

Enterobacter sakazakii en la industria de alimentos

Manuel Vergara B.
Jefe Quality Assurance
Nestlé Chile S.A.

ENTEROBACTER SAKAZAKII (Familia Enterobacteriaceae)

Hasta 1980 fue clasificado como *Enterobacter cloacae*, entonces renombrado por el bacteriólogo japonés Riichi Sakazakii, quien estableció una mejora en el método de identificación.

Gram (-) ,móvil, bacilo no produce espora, con metabolismo anaerobio facultativo. Bioquímicamente es similar a E. Cloacae, pero usualmente D-sorbitol negativo. Otras características distintivas son su gran capacidad para producir pigmentación bajo los 36 C y además utiliza el Citrato como única fuente de carbono.

E. Sakazakii frecuentemente es causante de enfermedades nosocomiales. También ha sido causante de enfermedades neonatales por consumo de formulas infantiles contaminadas (meningitis, enterocolitis necrotizante). Hay muy pocos reportes de infecciones en adultos, comúnmente neonatos y niños entre 3 días hasta 4 años de edad.

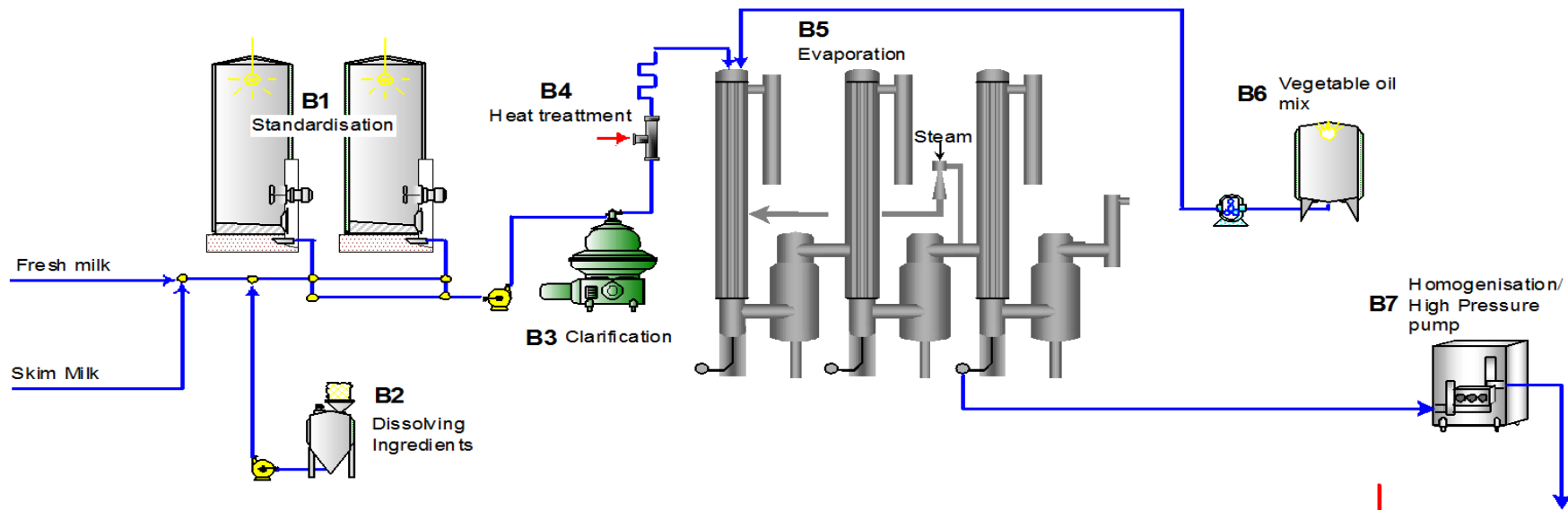
El microorganismo es considerado cosmopolita hasta la fecha.

Los alimentos mas comúnmente asociados a contaminación con E.sakazakii son la leche en polvo, alimentos infantiles deshidratados y formulas infantiles en polvo.

El máximo crecimiento es entre los 41-45 C , llegando a crecer incluso hasta 47 C algunas cepas según la literatura.

E. Sakazakii no sobrevive a la pasteurización estándar sobre 60 C, pero si es considerado de las enterobacterias como de las mas termotolerantes.

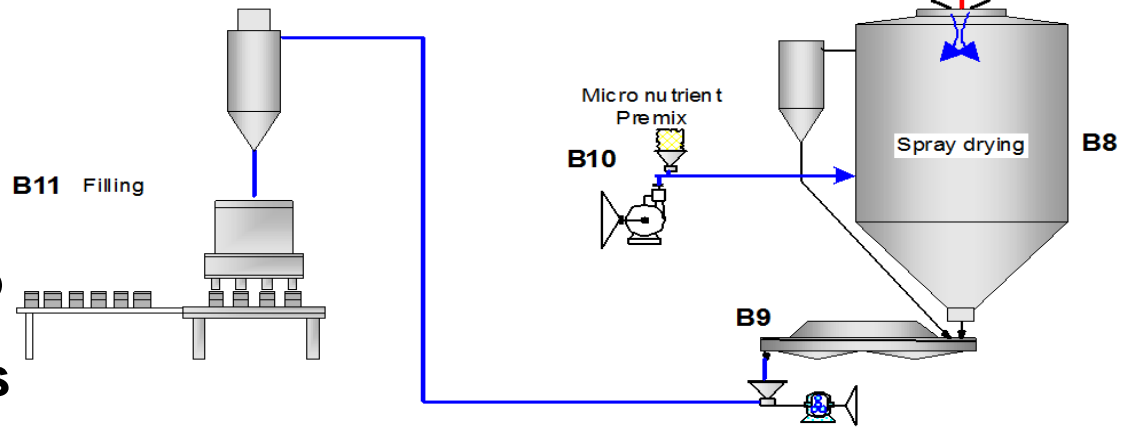
Fabricación de formula infantil – un ejemplo



Diferentes procesos existen:

