



Les informations, opinions et recommandations contenues dans la présente fiche proviennent de sources dites fiables de la littérature et ne doivent être utilisées que comme des guides pour obtenir des données relatives au danger considéré, à la maladie provoquée, aux aliments impliqués et aux mesures d'hygiène et de maîtrise recommandées aux professionnels et aux particuliers. Ces fiches ne sauraient valoir comme procédés spécifiques de production.

Février 2006

Enterobacter sakazakii

SECTION I - AGENT INFECTIEUX

NOM SCIENTIFIQUE :

Enterobacter sakazakii (autrefois appelée *Enterobacter cloacae* pigmenté en jaune).

NOM COMMUN :

Enterobacter sakazakii.

MALADIE CORRESPONDANTE :

Méningites, septicémies, bactériémies, entérocolites nécrosantes (NEC).

CARACTERISTIQUES :

E. sakazakii est un bacille mobile Gram – faisant partie de la famille des *Enterobacteriaceae*, genre *Enterobacter*. Elle n'a été reconnue comme espèce à part entière que depuis 1980.

Cette espèce se différencie des autres *Enterobacter* par son pigment jaune, sa production de Tween™ 80 estérase, sa non-fermentation du sorbitol ainsi que du mucate et par une α -glucosidase. Aucun schéma de biotypage ou de sérotypage n'est connu.

Elle pousse sur des milieux utilisés pour les organismes entériques tels que le milieu de MacConkey, la gélose à l'éosine et au bleu de méthylène, formule de Lévine (EMB) et géloses au désoxycholate. Sur les boîtes de Petri, elle peut former deux types de colonies (brillantes et/ou mates) selon le milieu et la souche. Ces deux types de colonies ne sont pas associés à des différences dans la virulence ou des caractéristiques phénotypiques. De même, il n'a pas été caractérisé de facteurs de virulence ou de pathogénicité associés, à l'exception d'une sorte d'entérotoxine (Pagotto et al., 2003).

SECTION II - ATTEINTES A LA SANTE

PATHOGENICITE

E. sakazakii est l'agent d'infections rares mais sévères touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés, ces infections étant beaucoup plus souvent identifiées chez les prématurés que chez les adultes (Hawkins et al., 1991). Les personnes les plus à risques sont les nourrissons de moins de 4-5 semaines. Cette bactérie a été associée à de nombreuses pathologies graves potentiellement létales, incluant des méningites, septicémies, bactériémies, entérocolites nécrosantes, spécialement chez le prématuré et le nouveau-né hypotrophe. La méningite peut s'accompagner de séquelles neurologiques sévères (hydrocéphalie). Les infections à *E. sakazakii* chez l'adulte se développent en règle générale sous forme de septicémie sur un terrain de pathologies sous-jacentes sévères (Lai, 2001).

EPIDEMIOLOGIE :

Système de surveillance en France : il n'existe pas de système de surveillance spécifique pour ce micro-organisme. Ces infections sont cependant surveillées par le système de signalement des infections nosocomiales (Décret n°2001-671 du 26 juillet 2001¹).

Système de surveillance en Europe : idem.

Système de surveillance aux USA : idem.

Statut épidémiologique :

Soixante-seize cas d'infections dans le monde ont été documentés. Le chiffre réel des infections est probablement plus élevé, de par le fait que les moyens nécessaires au diagnostic relèvent de la spécialisation, et car dans la majorité des pays, en l'absence de système de surveillance et de Centre Nationaux de référence

¹ Décret n°2001-671 du 26 juillet 2001 relatif à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé.

couvrant ce microorganisme, les cas ne sont pas rapportés. Aucune donnée épidémiologique n'est actuellement publiée en France. Toutefois, une alerte sanitaire a eu lieu en décembre 2004 concernant 4 cas d'infections graves chez des nouveau-nés fragilisés (dont 2 décès) et 5 colonisations imputés à la consommation de produits infantiles contaminés par *Enterobacter sakazakii*. La létalité des méningites à *E. sakazakii* chez les nouveau-nés a été estimée à 40 à 80 % des cas (Nazarowec-White & Farber, 1997b) mais s'infléchit à une valeur estimée <20% au cours de ces dernières années (CCFH, 2004).

