos aquellos brotes y casos publicados.

Tabla 7. Casos producidos por *C. sakazakii*.

Fecha	Lugar	Edad	Número casos	Muertes	Reservorio	Referencia
1965	Dinamarca	RN	1	-		Joker y col. 1965
1965	USA	RN		-		Joker y col. 1965
1979	USA	RN	1	-	Fórmulas infantiles	Monroe, 1979
1981	USA	RN	1	-		Drudy y col., 2006
1981	USA	5 semanas	1	-		Kleiman y col, 1981
1991	USA	RN	1	-		Gallagher. P. 1991
1996	USA	lactante 20 meses	1	-		Tekkok y col, 1996
2004	Nueva Zelanda		1	1		
2007	Italia	Varón joven	1			Muytjens y col 1983
2007	España	RN	1			Conde y col, 2007
2007	USA	75 años	1			See kc y col. 2007

RN: recién nacido

Fuente: Dra. Luigi, A. Martínez, 2012.

<http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/3335/1/T026800002765-0-trabajodegrado6Maribel.Petrola-000.pdf>

Tabla 8. Brotes producidos por *C. sakazakii*.

Fecha	Lugar	Edad	Número casos	Muerte	Reservorio	Referencia
1961	USA	RNs	2	-		Kleiman y col. 1981
1988	USA	RNs (cuidados)	4	0	Fórmulas infantiles	Simmons y col. 1989
1989	USA	RNs	3	-		Biering y col. 1989,
1994	Francia	RNs (cuidados)	17	4	Fórmula reconstituida	Caubilla. 2007
1998	Bélgica	RNs (cuidados)	12	2	Fórmula infantil	Acker y col. 2001
2001	USA	RNs (cuidados)	5	-	Mezclador de leche	Bar oz b y col. 2001
2004	Francia	lactantes	15	2	Fórmula infantil	
2008	USA	lactantes	2	1	Fórmula infantil	CDC

Fuente: Dra. Luigi, A. Martínez, 2012.

<http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/3335/1/T026800002765-0-trabajodegrado6Maribel.Petrola-000.pdf>

6. CONCLUSIONES

- *C. sakazakii* se trata de un patógeno oportunista con un reservorio amplio que causa unos seis casos al año pero cuya tasa de mortalidad es alta.
- A pesar de las medidas de control llevadas a cabo en las fábricas de preparación de fórmulas para lactantes, se siguen contaminando los productos, lo que plantea un gran riesgo para la salud de este grupo de población.
- La aparición de casos y brotes alimentarios es debida a malos hábitos higiénicos. En algunos estudios, *C. sakazakii* no se había hallado en las fábricas de producción mientras que sí se había encontrado en las fórmulas que habían consumido los bebés en sus casas.
- Aunque la infección de *C. sakazakii* puede afectar a todos los grupos de población, la mayor parte de las personas implicadas en los brotes y casos son recién nacidos o lactantes.
- Los brotes comienzan con fiebre alta, convulsiones e irritabilidad y muchos de ellos presentan graves complicaciones como septicemia, meningitis y necrosis e inflamación del intestino.

Recomendaciones según la OMS 2007

Uso de preparaciones para lactantes

Las fórmulas para lactantes se seleccionarán de acuerdo con las necesidades médicas del niño. Cuando estén disponibles, se utilizarán preparaciones líquidas estériles para los niños especialmente vulnerables.

1) Requisitos generales

Cada institución dispondrá de normas para la preparación y la manipulación de PPL. El personal encargado de realizar las PPL conocerá las normas y los requisitos de higiene. Se destinará una zona limpia exclusivamente a la preparación y el almacenamiento de PPL. Las fórmulas preparadas en entornos asistenciales tendrán una trazabilidad completa.

2) Limpieza y esterilización del material de preparación y administración de PPL

Es muy importante que todo el material para alimentar a los lactantes y para preparar la toma haya sido limpiado y esterilizado antes de usarlo. También se lavarán las

manos con agua y jabón antes de limpiar y esterilizar el material de preparación y administración que vaya a utilizarse. Para impedir la recontaminación, lo más adecuado es extraer el material justo antes de utilizarlo.

3) Preparación de tomas a partir de PPL

La práctica más correcta es preparar la toma cada vez que sea necesario y administrarlas en el momento. Asimismo, es conveniente preparar el alimento en recipientes individuales ya que si se preparan en el mismo y se distribuyen después el riesgo de contaminación es mayor.

4) Preparación de tomas con antelación

Lo mejor es reconstituir la fórmula para cada toma, ya que la PPL una vez preparada ofrece las condiciones ideales para la proliferación de bacterias patógenas. Las prácticas que se siguen son las más seguras en la preparación de PPL con antelación y en su conservación hasta el momento preciso. Las tomas podrán almacenarse en el frigorífico durante un máximo de 24 horas. No es aconsejable refrigerar grandes cantidades de fórmula reconstituida ya que el frío puede ser insuficiente y pueden crecer microorganismos.

5) Calentamiento de las tomas almacenadas

Se extraerán las preparaciones del frigorífico inmediatamente antes de utilizarlas y se calentarán durante un máximo de 15 minutos. Se comprobará la temperatura del alimento antes de comenzar a alimentar al bebé. Se desechará toda toma recalentada que no se haya consumido en dos horas.

6) Transporte de biberones

En muchos entornos institucionales, los biberones se preparan en un lugar central desde el que más tarde se reparten. Sin embargo, el transporte de los biberones ya preparados supone un riesgo, ya que al aumentar el tiempo entre la preparación y el consumo, las bacterias nocivas tienen posibilidad de multiplicarse. Las tomas preparadas que no vayan a ser suministradas en las dos horas siguientes, serán refrigeradas antes del transporte, transportadas en condiciones de refrigeración y recalentadas en el destino.

