

Ocorrência de *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) em alimentos infantis adquiridos em um hospital público

Occurrence of *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) in infant food purchased in a public hospital

RIALA6/1411

Luciana Giorgetti FREITAS, Christiane Asturiano RISTORI, Miyoko JAKABI, Ana Maria Ramalho de PAULA, Ruth Estela Gravato ROWLANDS*

*Endereço para correspondência: Núcleo de Microbiologia, Centro de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz. Av. Dr. Arnaldo, 355, 1º andar, CEP: 01246-000, São Paulo, SP, e-mail: rrowlands@usp.br

Recebido: 26.08.2011 – Aceito para publicação: 22.11.2011

RESUMO

Cronobacter spp. (*E. sakazakii*) é considerada um micro-organismo oportunista que vem ganhando atenção de autoridades de Saúde Pública, pelo crescente número de surtos de infecção em recém-nascidos e lactentes. A bactéria está associada a casos raros, com alta taxa de mortalidade, podendo causar meningites, enterocolite necrosante e septicemia. *Cronobacter* spp. tem ampla disseminação, porém apenas as fórmulas lácteas infantis em pó foram, epidemiologicamente, associadas às doenças causadas por esse agente. No presente estudo foi avaliada a ocorrência de *Cronobacter* spp. em alimentos destinados às crianças de 0-36 meses de idade, adquiridos em lactário de um hospital público do município de São Paulo. Vinte e seis amostras de fórmulas reconstituídas e 24 produtos em pó foram analisados segundo a metodologia da ISO. *Cronobacter* spp. foi detectada em uma amostra (3,8%) reconstituída de alimento infantil à base de farinha de milho e em quatro desse produto em pó (16,7%). A bactéria não foi detectada nas fórmulas infantis destinadas às crianças de 0-6 meses, contudo sua presença em outros alimentos infantis pode contribuir para a contaminação do ambiente e dos utensílios dos lactários por meio da contaminação cruzada.

Palavras-chave. *Cronobacter* spp. (*E. sakazakii*), fórmulas infantis, neonatos.

ABSTRACT

Cronobacter spp. (*E. sakazakii*) is considered an opportunistic pathogen and the public health authorities have given attention to this matter because of the increasing number of infection outbreaks in neonates and infants. The bacterium is associated with rare cases which can cause meningitis, necrotizing enterocolitis and septicemia, with a high mortality rate. *Cronobacter* spp. is widely disseminated, but only the powdered infant milk formulas were epidemiologically linked to diseases caused by this agent. The aim of this study was to evaluate the occurrence of *Cronobacter* spp. in foods for children aged 0-36 months, that were purchased in a public hospital in São Paulo. Twenty six reconstituted samples and 24 powdered formulas were analyzed according to the methodology established by ISO. *Cronobacter* spp. was detected in one sample (3.8%) of reconstituted infant food based on corn flour and in other four samples (16.7%) of these powdered products. The bacterium was not detected in infant formula for children aged 0-6 months, although its presence in baby food might contribute to contaminate the lactary environment and devices by cross-contamination.

Keywords. *Cronobacter* spp (*E. sakazakii*), infant formulas, neonates.

INTRODUÇÃO

Enterobacter sakazakii é um patógeno oportunista que nos últimos anos vem ganhando a atenção de autoridades de Saúde Pública, em diversos países, pelo crescente número de surtos de infecções^{1,2}.

Recentemente, *Cronobacter* spp. foi reclassificado como um novo gênero denominado *Cronobacter* spp. incluindo seis espécies: *C. sakazakii*; *C. turicensis*; *C. muytjensii*; *C. malonaticus*; *C. dublinensis*; e *Cronobacter* genospecies^{1,3}.

O principal grupo de risco envolvido em casos e surtos de infecções por *Cronobacter* spp. são os recém-nascidos, neonatos de baixo peso (<2500g), imunocomprometidos e particularmente os prematuros, que necessitam de cuidados especiais na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neonatal. A bactéria pode afetar também indivíduos de outras faixas etárias, entretanto os casos envolvendo adultos e crianças com idade superior a 12 meses são raros^{2,4,5}.