Réservoir :

Il existe peu de données concernant l'écologie microbienne d'*E. sakazakii*. Le réservoir environnemental n'est pas clairement identifié (Bar-Oz et al., 2001). Des présomptions existent sur des insectes tels que *Stomoxys calcitrans* (mouche charbonneuse), sa présence coïncidant bien avec celle d'*E. sakazakii* (Hamilton et al., 2003). La bactérie peut être détectée dans l'intestin d'humains, d'animaux ou dans l'environnement.

Dose infectieuse / Dose réponse : il n'existe pas d'études expérimentales ou épidémiologiques sur la relation dose-réponse concernant ce micro-organisme. Il est considéré qu'il suffit de 3UFC/100g de *E. sakazakii* dans des préparations en poudre pour nourrissons pour que des infections se produisent si le biberon reconstitué est stocké dans de mauvaises conditions (à des temps et températures non recommandés par le fabricant) (FAO/OMS, 2004). Toutefois, la dose qui a réellement été ingérée par les nourrissons infectés n'est pas connue.

Transmissibilité / Mode de transmission :

Transmission par voie alimentaire.

Période d'incubation :

Non renseigné.

SECTION III - DISSÉMINATION

AGENT DE DISSEMINATION:

Les préparations en poudre pour nourrissons semblent être le vecteur de contamination (Iversen et Fosythe, 2003). Le lien entre les infections à *E. sakazakii* et la consommation de préparations en poudre pour nourrissons a été clairement établi épidémiologiquement après plusieurs investigations d'épisodes de cas groupés survenus dans des unités de néonatalogie (Simmons et al., 1989 ; Biering et al., 1989 ; Van Acker et al., 2001 ; CDC, 2002 ; Block et al., 2002). Par ailleurs, la contamination de ces préparations en poudre par *E. sakazakii*, fréquente mais à faible concentration, a été mise en évidence par plusieurs études (Muytjens et al., 1988 ; Nazarowec White & Farber, 1997b).

L'étape du processus de fabrication des préparations en poudre pour nourrissons à laquelle *E. sakazakii* contamine les préparations en poudre n'est pas encore identifiée. Néanmoins, les barèmes de traitement thermique appliqués en industrie permettent de réduire de manière significative la charge en micro-organismes sous forme végétative. Dans certains cas toutefois, la contamination semble avoir découlé du matériel utilisé pour la préparation des produits en biberonnerie (Codex Alimentarius, 2004). La contamination intrinsèque dans les usines est largement prédominante dans les données publiées. Ainsi, les résultats d'une étude sur la contamination de ces dernières (Kandhai et al., 2004) signalent que la contamination de ces produits survient probablement de façon fréquente à l'usine de production. En effet, sur neuf sites de production testés (dont 4 produisant des préparations en poudre pour nourrissons) où des prélèvements bactériologiques ont été effectués, huit ont révélé la présence d'*E. sakazakii*. Cette étude démontre également qu'*E. sakazakii* a été isolé aussi bien dans des usines de fabrication de préparations en poudre pour nourrissons que dans d'autres usines et foyers domestiques. De façon générale, *E. sakazakii* est très fréquemment isolé de l'environnement. Des contaminations croisées à domicile lors de la préparation des aliments sont également suspectées (Block et al., 2002).

ZOONOSE :

Aucune mise en évidence.

VECTEUR :

Aucun à ce jour.

SURVEILLANCE DES ALIMENTS :

Système de surveillance en France et en Europe : la surveillance d'*E. sakazakii* est réalisée selon le règlement (CE) N°2073/2005 relatif aux critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Suite à la parution d'un rapport de l'EFSA (EFSA, 2004), un critère microbiologique a été établi pour les préparations en poudre pour nourrissons et aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois. Un critère d'hygiène des procédés concernant les *Enterobacteriaceae* permet également une surveillance indirecte, intégrée aux systèmes HACCP des industries des préparations en poudre pour nourrissons. Cette approche est complétée dans tous les cas par une traçabilité des produits.