Sin adiciones después del tratamiento térmico

Con adiciones después del tratamiento térmico

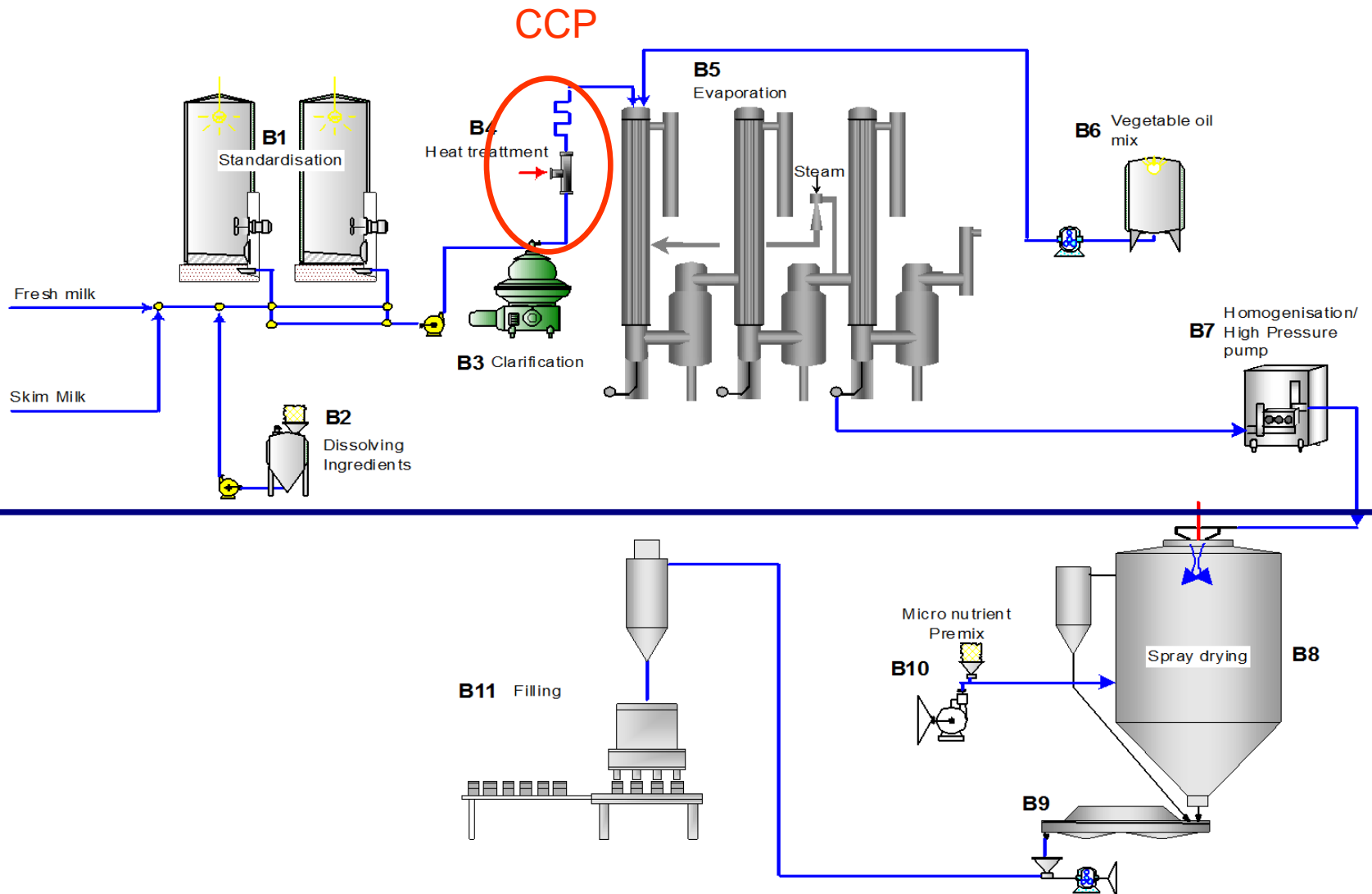


Cómo controlar las Enterobacterias y *E. sakazakii* ?



**Las enterobacterias están
omnipresente**

Elaboración de formulas infantil - fase liquida



Proceso húmedo

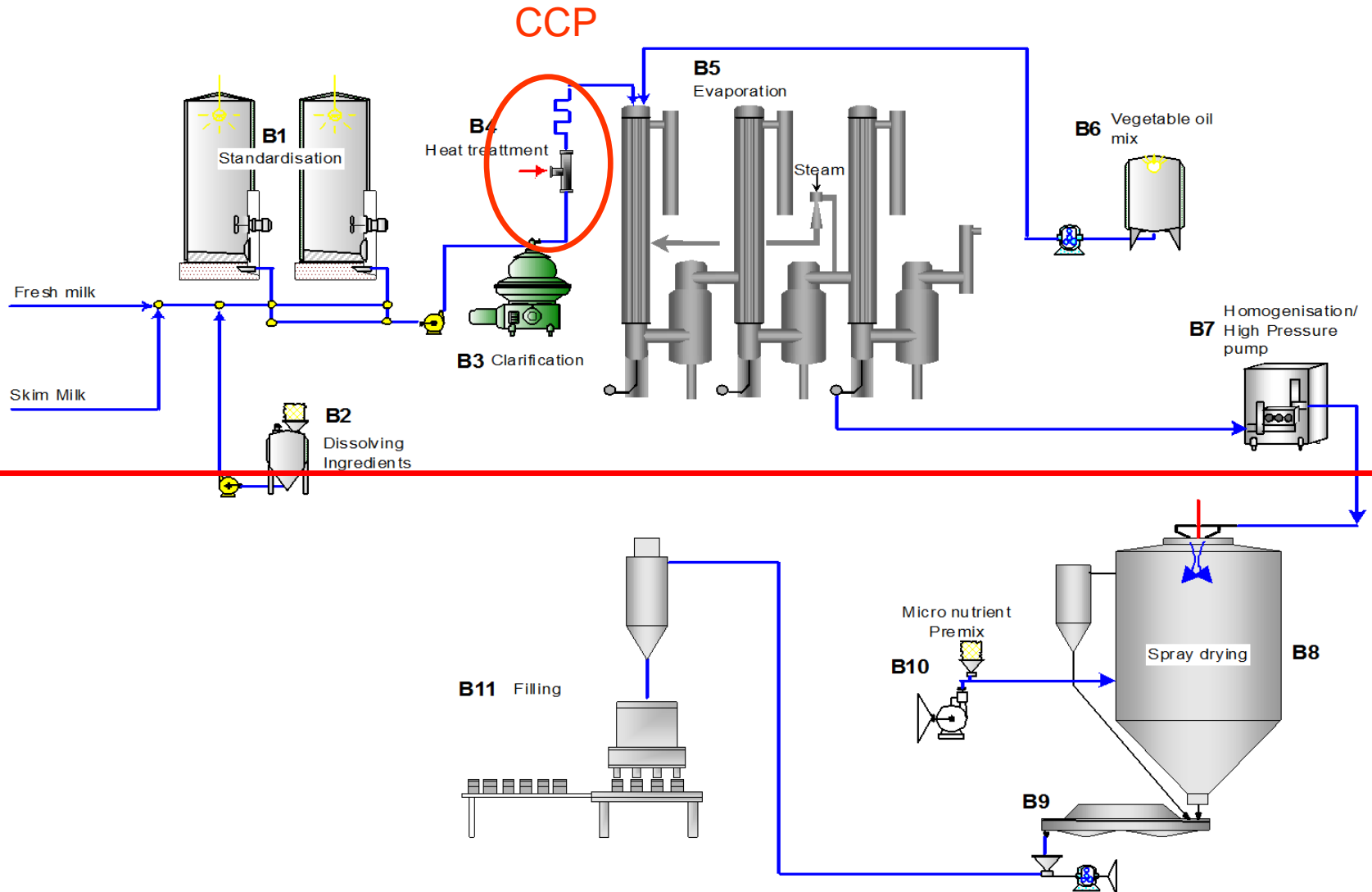
**Enterobacterias patógenas (E. Sakazakii ,
Salmonella, etcc.) con controladas:**

- **Por un apropiado tratamiento térmico
(CCP de acuerdo a HACCP)**
- **Línea de proceso con diseño higiénico
hasta el secador**

Proceso húmedo

Dependiendo de la composición del producto líquido y las condiciones de proceso, se pueden llegar a alcanzar entre 8 – 11 unidades log de reducción en esta etapa.