A forma clínica mais frequente da infecção por *Cronobacter* spp. é a meningite que ocorre em 70% dos casos⁶. As complicações e a letalidade são elevadas, podendo ocorrer enterocolite necrosante, bacteremia e septicemia^{5,7,8}. A maioria das crianças que sobrevivem à meningite associada à *Cronobacter* spp. desenvolve sequelas neurológicas irreversíveis como hidrocefalia, tetraplegia e retardamento do desenvolvimento neurológico⁹. A taxa de mortalidade é elevada, variando de 60 a 80%^{9,10}.

Cronobacter spp. é um organismo ubíquo¹¹ cujo reservatório primário ainda é desconhecido, mas o solo, a água e os vegetais são as principais fontes de contaminação dos alimentos, sendo os ratos e as moscas considerados fontes adicionais de contaminação¹². A bactéria tem sido isolada de ambientes domésticos e indústrias, como as fábricas de leite em pó^{11,13} e de diversos alimentos como queijos, produtos cárneos, hortaliças¹⁴, frutas, vegetais, cereais, ervas e condimentos¹⁵.

Embora este micro-organismo já tenha sido isolado de uma grande variedade de alimentos e ambientes, somente as fórmulas lácteas infantis em pó foram associadas, epidemiologicamente, às doenças causadas por *Cronobacter* spp.^{5,10,16,17}.

De acordo com a *Food and Agriculture Organization* (FAO) e a *World Health Organization* (WHO)¹, as fórmulas lácteas infantis em pó destinadas às crianças de 0-6 meses apresentam risco significativo de contaminação por *Cronobacter* spp., entretanto, nos últimos anos, as fórmulas

lácteas infantis em pó destinadas às crianças entre 6-12 meses (fórmulas de segmento) e os ingredientes adicionais utilizados nessas fórmulas, têm sido as principais fontes de contaminação cruzada e de isolamento do patógeno. As fórmulas lácteas infantis em pó são os substitutos que mais se aproximam da composição do leite materno e, geralmente, são utilizadas por crianças hospitalizadas e prematuras, mais susceptíveis a infecções, crianças de mães portadoras do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e por crianças de mães impossibilitadas de amamentar ou que simplesmente optam pela não amamentação¹⁰.

No Brasil, alguns estudos sobre a ocorrência de *Cronobacter* spp. em alimentos infantis já foram realizados¹⁸⁻²⁰, entretanto ainda são poucas as informações com relação à presença desta bactéria nestes produtos. Além disso, há poucos casos descritos de infecções por *Cronobacter* spp.^{7,21}. A escassez de dados, principalmente os epidemiológicos, dificulta o monitoramento de surtos de origem alimentar no país, bem como a realização de estudos de Avaliação de Risco²².

A FAO e WHO¹ sugerem que os países investiguem as fontes e veículos de infecção desse micro-organismo, dentre os quais, as fórmulas lácteas infantis em pó, para um melhor entendimento da ecologia, virulência e reservatório do micro-organismo.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência de *Cronobacter* spp. em fórmulas lácteas infantis e outras preparações, em pó e reconstituídas, não autoclavadas, destinadas a crianças entre 0-36 meses de idade, adquiridas em lactário de um hospital público do município de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de agosto a novembro de 2008 foram coletadas amostras de fórmulas lácteas infantis e outras preparações, em pó e reconstituídas, não autoclavadas. Foram analisadas 50 amostras, sendo 26 amostras reconstituídas (5 fórmulas lácteas infantis, 7 fórmulas de segmento, 8 de alimento infantil à base de farinha de milho, 4 de alimento infantil à base de farinha de arroz, 1 de aveia em flocos e 1 de leite em pó integral) e 24 amostras em pó (4 de fórmulas lácteas infantis, 7 fórmulas de segmento, 8 de alimento infantil à base de farinha de milho, 3 de alimento infantil à base de farinha de arroz, 1 aveia em flocos e 1 de leite em pó integral).