Système de surveillance aux USA : pas de système de surveillance spécifique pour ce micro-organisme. Une surveillance indirecte est effectuée par le fait que ce danger microbiologique est intégré et donc surveillé dans les systèmes HACCP des industries des préparations pour nourrissons.

SECTION IV - VIABILITÉ

SENSIBILITE AUX MEDICAMENTS (ANTIBIOTIQUES) : *E. sakazakii* est sensible à certains antibiotiques (voir Section V).

SENSIBILITE AUX DESINFECTANTS: Sensible à de nombreux désinfectants - hypochlorite de sodium à 1 %, éthanol à 70 %, glutaraldéhyde à 2 %, iode, composés phénolés, formaldéhyde (fiche santé Canada).

INACTIVATION PAR DES MOYENS PHYSIQUES :

Traitement thermique : Certaines souches d'*E. sakazakii* sont parmi les plus thermorésistantes des *Enterobacteriaceae* dans les produits laitiers. Le Tableau 1 résume les temps de réduction décimale de 5 souches isolées de prélèvements cliniques et 5 souches isolées d'aliments, lors de chauffage dans des formules reconstituées pour enfants.

Tableau 1 : valeurs de D(min) ± écart-type mesurées lors du traitement thermique de formules en poudre reconstituées pour enfants, contaminées par des souches d'*Enterobacter sakazakii* isolées de prélèvements cliniques ou d'aliments

	Température (°C)				
	52	54	56	58	60
Souches Cliniques	54,8 ± 5,7	36,7 ± 6,1	10,9 ± 1,5	5,4 ± 0,5	3,1 ± 0,1
Isolées d'aliment	54,8 ± 7,2	18,6 ± 1,1	9,7 ± 0,5	3,4 ± 0,3	2,1 ± 0,1

Nazarowec-White et Farber (1997a)

La valeur de z calculée à partir de l'ensemble des résultats était de 5,82°C.

Toujours selon cette étude, les températures minimales de croissance en milieu de culture varient de 5,5 à 8°C.

Il est à noter qu'aucune croissance n'est observée pour ce micro-organisme à 4°C.

Ionisation : aucune publication scientifique ne mentionne la sensibilité d'*E. sakazakii* à l'ionisation. La stérilisation des préparations en poudre pour nourrissons en paquets ou sachets semble possible seulement par l'ionisation. Toutefois, aux doses requises pour permettre l'inactivation d'*E. sakazakii* à l'état sec, la technologie n'apparaît pas réalisable compte tenu des altérations organoleptiques du produit et des risques sanitaires pouvant être engendrés (Codex Alimentarius, 2004). La fabrication de préparations en poudre stériles pour nourrissons n'est pas envisagée à l'heure actuelle.

Dessiccation : cette bactérie présente une forte résistance à la dessiccation (Edelson-Mammel & Buchanan, 2004 ; Breeuwer et al., 2003 ; Nazarowec-White & Farber, 1997a).

VIE ET SURVIE DANS L'ENVIRONNEMENT :

Il s'agit d'un micro-organisme classé dans les coliformes et peut donc se retrouver dans l'environnement. Il pourrait survivre dans l'environnement *via* les insectes.

SECTION V - ASPECTS MEDICAUX

DIAGNOSTIC :

Le diagnostic biologique repose sur la mise en évidence de la bactérie.

PREMIERS SOINS ET TRAITEMENT :

Antibiothérapie. Le traitement idoine au vu des résistances semble être la combinaison : nouvelles céphalosporines avec un aminoglycoside, ou encore triméthoprim – sulfaméthoxazole.
Le profil habituel de résistance aux antibiotiques semble être : céphalotine, ampicilline (fiche Santé Canada).