Elaboración de formulas infantil - fase seca



Proceso seco

La presencia de E. Sakazakii en producto terminado es siempre debido a una re-contaminación post tratamiento térmico desde la línea de proceso, medio ambiente o debido a la adición de ingredientes contaminados.

Proceso seco

El cumplimiento de la legislación local hoy no establece requerimiento específico para E. Sakazakii en formulas infantiles

Se incluye :

Germenes totales

Coliformes

S. Aureus

B.cereus

Salmonella (25 g) n= 10, Codex n= 60

Para el caso de Salmonella, se requiere completa ausencia en las líneas de proceso de ambiente seco e ingredientes de alta calidad.

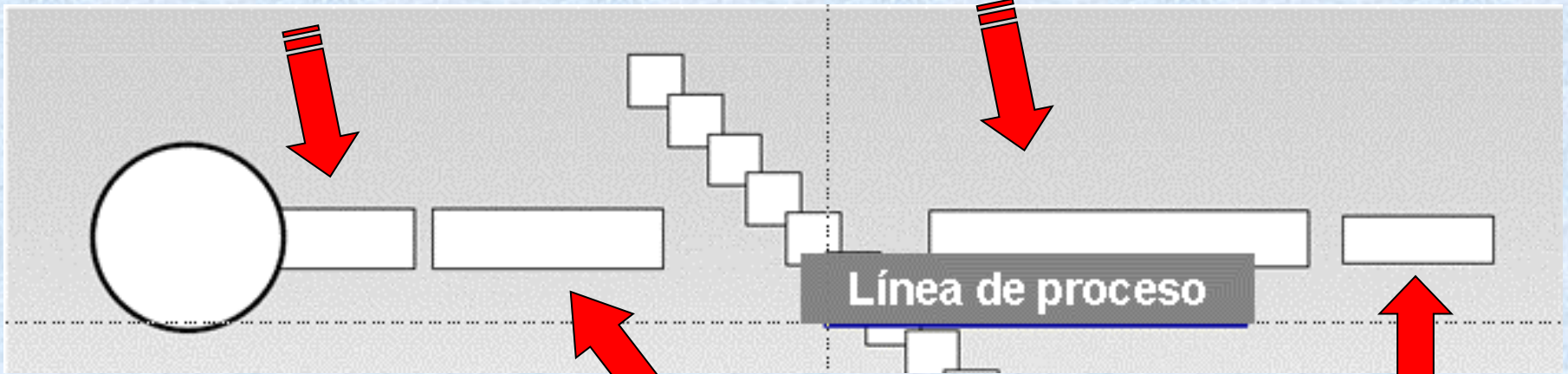
Esto se alcanza con la implementación de medidas muy rigurosas

- **condiciones de proceso** apropiadas.
- implementación de estrictas medidas de higiene, incluyendo un **zoning** , procedimientos de **limpieza (en seco)**
- **selección de ingredientes críticos**, incluyendo auditorias y requerimientos específicos.
- implementación de **procedimientos de monitoreo** para verificar la efectividad de las medidas de prevención.

Cómo podemos alcanzar esto?

$E_b (E. S. , S)$

$E_b (E. S. , S)$

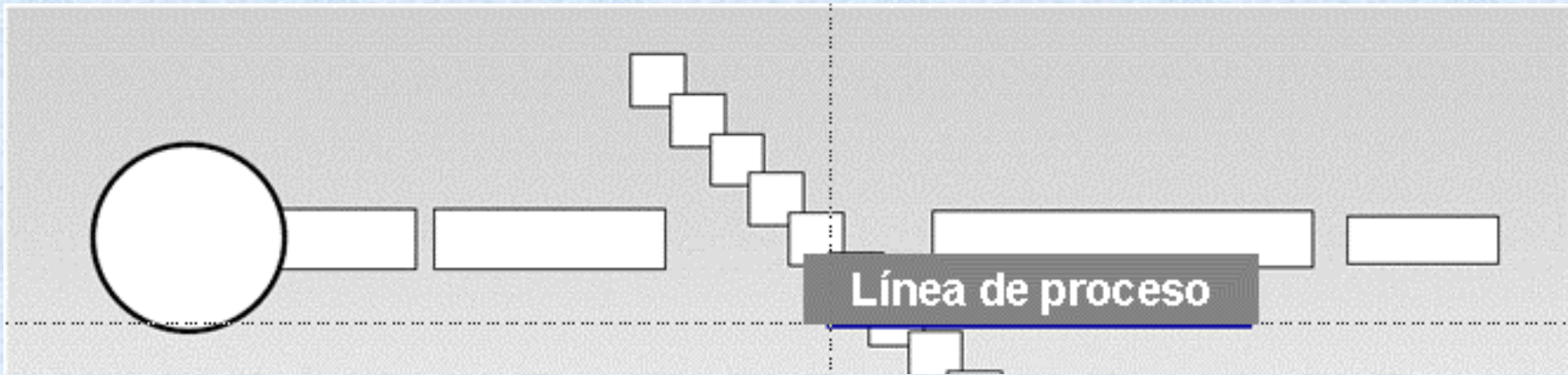


La **presencia** de $E_b (ES , S)$ en el medio ambiente aumenta la presión y probabilidad de los patógenos con muestras **positivas** en producto terminado.

$E_b (E. S. , S)$

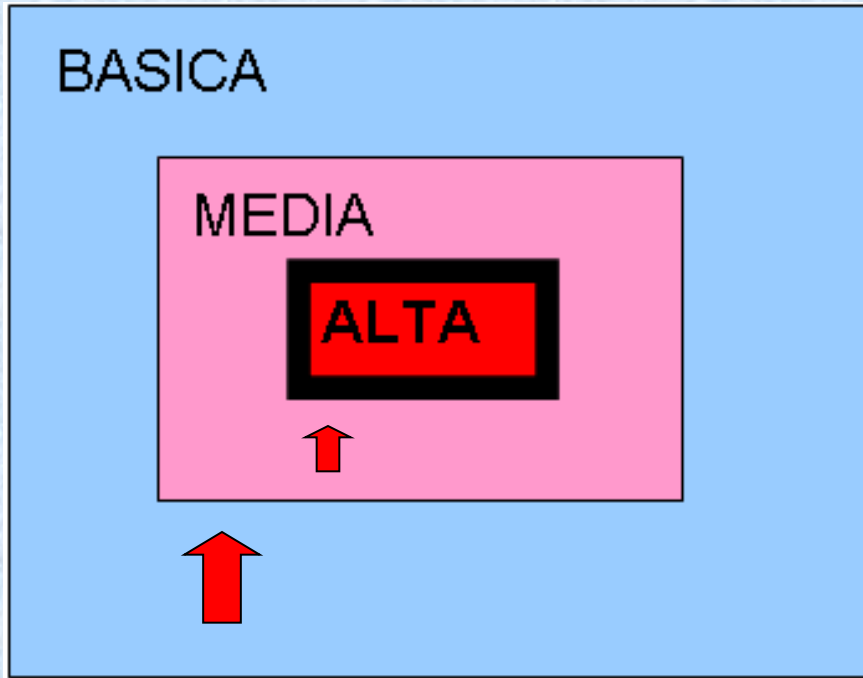
$E_b (E. S. , S)$

Cómo podemos alcanzar esto?