Os produtos foram reconstituídos de acordo com as normas estabelecidas pelo lactário, sendo as fórmulas

Tabela 1. Ocorrência de *Cronobacter* spp. em amostras, de produtos em pó, adquiridas em lactário de um hospital público do município de São Paulo

Tipo de Amostra	Nº amostras analisadas	Nº amostras positivas	
		Teste convencional	kit API 20E
Fórmula infantil (0-6 meses)	4	0	0
Fórmula de segmento (6-12 meses)	7	0	0
Alimento infantil à base de farinha de milho (6-36 meses)	8	5	4
Alimento infantil à base de cereais de farinha de arroz (6-36 meses)	3	0	0
Aveia em flocos (6-36 meses)	1	0	0
Leite em pó (6-36 meses)	1	0	0
Total	24	5	4

láticas infantis, fórmulas de segmento e leite em pó reconstituídos com água fervente e os demais alimentos com leite tipo B fervente.

As amostras de produtos em pó foram coletadas em bolsas plásticas esterilizadas e as reconstituídas, em recipientes plásticos esterilizados; cada amostra foi constituída por no mínimo 200 g ou 200 mL e, foram transportadas ao laboratório em caixas isotérmicas, sob refrigeração e analisadas após, no máximo, 2 horas da reconstituição.

A metodologia da *International Organization for Standardization*²³ foi utilizada. Inicialmente, foi realizada a etapa de pré-enriquecimento em que uma porção de 100 g ou 100 mL de cada amostra foi homogeneizada em 900 mL de água peptonada tamponada 1% e incubada a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 ± 2 horas. Em seguida, 0,1 mL de cada amostra foi transferido para 10 mL de caldo lauril sulfato triptose modificado adicionado de 0,1 mL de solução vancomicina na concentração final de 10µg/mL. Os tubos foram incubados em banho-maria a $45 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Após este período uma alíquota de cada tubo foi estriada em placas de ágar de isolamento de *Enterobacter sakazakii* (ESIA) e incubadas a $44 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas.

As colônias suspeitas, com coloração verde-azulada, foram isoladas em ágar tripticase de soja e incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 44-48 horas. Após a incubação foram realizadas as seguintes provas bioquímicas

Tabela 2. Ocorrência de *Cronobacter* spp. em amostras, de produtos reconstituídos, adquiridas em lactário de um hospital público do município de São Paulo

Amostra	Nº amostras analisadas	Nº amostras positivas	
		Teste convencional	Kit API 20E
Fórmula infantil (0-6 meses)	5	0	0
Fórmula de segmento (6-12 meses)	7	0	0
Alimento infantil à base de farinha de milho (6-36 meses)	8	1	1
Alimento infantil à base de cereais de farinha de arroz (6-36 meses)	4	0	0
Aveia em flocos (6-36 meses)	1	0	0
Leite em pó (6-36 meses)	1	0	0
Total	26	1	1

para a confirmação de *Cronobacter* spp.: hidrólise de citrato; teste de oxidase; teste de arginina desidrolase e lisina/ ornitina descarboxilase e teste de fermentação de carboidratos (D-sorbitol, D-rhamnose, D-sucrose e D- melibiose). As colônias positivas pelos testes bioquímicos convencionais também foram confirmadas no Kit API® 20E (Biomérieux®).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de produtos em pó analisadas, destinadas às crianças com idade entre 0 a 36 meses, foram obtidas de embalagens manipuladas no lactário (latas abertas) para o preparo das fórmulas reconstituídas. *Cronobacter* spp. foi detectada somente em alimentos infantis à base de farinha de milho, sendo isolada em 16,7% (4/24) do total de amostras em pó analisadas de diferentes lotes. Entre as cinco amostras positivas pelos testes bioquímicos convencionais, apenas quatro foram confirmadas pelo Kit API®, sendo este último resultado considerado no presente estudo. Nos demais tipos de amostras analisadas, o patógeno não foi encontrado (Tabela 1).