IMMUNISATION NATURELLE :

Aucune mise en évidence (fiche santé Canada).

VACCINATION :

Pas d'information (fiche santé Canada).

PROPHYLAXIE :

Aucune spécifique (fiche santé Canada).

SECTION VI - DANGERS POUR LE PERSONNEL DE LABORATOIRE ET MODALITES DE LA PREVENTION

INFECTIONS LIEES OU ACQUISES AU LABORATOIRE / RISQUES PROFESSIONNELS :

Aucun cas signalé à ce jour (fiche santé Canada).

SOURCES ET ECHANTILLONS :

Matières fécales, urine, sang, exsudats de plaies, crachats.

DANGERS IDENTIFIES :

Aucun identifié.

CLASSE DE CONFINEMENT

2

CLASSE DE L'AGENT :

2

PRECAUTIONS PARTICULIERES ET D'ORDRE GENERAL :

Aucune spécifique.

DEVERSEMENTS ACCIDENTELS :

Nettoyage de la surface souillée à l'aide d'un détergent, puis désinfection par hypochlorite de sodium ou tout autre désinfectant approprié.

ENTREPOSAGE :

En contenants scellés étiquetés de manière appropriée (fiche santé Canada) et à l'abri de l'humidité.

SECTION VII - RECHERCHE DANS L'ENVIRONNEMENT ET LES ALIMENTS

TECHNIQUES :

L'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) et la Fédération Internationale de Laiterie (FIL) ont récemment adopté conjointement une spécification technique (ISO/TS 22964), citée comme méthode retenue par la FIL (RM 210), définissant une méthode de détection de *E. sakazakii* dans les préparations en poudre pour nourrissons. Cette méthode a été adoptée comme méthode de référence dans le règlement européen concernant les critères microbiologiques (règlement (CE) N°2073/2005). Par la suite, un projet EN/ISO pour les aliments et les échantillons d'environnement sera envisagé.

Une méthode d'isolement/dénombrement est recommandée par la FDA depuis 2002. Cette méthode prend 5 jours et est basée sur l'approche des dilutions et du nombre le plus probable (NPP), avec utilisation de 333g de produit (3x100g, 3x10g, 3x1g). Une méthode pour la détection d'*E. sakazakii* a été récemment développée. Cette méthode est applicable à la détection d'*E. sakazakii*, après enrichissement, dans des aliments suivants : préparations pour nourrissons en poudre, ingrédients laitiers et de soja en poudre et dans les échantillons environnementaux de production alimentaire.

Différentes méthodes sont utilisées par les fabricants de formules en poudre pour enfants. Des méthodes d'énumération des coliformes dans les aliments existent également (Leclercq et *al.*, 2002). De nouveaux milieux de culture chromogéniques ont été récemment développés (Iversen et *al.*, 2004). Des méthodes de criblage des échantillons par biologie moléculaire (PCR Temps réel ou point final) existent commercialement pour détecter cette bactérie.

Il n'existe pas de méthode de recherche dans l'eau.

SECTION VIII - MODELES D'ETUDE EXPERIMENTAUX.

IN VITRO : En cours de réalisation

IN VIVO : En cours de réalisation

SECTION IX - Bibliographie

SITES INTERNET :

AESA :

http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_opinions/691_en.html

OMS :

<http://www.who.int/foodsafety/micro/meetings/feb2004/en>

FDA :

<http://www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakqa.html>

www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakaz.html

www.cfsan.fda.gov/~dms/inf-ltr3.html

<http://www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakaz.html>

Sites belges :

<http://www.md.ucl.ac.be/nosoinfo/Noso-Info-0302.pdf>

http://www.health.fgov.be/CSH_HGR/Francais/Avis/ENTEROBACTER%20SAKAZAKII.htm

Santé Canada :

http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/mh-dm/mhe-dme/compendium/volume_3/f_mflp-27.html

http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/mh-dm/mhe-dme/f_preparation_lait_maternise.html

<http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/msds-ftss/msds59f.html>

http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/mh-dm/mhe-dme/compendium/volume_3/e_mflp-27.html

Codex Alimentarius :

ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh36/fh04_11f.pdf

ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh36/fh04_12f.pdf

ftp://ftp.fao.org/codex/standard/fr/CXP_021f.pdf

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

Bar-Oz B, Preminger A, Peleg O, Block C, Arad I. Enterobacter sakazakii infection in the newborn. Acta Paediatr. 2001 Mar; 90(3): 356-8.

