

Enterobacter sakazakii:
Epidemiologia, Manifestazioni Cliniche,
Misure Preventive, Identificazione

ALFONSINA FIORE

DSPVSA Rep. Pericoli Microbiologici
ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
Roma



CRITERI MICROBIOLOGICI

- In Italia e nel resto d'Europa il 5 Dicembre 2007 sono entrati in vigore i nuovi criteri microbiologici applicabili agli alimenti, in accordo con il Regolamento CEE n. 1831/2003.
- In particolare, riguardo l' *Ent. sakazakii*, viene stabilita la sua assenza in 10 grammi di prodotto su di un totale di 30 campioni analizzati.
- I prodotti presi in considerazione sono alimenti in polvere per l'infanzia ed alimenti in polvere dietetici per neonati al di sotto dei 6 mesi aventi particolari necessità mediche.

PATOGENI EMERGENTI

- *ENTEROBACTER SAKAZAKII*
- *Campylobacter jejuni*
- *Escherichia coli* O157
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella typhimurium*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Cyclospora cayetanensis*

CENNI STORICI

Fino al 1980 veniva considerato una variante giallo pigmentata di *Enterobacter cloacae*.

E' stato riconosciuto come specie a parte agli inizi degli anni '80.

Il nome è stato attribuito in onore al batteriologo giapponese Riichi Sakazaki per il notevole contributo dato alla comprensione della biologia delle Enterobacteriaceae.

PROPOSTA DI UNA NUOVA RICLASSIFICAZIONE

Creazione di un nuovo genere

Cronobacter

che include:

- 4 specie
 - 2 sottospecie
 - 1 genomospecie
-
- *Cronobacter sakazakii* è la specie tipo di questo nuovo genere



CARATTERISTICHE GENERALI

- Famiglia
ENTEROBACTERIACEAE
- Genere
ENTEROBACTER
- Gram negativo
- Anaerobio-facoltativo
- Asporigeno
- Mobile
- Catalasi positivo
- Ossidasi negativo

- Fattori di virulenza
ENTEROTOSSINA
- Habitat

ALIMENTI (**latte in
polvere per l'infanzia**)

AMBIENTE (ospedali: reparto
preposto alla preparazione del
latte in polvere)

ANIMALI

LIQUIDI BIOLOGICI

VEICOLO ALIMENTARE

Latte formulato in polvere per l'infanzia
(fonte maggiormente coinvolta)

- prodotto non sterile*
- buon terreno di crescita per i microorganismi*
- processo di produzione:*
 - a- miscelazione di sostanze liquide
 - b- miscelazione di sostanze solide
 - c- processo combinato

Casi sporadici ed epidemici di infezioni neonatali nel mondo

Luogo	Anno	Numero dei casi (decessi)	Sorgente implicata
I.Casi sporadici			
USA	1981	1(0)	Sconosciuta
Grecia	1982	2(0)	Feci
Paesi Bassi	1983	(1)	Latte in polvere per l'infanzia
Canada	1990	2(0)	Sconosciuta
Israele	1999/2000	2(0)	Mescolatore
Belgio	2002	(1)	Latte in polvere per l'infanzia
I.Epidemie			
Paesi Bassi	1983		Canale del parto
Grecia	1984	8(6)	Sconosciuta
USA	1988	11(4)	Sconosciuta
USA	1986/1987	4(0)	Latte in polvere per l'infanzia
Islanda	1990	3(1)	Latte in polvere per l'infanzia
Canada	1998	2(?)	Sconosciuta
Belgio	2001	12(2)	Latte in polvere per l'infanzia
USA	2001	10(1)	Latte in polvere per l'infanzia
Israele		5(0)	Mescolatore

EPIDEMIOLOGIA 1

- Tra **ottobre e dicembre 2004**, 5 casi di infezioni, di cui 2 fatali , e 5 casi di colonizzazione intestinale, tutti attribuiti a *Ent. sakazakii*, sono stati diagnosticati nel reparto di pediatria di 5 ospedali francesi.
- Nove dei neonati infetti erano stati alimentati con il latte in uso nel reparto prematuri. Sebbene il lotto dell'alimento in questione fosse stato venduto solo in Francia ed in Algeria, l'Irlanda ne proibì l'uso.
- Durante lo **stesso anno**, in Nuova Zelanda, un caso di infezione ad esito fatale, dovuto a *Ent. sakazakii* interessò un neonato ospedalizzato ed alimentato con latte in polvere.