Com relação aos produtos reconstituídos, foram analisadas 26 amostras, sendo que apenas uma (3,8%) de alimento infantil à base de farinha de milho foi positiva para *Cronobacter* spp. (Tabela 2). Esta amostra foi preparada com o produto em pó que apresentou resultado positivo para o patógeno.

Em diversos países, a investigação de surtos causados por *Cronobacter* spp. em hospitais, principalmente em UTI, demonstraram que a bactéria pode ser detectada em amostras de fórmulas infantis, provenientes de embalagens fechadas ou não, fórmulas reconstituídas e utensílios utilizados para preparação dessas fórmulas^{5,24-26}.

No presente estudo, a *Cronobacter* spp. não foi detectada entre as fórmulas destinadas ao principal grupo de risco para este micro-organismo (crianças de 0-6 meses), entretanto a sua ocorrência em outros tipos de produtos, como as farinhas de milho, pode favorecer a circulação do patógeno no lactário e, conseqüentemente, representar um risco de contaminação para os demais produtos desidratados e reconstituídos.

Resultados similares aos do presente estudo foram observados por Restaino et al.²⁷ que não detectaram *Cronobacter* spp. em fórmulas infantis em pó, mas verificaram sua presença em outros produtos em pó como farinhas (trigo, milho, soja e arroz), cereais infantis, vegetais e condimentos secos.

Shaker et al.²⁸ avaliaram a ocorrência de *Cronobacter* spp. em 106 amostras de fórmulas lácteas reconstituídas, fórmulas lácteas em pó, alimentos infantis, cereais, açúcares e especiarias. A bactéria foi isolada de duas amostras de fórmulas reconstituídas, duas de alimentos infantis e uma de cereais. Nazaromec-White e Farber²⁹ analisaram 120 amostras de fórmulas lácteas em pó de cinco produtores e lotes diferentes e verificaram a presença de *Cronobacter* spp. em oito (6,7%) amostras.

No Brasil, alguns estudos sobre a ocorrência de *Cronobacter* spp. já foram realizados em produtos lácteos, utensílios e no ambiente de maternidades. Gillio¹⁸ analisou 150 amostras de fórmulas lácteas infantis em pó e todas apresentaram população de *Cronobacter* spp. menor que 0,03 NMP/100g. Santos²⁰ analisou 175 amostras provenientes de hospitais e maternidades da região de Campinas (SP), constituídas por fórmulas lácteas em pó e reconstituídas, leite de vaca com amido, leite UHT, amido, utensílios usados na preparação das mamadeiras e água utilizada para reconstituição das fórmulas. *Cronobacter* spp. foi isolada em 12 amostras de fórmulas lácteas em pó e em quatro de amido. No estudo realizado por Palcich¹⁹ foram analisadas 292 amostras (fórmulas desidratadas e reconstituídas, e utensílios) provenientes de três Hospitais Maternidades da Grande São Paulo. *Cronobacter* spp. foi isolada em amostras

de mamadeira, fórmula infantil desidratada lacrada e esponja de lavagem das mamadeiras.

A contaminação das fórmulas em pó por *Cronobacter* spp. pode ocorrer durante a etapa de processamento na indústria devido às condições higiênicas inadequadas e/ou adição de ingredientes contaminados^{16,30}. A presença de *Cronobacter* spp. em fórmulas lácteas, mesmo em baixos níveis, pode estar relacionada à elevada resistência térmica desse micro-organismo e ao seu grande potencial de multiplicação, particularmente no intervalo de tempo entre o preparo e o consumo da fórmula reconstituída, sendo considerados fatores de risco significativo². Além disso, quando comparados com outras bactérias da família Enterobacteriaceae o micro-organismo apresenta maior resistência à temperatura^{31,32}, ao stress osmótico e dissecação³³, o que garante a sua sobrevivência em produtos desidratados.