La **Ausencia** de Eb (ES , S)
en el medio ambiente
asegura las muestras
negativas en producto
terminado.

Cómo podemos alcanzar esto?

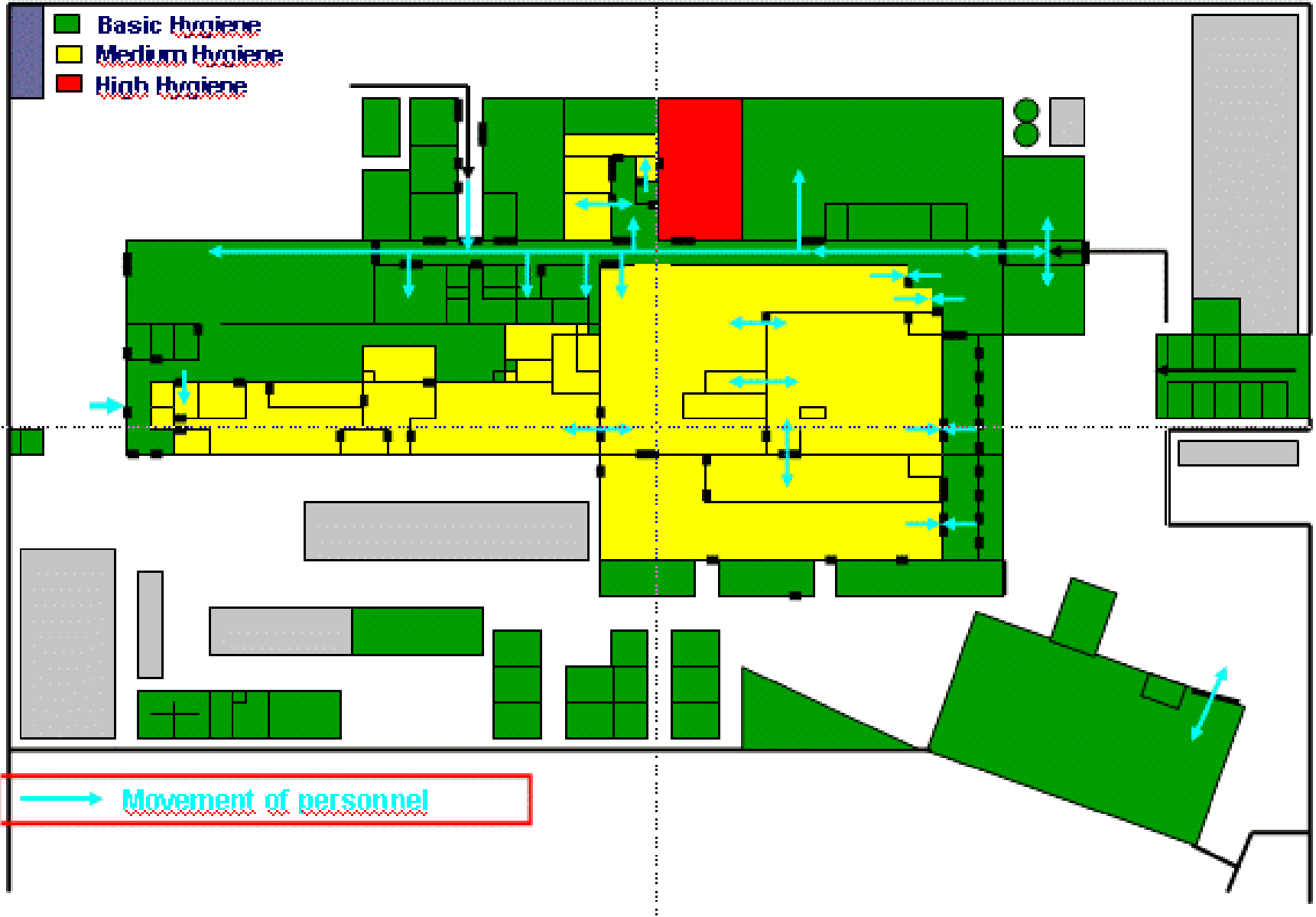


El zonning es un elemento esencial de protección al producto y detiene el acceso de potenciales patógenos como *E. sakazakii*

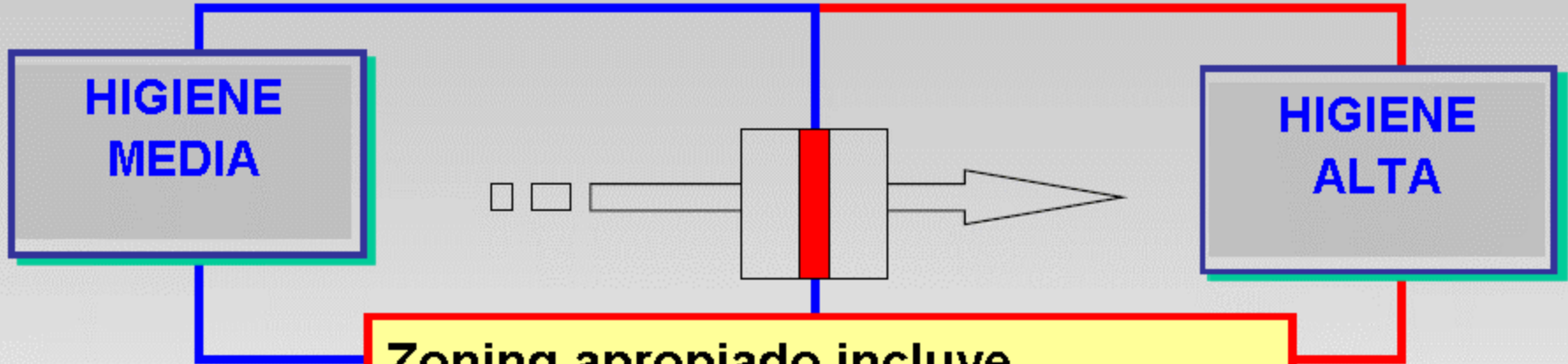
Contaminación

Cómo podemos alcanzar esto?

- Basic Hygiene
- Medium Hygiene
- High Hygiene



Cómo podemos alcanzar esto?