EPIDEMIOLOGIA 2

- Nel luglio 2006, in un ospedale in India, un neonato di 2 mesi sviluppò una batteriemia nosocomiale da *Ent. sakazakii*. Il veicolo dell'infezione rimase sconosciuto.
- Il più recente caso di infezione da *Ent. sakazakii* è stato registrato nel 2007 nel reparto di pediatria di un ospedale di Bilbao in Spagna. Ad essere coinvolto fu un neonato prematuro affetto da sepsi neonatale.
- Anche in questo caso la sorgente dell'infezione rimase sconosciuta: il neonato era stato alimentato con latte materno ed una formula liquida per prematuri.

POPOLAZIONE A RISCHIO

soggetti compresi tra 0 e 12 mesi

- Nati pre-termine (a meno di 36 sett. di gestazione)
- Nati con basso peso (< 2 kg)
- Immunocompromessi
- Nati da madri HIV positive
- Neonati a termine (ricoverati nei reparti di terapia intensiva)

MANIFESTAZIONI CLINICHE

- **Sepsi** (malattia sistemica dovuta alla presenza massiva di un batterio patogeno nel sangue)
- **Meningite** (infiammazione delle membrane che rivestono l'encefalo, e del liquido cerebro-spinale)
 - **Enterocolite necrotizzante (NEC)** (necrosi e pneumatosi intestinale)
 - **Infezioni nosocomiali**
- *le infezioni neonatali da E.sakazakii teoricamente, potrebbero essere acquisite direttamente dalla madre al momento del parto*
- *tuttavia, non sono stati segnalati casi di infezione del tratto intestinale e delle vie genitali di madri di neonati infetti*
- *sono stati riportati casi di infezioni neonatali dopo parto cesareo*

I segni e i sintomi della fase iniziale delle infezioni da E.sakazakii sono: inappetenza, irritabilità, ittero, respiro affannoso, pallore, cianosi, collasso, spasmi e instabilità della temperatura corporea

- L'intestino rappresenta la principale sorgente di disseminazione e trasmissione ai siti sensibili

MENINGITE

Al pari degli altri patogeni che causano meningiti in bambini al di sotto dei 5 anni (pneumococco, Haemophilus e meningococco), anche E. sakazakii ha un particolare tropismo per il sistema nervoso centrale

- La meningite è la forma di infezione più grave
- La via seguita dal patogeno, per arrivare al liquido cerebro-spinale e causare la meningite, non è stata ancora stabilita
- Si ipotizza che il plesso carotideo sia il più probabile sito di ingresso e che le modalità di invasione coinvolgano meccanismi para e trans-cellulari
- Negli stadi avanzati della malattia le manifestazioni patologiche più frequentemente riscontrate sono: ventricoliti, ascessi cerebrali, formazione di cisti, idrocefalo, quadriplegia, ritardato sviluppo neurale e infarto. I pazienti che si riprendono dall'infezione soffrono di ritardi fisici e mentali

ENTEROCOLITE NECROTIZZANTE

- Rappresenta l'altra importante manifestazione patologica nei neonati
- E' caratterizzata da necrosi e pneumatosi intestinale
- L'incidenza della malattia è del 13% nei neonati con basso peso alla nascita
- I prerequisiti necessari coinvolti nella patogenesi di tale malattia sembrano essere: ischemia intestinale neonatale, colonizzazione microbica dell'intestino e eccesso di proteine nel lume intestinale associato alla somministrazione di latte in polvere per l'infanzia
- La frequenza di enterocoliti necrotizzanti in neonati alimentati con latti artificiali è dieci volte superiore rispetto a quella in neonati alimentati con latte materno