Alguns estudos sugerem que as fórmulas devem ser reconstituídas com água aquecida em torno de 70 °C e armazenadas abaixo de 4 °C, minimizando a multiplicação de *Cronobacter* spp.^{10,34}. Entretanto, essa prática nem sempre é adotada e algumas fórmulas possuem instruções com temperatura de reconstituição em torno de 40 °C, faixa de temperatura que favorece o desenvolvimento de *Cronobacter* spp. e outras enterobactérias³⁵. Por outro lado, a FAO e WHO¹ alertam que temperaturas superiores a 70 °C favorecem a formação da reação de Maillard, reduzindo a biodisponibilidade de micronutrientes, perdendo assim, o valor nutricional do alimento.

Apesar das normas do lactário em questão preconizarem a utilização de água ou leite tipo B fervente para reconstituição dos produtos, verificou-se a presença de *Cronobacter* spp. em uma amostra de alimento infantil a base de farinha de milho reconstituída com leite. O binômio tempo/temperatura pode não ter sido suficiente para eliminar o micro-organismo, uma vez que a bactéria foi também detectada no produto em pó. Além disso, fórmulas reconstituídas com água ou leite apresentam pH inicial em torno de 6,0 o que permite o desenvolvimento de *Cronobacter* spp.³⁵.

De acordo com o *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC)⁶, se a única opção disponível para atender as necessidades nutricionais dos recém-nascidos e crianças forem as fórmulas lácteas infantis, condições adequadas de temperatura e armazenamento durante o preparo destes produtos devem ser adotadas para reduzir os riscos de contaminação e infecções por micro-organismos patogênicos.

CONCLUSÃO

A presença de *Cronobacter* spp. em outras preparações destinadas às crianças, além das fórmulas infantis, pode contribuir para a contaminação do ambiente e de utensílios dos lactários, favorecendo a contaminação cruzada.

Portanto, a implantação de medidas preventivas em ambientes como lactários e indústrias é fundamental para minimizar os riscos associados ao consumo desse tipo de alimento, principalmente aqueles destinados às crianças com idade entre 0 a 6 meses.

REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization/World Health Organization - FAO/WHO. *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered follow-up formulae. Microbiological Risk Assessment Series, 2008. [acesso 2008 Jun 15]. Disponível em: [http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra_followup/en/index.html].
2. World Health Organization - WHO. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula. In: Joint FAO/WHO Workshop; 2004; Geneva, Sz. [Acesso 2008 Jun 20]. Disponível em [http://www.who.int/foodsafety/micro/jemra/meetings/feb2004/en/].
3. Healy B, Cooney S, O'Brien S, Iversen C, Whyte P, Nally J, et al. *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*): An Opportunistic Foodborne Pathogen. *Foodborne Pathog Dis*. 2010;7(4):339-50.
4. Food and Drug Administration - FDA. Health professionals letter on *Enterobacter sakazakii* infections associated with used of powdered (dry) infant formulas in neonatal intensive care units. 2002. [acesso 2007 Jun 20]. Disponível em: [http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Product-SpecificInformation/InfantFormula/AlertsSafetyInformation/ucm11299.htm].
5. Van Acker J de, Smet F, Muyldermans G, Bougateg A, Naessens A, Lauwers S. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Cronobacter* spp. in powdered milk formula. *J Clin Microbiol*. 2001;39(1):293-7.
6. Centers for Diseases Control and Prevention - CDC. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula-Tennessee. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2002;51(14):297-300.
7. Barreira ER, Souza DC, Góis PF, Fernandes JC. Meningite por *Enterobacter sakazakii* em recém-nascido: relato de um caso. *Pediatr*. 2003;25(1/2):65-70.
8. Lai KK. *Enterobacter sakazakii* infection among neonates, infants, children, and adults: case report and review of the literature. *Medicine*. 2001;80(2):113-22.
9. Farber JM. *E. sakazakii*: new foods for thought? *Lancet*. 2004;363(9402):5-6.
10. World Health Organization - WHO. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formulas: meeting report. In: Microbiological Risk Assessment Series. 2007. [Acesso 2008 Jun 20]. Disponível em: [http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra/index/html/].
11. Kandhai MC, Reij MW, Van-Puyvelde K, Guillaume-Gentil O, Beumer, RR, Van Schothorst M et al. Occurrence of *E. sakazakii* in food production environments and households. *Lancet*. 2004;363(9402):39-40.
12. Hamilton JV, Lehane MJ, Braig HR. Isolation of *Enterobacter sakazakii* from midgut of *Stomoxys calcitrans*. *Emerg Infect Dis*. 2003;9(10):1355-6.
13. Mullane NR, Iversen C, Healy B, Walsh C, Whyte P, Wall PG, et al. *Enterobacter sakazakii* an emerging bacterial pathogen with implications for infant health. *Minerva Pediatr*. 2008; 59(2):137-48.
14. Leclercq A, Wanegue C, Baylac P. Comparation of fecal coliform agar and violet red bile lactose agar for fecal coliform enumeration in foods. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68(4):1631-8.
15. Friedemann M. *Enterobacter sakazakii* in food and beverages (other than infant formula and milk powder). *Int J Food Microbiol*. 2007;116(1):1-10.
16. Iversen C, Forsythe SJ. Comparison of Media for the Isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(1):48-52.
17. Lehner A, Stephan R. Microbiological, epidemiological, and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii*. *J Food Prot*. 2004;67(12):2850-7.
18. Gillio CM. *Enterobacter sakazakii* em fórmulas lácteas infantis desidratadas para bebês de 0-6 meses [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2006.
19. Palcich G. Ocorrência de *Enterobacter sakazakii* no ambiente de lactários de Maternidades da Grande São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2007.
20. Santos, RFS. Ocorrência de *Enterobacter sakazakii* em fórmulas infantis para lactantes em Hospitais e Maternidades da região de Campinas – SP [dissertação de mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2006.
21. Santos M, Silva C, Sampaio J, Marangoni D, Pinto M, Moreira B. Detection and control of *Enterobacter sakazakii* sepsis outbreak in four hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Infect Control Hosp Ep*. 2000;21(2):140.
22. Nero LA. *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção [tese de doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2005.
23. International Standard Organization (ISO) TC34/SC 5N. Milk and Milk products – Detection of *Enterobacter sakazakii*. Geneva; 2004.
24. Bar-Oz B, Peleg O, Block C, Arad, I. *Enterobacter sakazakii* infection in the newborn. *Acta Paediatr*. 2001;90(3):356-8.
25. Block C, Peleg O, Bar-Oz B, Simhon A, Arad I, Shapiro M et al. Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to unusual biochemical variant of *Enterobacter sakazakii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21(8):613-6.
26. 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 Ep*. 1989;10 (9):398-401.
27. Restaino L, Frampton EW, Lionberg WC, Becker RJ. A chromogenic plating medium for the isolation and identification

- of *Enterobacter sakazakii* from foods, food ingredients, and environmental sources. *J Food Prot*. 2006;69(2):315-22.
28. Shaker R, Osaili T, Al-Omary W, Jaradat, Z, Al-Zuby, M. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments. *Food Control*. 2007;18(7): 1241-5.
 29. Nazarowec-White M, Farber JM. Incidence, survival and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *J Food Prot*.1997;60(3):103-13.
 30. Iversen C, Forsythe, SJ. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends Food Sci Tech*. 2003;14(11): 443-54.
 31. Nazarowec-White M, Farber JM. Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. *Lett Appl Microbiol* .1997;24(1):9-13.
 32. Breeuwer P, Lardeau A, Peterz M, Joosten HM. Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*. *J Appl Microbiol*. 2003;95(5):967-73.
 33. Barron JC, Forsythe S. Dry stress and survival time of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacteriaceae* in dehydrated powdered infant formula. *Food Protect*. 2007;70(9):2111-7.
 34. Gurtler JB, Beuchat LR. Growth of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula as affected by composition and temperature. *J Food Prot*. 2007;70(9):2095-103.
 35. Osaili T, Shaker R, Ayyash M, Al-Nabulsi AA, Forsythe SJ. Survival and growth of Cronobacter species (*Enterobacter sakazakii*) in wheat-based infant follow-on formulas. *Lett Appl Microbiol*. 2008;48(4):408-12.