Zoning apropiado incluye

Diseño de edificios

Diseño de manejo de aire /flujo

Flujo de las personas y materiales

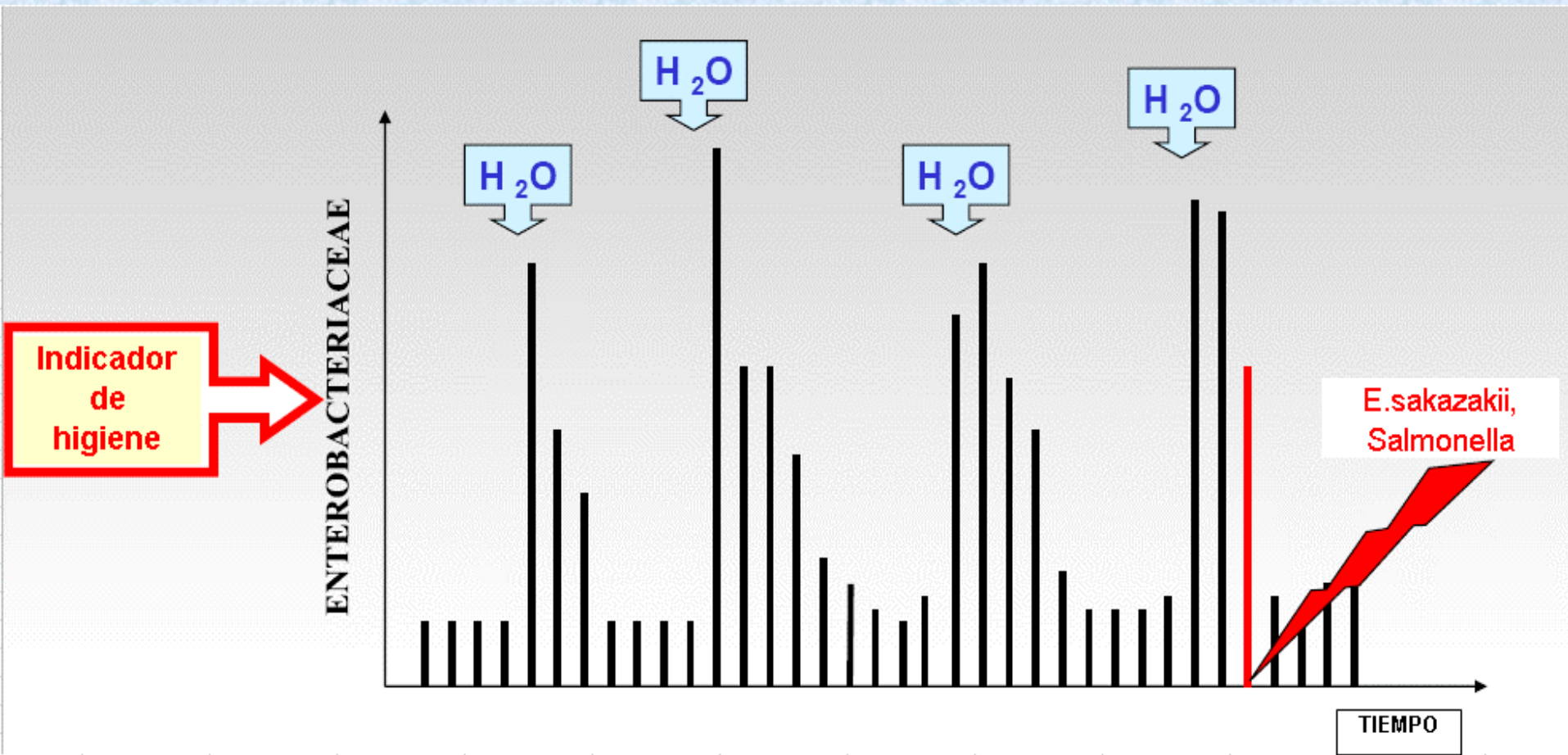
Cómo podemos alcanzar esto?



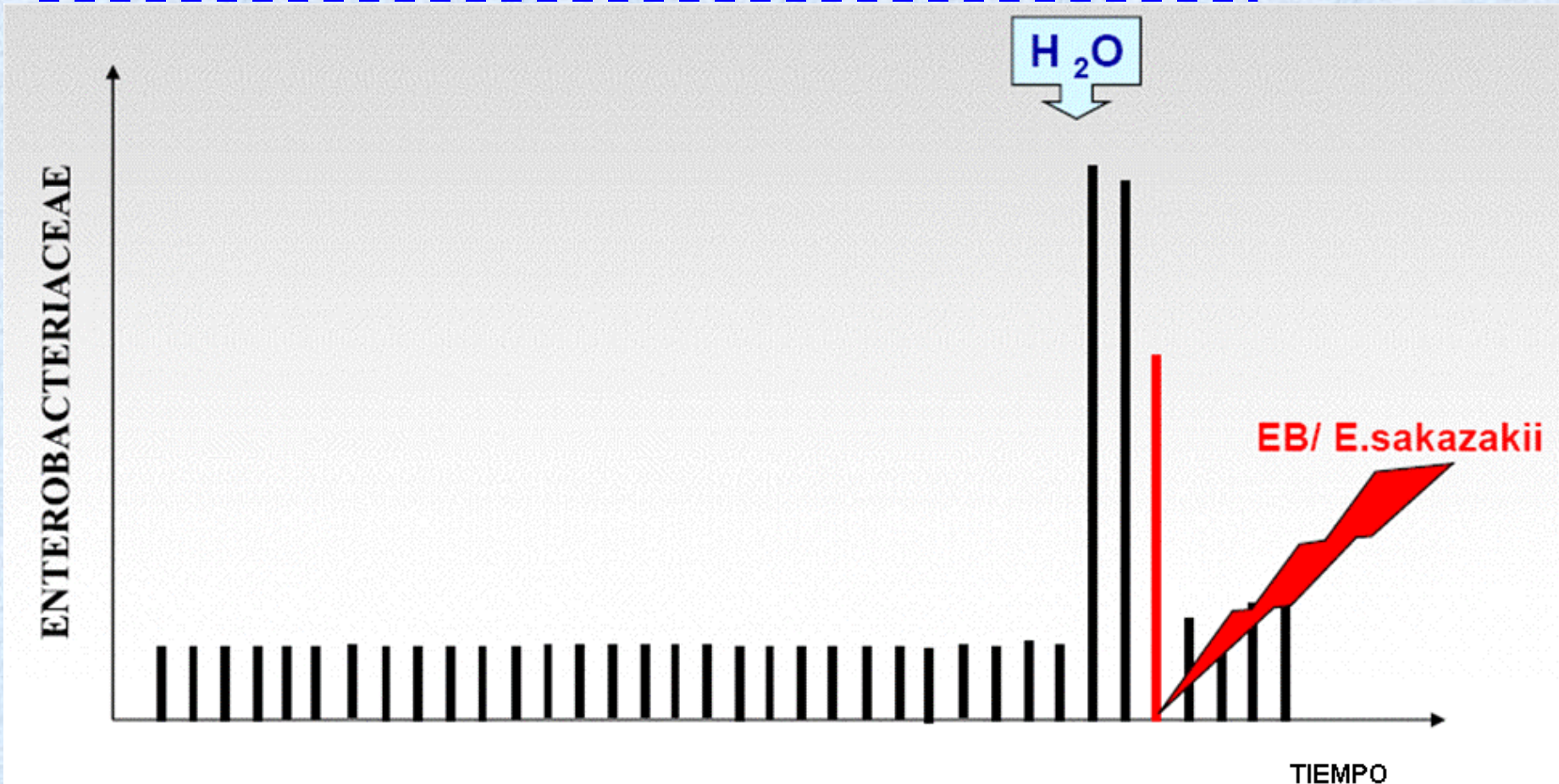
La aplicación de procedimientos de **limpieza en seco** es un elemento esencial en el control de la presencia de *E. Sakazakii* y Enterobacterias