METODI DI ANALISI

la ricerca di *Ent. sakazakii* viene effettuata in genere nei liquidi biologici, in campioni ambientali ed alimentari

- Metodi di microbiologia classica (ISO, FDA)
 - Metodi di biologia molecolare (PCR, BAX)
- ↓
- Tecniche di screening (identificazione biochimica mediante sistemi miniaturizzati)
 - Tecniche di tipizzazione genotipica (PFGE, RAPD, ribotipizzazione)

CONCLUSIONI

Fattori che contribuiscono al rischio di infezione:

Suscettibilità del paziente

Livello di contaminazione dell'alimento

Termotolleranza del microrganismo

Velocità di crescita

Dose infettante

Virulenza

RACCOMANDAZIONI

- *A livello produttivo*
- *A livello domestico*
- *A livello ospedaliero /asili nido*

a livello produttivo

- monitorare le materie prime, in particolare gli ingredienti che non necessitano di un ulteriore trattamento termico prima della miscelazione;
- ridurre i livelli delle Enterobacteriaceae nell'ambiente di produzione per prevenire le contaminazioni post-processo;
- incrementare la frequenza dei controlli negli ambienti di produzione e sul prodotto finito; in caso di positività identificare le sorgenti di contaminazione mettendo in atto le più appropriate azioni correttive;
- revisionare le istruzioni per la preparazione del latte suggerendo una temperatura dell'acqua di solubilizzazione più alta ($> 70^{\circ}\text{C}$) ma comunque non superiore agli 80°C .

a livello domestico

linee guida FAO/WHO:2007

- adottare stringenti norme igieniche utilizzando contenitori puliti e disinfettati;
- preparare solo la poppata necessaria per il pasto evitando di preparare in anticipo quelle dei pasti successivi o in caso di necessità limitare a 1-2 quelle preparate in anticipo;
- evitare di lasciare a temperatura ambiente il latte ricostituito se non utilizzato;
- assicurare il raffreddamento rapido del prodotto ricostituito e la sua conservazione in frigorifero;
- limitare il più possibile l'intervallo di tempo tra la ricostituzione del prodotto e il suo consumo.

a livello ospedaliero/asili nido linee guida FAO/WHO:2007

- adottare buone pratiche di igiene nelle aree di preparazione;
- disporre di una stanza adibita solamente alla preparazione, che sia separata dai reparti di degenza (negli ospedali), provvista di un'area per lo stoccaggio del prodotto e frequentata unicamente da personale autorizzato;
- se la struttura manca di un'apposita stanza per la preparazione, predisporre comunque un'area da destinarsi unicamente a tale scopo;
- disporre di utensili e attrezzature costruiti in modo tale da poter essere facilmente sanificati;
- sottoporre a trattamento termico (esempio: lavaggio in lavastoviglie) o ad autoclavaggio tutti gli utensili adoperati per la preparazione;
- utilizzare, quando possibile, utensili monouso;
- disporre di personale qualificato e specializzato (esempio: dietiste);

.....*segue*

- assicurare il raffreddamento rapido del prodotto ricostituito e la sua conservazione in frigorifero;
- limitare il più possibile l'intervallo di tempo tra la ricostituzione del prodotto e il suo consumo;
- evitare di lasciare a temperatura ambiente il latte ricostituito se non utilizzato;
- richiudere opportunamente i contenitori dei latti non utilizzati completamente, riporli in frigorifero, apponendo sopra la data di scadenza;
- utilizzare, quando possibile, latte in forma liquida;
- applicare un corretto piano di autocontrollo.

Pubblicazioni

- **Fiore A, Casale M, Aureli P.** *Pericoli emergenti nell'alimentazione del neonato: il caso Enterobacter sakazakii.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2004. (Rapporti ISTISAN 04/13).
- **Fiore A, Casale M, Aureli P.** *Enterobacter sakazakii: epidemiology, clinical presentation, prevention and control.* Roma: ANN. IST. SUPER. SANITA', 2008/vol.44 N°3.