Biering G, Karlsson S, Clark NC, Jonsdottir KE, Ludvigsson P, Steingrimsson O. Three cases of neonatal meningitis caused by Enterobacter sakazakii in powdered milk. J Clin Microbiol. 1989 Sep;27(9):2054-6.

Block C, Peleg O, Minster N, Bar-Oz B, Simhon A, Arad I, Shapiro M. Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to unusual biochemical variant of Enterobacter sakazakii. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002 Aug; 21(8): 613-6. Epub 2002 Aug 10.

Breeuwer P, Lardeau A, Peterz M, Joosten HM. Desiccation and heat tolerance of Enterobacter sakazakii. J Appl Microbiol. 2003; 95(5): 967-73.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). Enterobacter sakazakii infections associated with the use of powdered infant formula--Tennessee, 2001. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002 Apr 12;51(14):297-300.

Edelson-Mammel SG, Buchanan RL. Thermal inactivation of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant formula. J Food Prot. 2004 Jan; 67(1): 60-3.

EFSA. 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. Adopted on 9th September 2004.

Hamilton JV, Lehane MJ, Braig HR. Isolation of *Enterobacter sakazakii* from midgut of *Stomoxys calcitrans*. Emerg Infect Dis. 2003 Oct; 9(10): 1355-6.

Hawkins RE, Lissner CR, Sanford JP. *Enterobacter sakazakii* bacteremia in an adult. South Med J. 1991 Jun; 84(6): 793-5.

Iversen C, Druggan P, Forsythe S. A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*, a preliminary study. Int J. Food Microbiol. 2004 96(2):133-9.

Iversen C, Forsythe S. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. Trends in Food Science and Technology. 2003 Nov; 14(11): 443-454.

Kandhai MC, Reij MW, Gorris PL, Guillaume-Gentil O, van Schothorst PM. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. Lancet. 2004 Jan 3; 363(9402): 39-40.

Lai KK. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults. Case reports and a review of the literature. Medicine (Baltimore). 2001 Mar; 80(2): 113-22.

Leclercq A, Wanegue C, Baylac P. Comparison of Fecal Coliform Agar and Violet Red Bile Lactose Agar for fecal coliforms enumeration in foods. J. Appl. Environm. Microbiol. 2002 Apr; 68(4):1631-1638.

Muytjens HL, Roelofs-Willemsse H, Jaspar GH. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 1988 Apr;26(4):743-6.

Nazarowec-White M, Farber JM. Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. Lett Appl Microbiol. 1997a Jan; 24(1): 9-13.

Nazarowec-White M, Farber JM. *Enterobacter sakazakii*: a review. Int J Food Microbiol. 1997b Feb; 34(2): 103-13. Review.

Pagotto FJ, Nazarowec-White M, Bidawid S, Farber JM. *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. J Food Prot. 2003 Mar; 66(3): 370-5.

Simmons BP, Gelfand MS, Haas M, Metts L, Ferguson J. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. Infect Control Hosp Epidemiol. 1989 Sep;10(9):398-401.

USFDA (US Food and Drug Administration), Center for Safety and Apply Nutrition. 2002. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. Available at

Van Acker J, de Smet F, Muyldermans G, Bougateg A, Naessens A, Lauwers S. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. J Clin Microbiol. 2001 Jan; 39(1): 293-7.

Cette fiche a été élaborée par M. LECLERCQ (Institut Pasteur – Paris) en février 2006.
Coordination scientifique : C. Bultel.