Limpieza en seco

Consecuencias de la limpieza en húmedo



Consecuencias de la limpieza en húmedo



Bajos niveles de EB solo pueden ser alcanzados con ausencia **total** de agua

Proceso en seco - ingredientes

Ejemplos



Los ingredientes añadidos en mezcla en seco, deben cumplir completamente los **mismos requerimientos** de EB que los productos terminados

Ejemplo:

SURVEY - INGREDIENTS WITH COLIFORM POSITIVE RESULTS

Raw material (Type)	Lots received	Number samples tested / number positive (per lot)	Lots Coliform (or EB) positive in 10g	Lots Es positive in 10g	Identification
MSK	216	835/1	1	1	E. sakazakii (1)
DWP	19	23/3	3	0	Not done (2)
Sucrose	480	1691/28	13	0	E. aerogenes (2); K. ornithinolytica (2); Serratia ficaria (1); E. cloacae (2); Klebsiella terrigena (1)
Lactose	162	2219/70	14	2	E. sakazakii (3) ; Pantoea spp. (11); K. terrigena (1); Citrobacter freundii (1); E. aerogenes (1); E. cloacae (1); Escherichia amnigenus (1); Serratia odorifera (1); K. pneumoniae (1).....
Banana flakes/powder	33	105/3	1	1	E. sakazakii (3)
Orange Powder/flakes	14	61/1	1	1	E. sakazakii (1)
Lecithin	46	136/1	1	1	E. sakazakii (1)
Starch	67	1389/155	155	40	E. sakazakii (41) ; E. cloacae (20); C. freundii (1); Acinetobacter spp. (18); E. gergoviae (2); S. liquefaciens (1) . . .

Proceso en seco - ingredientes

- Hay que evaluar cuidadosamente la probabilidad de presencia de enterobacterias en los ingredientes
- El cuidado y selección estricta de los proveedores, incluyendo auditorias para evaluar la implementación de las medidas preventivas y medidas de verificación.

Ejemplo:

Monitoreo ambiental (ejemplo)

Fabrika A

% de muestras de medio ambiente con EB* >100/g

	2001	2002	2003
Secador 1 (húmeda) **	5.2	10.8	2.2
Secador 2 (seco)	1.2	1.1	0.3
Envasadora 1 (seco)	1.3	1.8	0.7

* Enterobacterias

** Tipo de limpieza

Ejemplo:

Monitoreo ambiental (ejemplo)

Fabrica A

% de muestras con **E. Sakazakii** positivo

	2003	NMP *		
		1 g	10g	100g
		% pos. en		
Secador 1 (húmeda) **	29			
Secador 2 (seco)	20			
Envasadora 1 (seco)	8			
	Global	5	8	20

* Numero mas probable

Proceso en seco - ingredientes

- La conciencia del personal y el entrenamiento juega un rol extremadamente importante
- El personal debe ser especialmente entrenado para reforzar y promover la efectividad de las medidas de control

Verificación

La efectividad de las medidas preventivas se verifica por medio del monitoreo de patógenos (E.s , S) y monitoreo de Enterobacterias (Indicador de higiene)