7) Tiempos de espera y de administración

Se desecharán aquellas tomas que no hayan sido consumidas en las dos horas siguientes a su preparación a menos que se hayan conservado en el frigorífico que en este caso se conservarán en torno a 5°C durante un máximo de 24 horas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acker, J.V., Smet, F., Muyldermans, G. y cols. 2001. "Outbreak of Necrotizing Enterocolitis Associated with *Enterobacter sakazakii* in Powdered Milk Formula". J. Clin. Microbiol. Vol 39 nº. 1 293-297. <http://jcm.asm.org/content/39/1/293>
- Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (ACSA), 2013. "*Cronobacter spp.*". http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir3226/acsabrief2013_07_cronobacter_es.pdf
- Puerta-García, A. y Mateos-Rodríguez, F., 2010. "Enterobacterias". Unidad de Universitario de Albacete. Albacete. España. http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf
- Bowen, A.B. y Braden, C.R., 2006. "Invasive *Enterobacter sakazakii* Disease in Infants". Emerg. Infect. Dis. 1185-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16965695>
- Castillo, V.L., Martino, T.K., Machin, M. y cols., 2009. "*Enterobacter sakazakii*, microorganismo emergente de severo riesgo para neonatos". Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (Cuba). http://www.inha.sld.cu/doc_pdf/zacasakii.pdf
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2002. "*Enterobacter sakazakii* Infections Associated with the Use of Powdered Infant Formula – Tennessee, 2001". Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) 298-300. <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm5114.pdf>
- CDC, 2009. "*Cronobacter* Species Isolation in Two Infants --- New Mexico, 2008". MMRW 1179-1183. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5842a3.htm>
- Chap, J., Jackson, P., Siqueira, R. y cols., 2009. "International survey of *Cronobacter sakazakii* and other *Cronobacter spp.* in follow up formulas and infant foods". Int. J. Food Microbiol. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19729216>
- <http://cienciaybiologia.com/microbiologia/familia-enterobacteriaceae> Madigan, M. T., Martinko, J. M., Addison-Wesley, "Brock. Biología de los microorganismos". 12ª edición. 2009.

- EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria), 2004. "Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to the microbiological risks in infant formulae and follow-on formulae". <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/113.pdf>
- ELIKA (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria), 2013. "*Cronobacter*". http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento88/Copia%20de%2010.Cronobacter.pdf
- FDA (Food and Drug Administration), 2011. "Investigation of *Cronobacter* Bacteria Illness in Infants". <http://www.fda.gov/NewsEvents/PublicHealthFocus/ucm285401.htm>
- Gurtler, J.B., Kornacki, J.L., Beuchat, L.R., 2005. "*Enterobacter sakazakii*: A coliform of increased concern to infant health". International Journal of Food Microbiology 104 1-34. Review.
- Iversen, C., A. Lehner, N. Mullane, E. Bidlas, I. Cleenwerck, J. Marugg, S. Fanning, R. Stephan, and H. Joosten. 2007. "The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter*". BMC Evol. Biol. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17439656>
- Jason, J. 2012. "Prevention of Invasive *Cronobacter* Infections in Young Infants Fed Formulas". Pediatrics Powdered Infant 2011-3855. <http://pediatrics.aappublications.org/content/130/5/e1076.full.html>
- Lai KK., 2001. "*Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children and adults. Case reports and a review of the literature" Medicine (Baltimore) 113-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11307587>
- Luigi, T., Martínez, A., 2012. "Evaluación de algunos factores que afectan el desarrollo de *Cronobacter sakazakii* en fórmulas lácteas infantiles". <http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/3335/1/T026800002765-0-trabajodegrado6Maribel.Petrola-000.pdf>
- Merino, L.A., Lösch, L.S., 2014. "Familia *Enterobacteriaceae*" Universidad Nacional del Nordeste (UNNE)
- Montero, M.V. 2012. "*Cronobacter sakazakii*". Asociación de apoyo a la lactancia materna y crianza con apego en Valencia (SINA). <http://www.asociacionsina.org/2012/02/04/cronobacter-sakazakii/>

Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A., 2013. "Microbiología Médica", 7ª Edición. Elsevier. Capítulo 4. p 258-273.

Organización Mundial de la Salud (OMS), 2004. "*Enterobacter sakazakii* y otros microorganismos en los preparados de leche en polvo para lactantes: informe de la reunión". Serie FAO/OMS: Evaluación de riesgos microbiológicos. <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra6/en> .

OMS, 2007. "Preparación, almacenamiento y manipulación en condiciones higiénicas de preparaciones en polvo para lactantes". Colaboración con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/pif_guidelines_sp.pdf

Q.Q. Yan, O. Condell, K. Power, F. Butler, B.D. Tall and S. Fanning, 2012. "*Cronobacter* species (formerly known as *Enterobacter sakazakii*) in powdered infant formula: a review of our current understanding of the biology of this bacterium". Review article. J. App. Microbiol. 1364-5072.

Townsend, S., Hurrell, E., Forsythe, S, 2008. "Virulence studies of *Enterobacter sakazakii* isolates associated with a neonatal intensive care unit outbreak". BMC Microbiol. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18423002>

Weisbecker, A., 2009. "The Naming of *Cronobacter sakazakii*". Food Safety News. http://www.foodsafetynews.com/2009/09/the-naming-of-cronobacter-sakazakii/#.U6SUCpR_u0j