Los muestreos y las frecuencias de los test se ajustan

- desde un plan básico -
de acuerdo a los resultados

Materias primas

Muestras Linea

Materias
M. ambiente

P. terminado

Nivel Mínimo de control

Nivel Medio de control

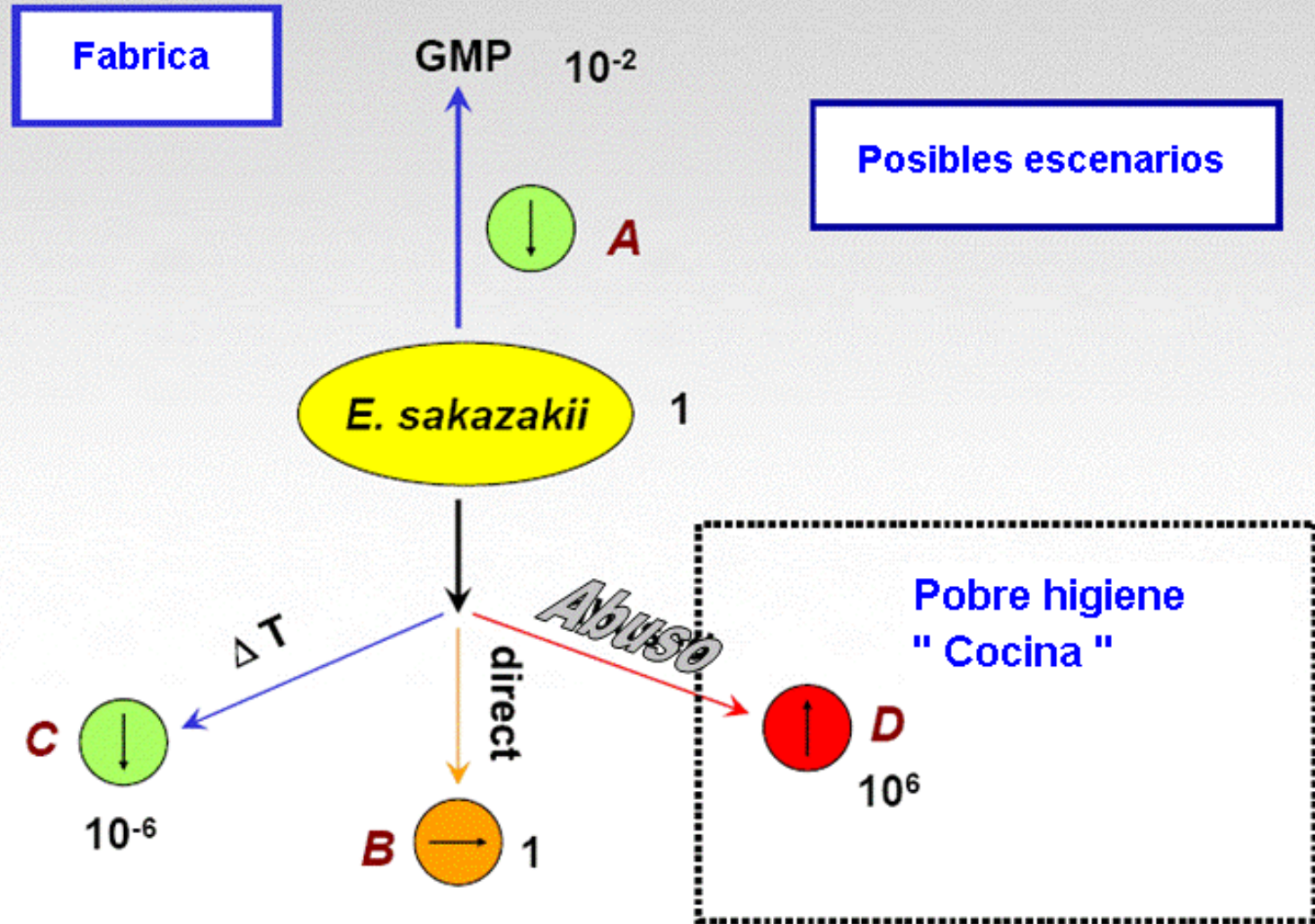
Nivel alto de control



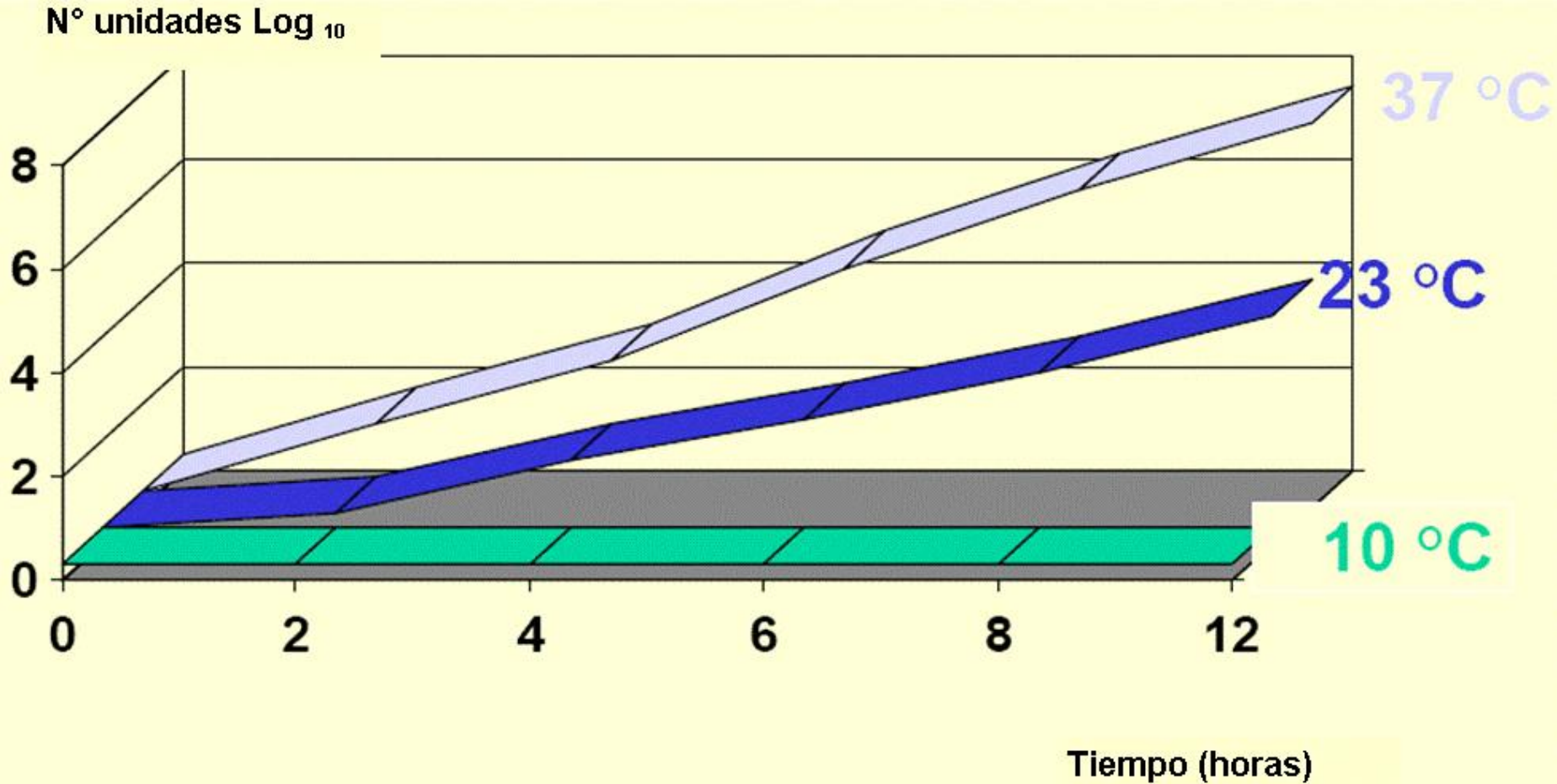
Porqué se consideran todas la EB en las medidas preventivas ?

- Cuando se compara con otras EB, no existen medidas preventivas específicas para *E. sakazakii*
- En producción, los requerimientos para *E. Sakazakii*, deben ser alcanzados en cualquier caso a través de la gestión de EB.
- EB tiene un rol mucho mas directo como indicador de *E. Sakazakii* que con otros patógenos como “S”.
- Otras EB tales como *Escherichia spp*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp* han sido origen de infección, incluyendo meningitis.

Resultados de EB/ E.sakazakii con las medidas de control



Enterobacter sakazakii puede crecer muy rápido en mamaderas reconstituidas





- Monitoreo y posterior retiro de:

- Escobillas aseo aspiradora



MUESTRAS ENTEROBACTERIAS					FECHA	
MEDIO AMBIENTE					01	02
NIVEL DE CONTROL: MINIMO					ENVIO N° 32	
CODIGO	MUESTRA	HORA	FECHA MUESTRO	DRS	RESULTADO	
					EBy	
Me-1	Escobilla amavilla n°1				>1500	
Me-2	✓ ✓ N°2				>1500	
Me-3	✓ ✓ N°3				>1500	
Me-4	✓ ✓ N°4				>1500	
Me-5	✓ ✓ N°7				>1500	
Me-6	✓ roja equipo (interior)				<10	
Me-7	✓				<10	
Me-8	✓ blanca equipo (ext)				<10	
Me-9	✓ azul equipo (interior)				<10	
Me-10	✓				<10	
Me-11	✓ amavilla n°5				>1500	
Me-12	✓ ✓ N°2				>1500	
Me-13	✓ ✓ N°9				>1500	
Me-14	✓ ✓ N°6				>1500	
Me-15	✓ ✓ N°10 v				>1500	
Me-16	✓ ✓ N°10				50	
Me-17	✓ ✓ N°8				>1500	
Me-18	✓ ✓ N°11				>1500	
Me-19	✓ ✓ N°8 (500 Hspod)				>1500	
Me-20	✓ ✓ N°6 (1000 Hspod)				>1500	
OBSERVACIONES					EXAMEN N° 507	
Escobillas Me-1 a Me-5					INICIO 01.02.06	
24 hrs. incubacion					INFORME 02.02.06	
Escobillas Me-11 a Me-18					VIB MICROBIOLOGIA	
48 hrs. incubacion						



$T = 25^{\circ}\text{C}$

Agua + Alimento + T° + t = EB

Leche y Agua entre las cerdas

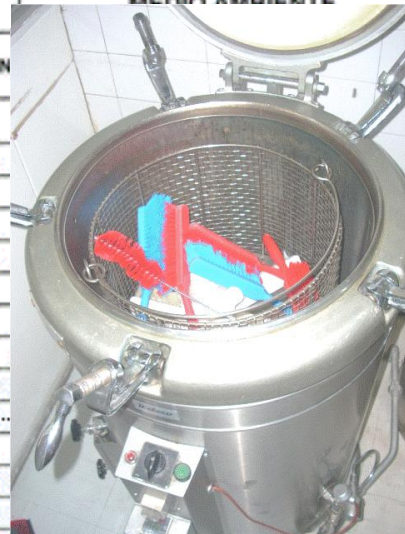
$t = >4\text{hrs}$

Esterilización EB Escobillas de Aseo

• Esterilización de los materiales de aseo utilizados en áreas de alta higiene:

- Exterior e interior de equipos
- Pisos

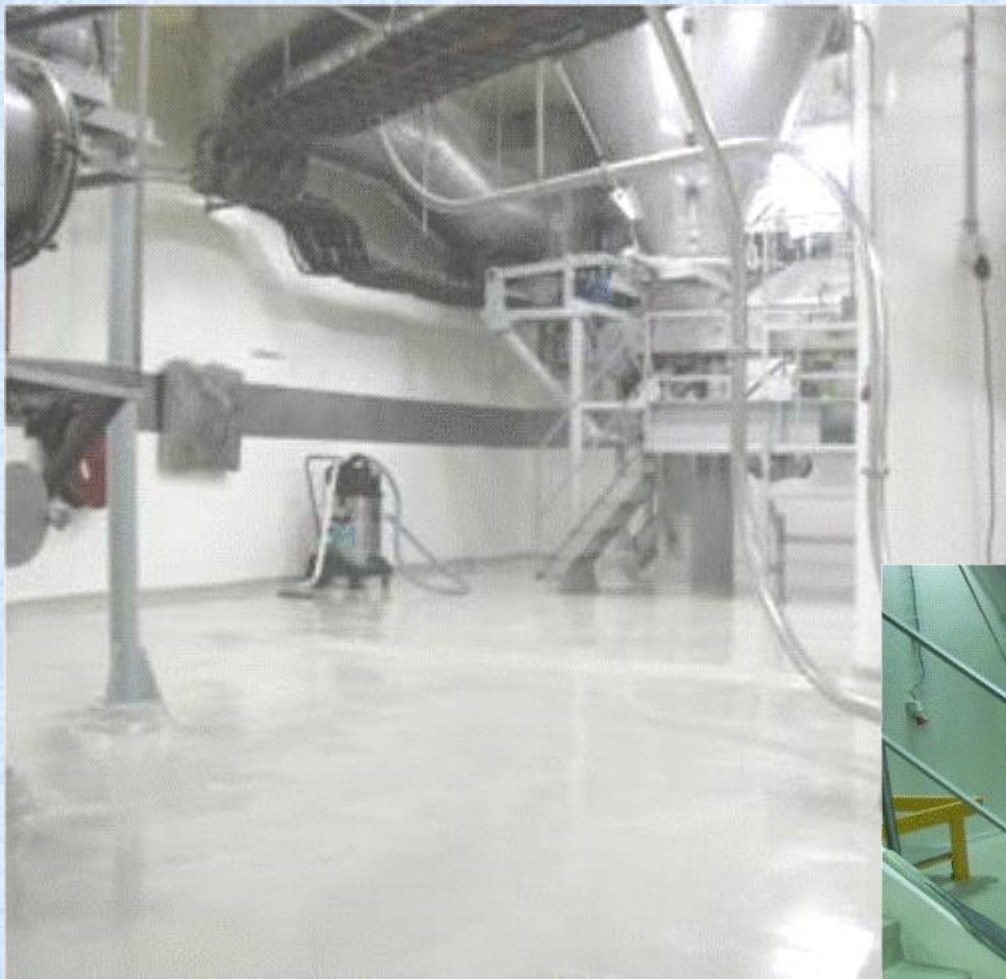
		MUESTRAS ENTEROBACTERIAS			FECHA		
		MEDIO AMBIENTE			04	02	06
NIVEL DE CON					N°		
CODIGO	MUESTRA				GRS	RESULTADO	
						EB	XL74
E.1.1.1							
E.1.1.2							
E.2.1.1							
E.2.1.2							
E.2.2							
E.2.3							
E.2.4							
E.3							
E.4							
E.5							
E.6							
E.7							
E.0							
		<i>Escobillas Autoclavadas y Secadas en estufa</i>					
Me 9	Escobilla azul mango corto	04-02-06					<10
Me 10	✓	✓	✓	✓			<10
Me 11	✓	✓	✓	✓			<10
Me 12	✓	✓	mango largo	✓			<10
Me 13	✓	blanca	✓	✓			<10
Me 14	✓	✓	✓	✓			<10
Me 15	✓	roja	mango corto	✓			<10
Me 16	✓	✓	✓	✓			<10
Me 17	✓	✓	✓	✓			<10
Me 18	✓	✓	✓	✓			<10

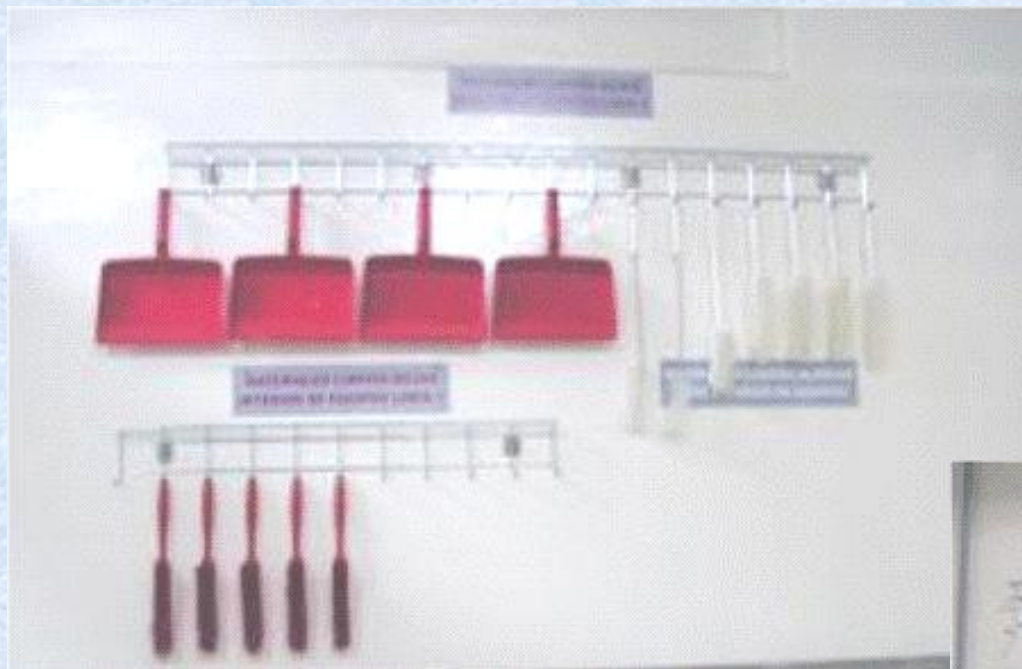












NIVEL DE HIGIENE ALTO

ZONA SECA

ACCESO RESTRINGIDO

**USO OBLIGATORIO DE CUBRECABELLOS
Y CUBRECALZADOS**

Muchas gracias por su atención !!!!