

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE MICROBIOLOGÍA

**ANALISIS COMPARATIVO DE LA HIGIENE EN
LAS FÓRMULAS ENTERALES DE LOS
SERVICIOS DE ALIMENTACIÓN EN HOSPITALES
CLASE A DEL ÁREA METROPOLITANA**

**PROYECTO DE GRADUACION PRESENTADO A LA FACULTAD
DE MICROBIOLOGIA COMO REQUISITO PARA OPTAR POR EL
GRADO DE LICENCIATURA EN MICROBIOLOGIA Y QUIMICA
CLINICA**

ELABORADO POR: ADRIANA ALFARO NAJERA

TUTORA: DRA. MARIA LAURA ARIAS

2002

INDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
RESULTADOS.....	18
DISCUSION DE RESULTADOS.....	27
BIBLIOGRAFIA	32
ANEXOS.....	36

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°1. DISTRIBUCION DE LA POSITIVIDAD DEL MUESTREO DE FORMULAS ENTERALES REALIZADO DE NOVIEMBRE DEL 2001 A MARZO DEL 2002 EN EL HOSPITAL A	18
CUADRO N°2. DISTRIBUCION DE LA POSITIVIDAD DEL MUESTREO DE FORMULAS ENTERALES REALIZADO DE NOVIEMBRE DEL 2001 A MARZO DEL 2002 EN EL HOSPITAL B	20
CUADRO N°3. DISTRIBUCION DE LA POSITIVIDAD DEL MUESTREO DE FORMULAS ENTERALES REALIZADO DE NOVIEMBRE DEL 2001 A MARZO DEL 2002 EN EL HOSPITAL C	22

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1. DISTRIBUCION PROMEDIO DE LA ALIMENTACION ENTERAL ESTUDIADA SEGÚN POSITIVIDAD POR EL METODO SIM PLATE VRS RECuento TOTAL EN EL HOSPITAL A	19
FIGURA N°2. DISTRIBUCION PROMEDIO DE LA ALIMENTACION ENTERAL ESTUDIADA SEGÚN POSITIVIDAD POR EL METODO SIM PLATE VRS RECuento TOTAL EN EL HOSPITAL B	21
FIGURA N°3. DISTRIBUCION PROMEDIO DE LA ALIMENTACION ENTERAL ESTUDIADA SEGÚN POSITIVIDAD POR EL METODO SIM PLATE VRS RECuento TOTAL EN EL HOSPITAL C	23
FIGURA N°4. DISTRIBUCION DE LA POSITIVIDAD DEL MUESTREO REALIZADO POR EL METODO LIGHTNING EN EL HOSPITAL A.....	24
FIGURA N°5. DISTRIBUCION DE LA POSITIVIDAD DEL MUESTREO REALIZADO POR EL METODO LIGHTNING EN EL HOSPITAL B.....	25
FIGURA N°6. DISTRIBUCION DE LA POSITIVIDAD DEL MUESTREO REALIZADO POR EL METODO LIGHTNING EN EL HOSPITAL C.....	26

DEDICATORIA

A ti Mamá, porque si el Padre no te hubiera encomendado esta misión mi vida hubiese estado perdida, tu has sido la luz que ha iluminado mi camino y el bastón en el que me he apoyado siempre para seguir adelante.

Gracias por estar siempre allí para mí.

Te amo.

AGRADECIMIENTOS

Gracias Señor por darme esta vida llena de bendiciones y por estar conmigo siempre.

Papá gracias por tu apoyo.

A la Doctora María Laura por su guía y al señor Francisco Soto por su apoyo en la parte experimental.

RESUMEN

Alfaro Nájera, Adriana

Análisis comparativo de la higiene en las fórmulas enterales de los servicios de alimentación en Hospitales clase A del área metropolitana.

Trabajo de Graduación Microbiología y Química Clínica. –San José, C. R.:

A. Alfaro N., 2002.

43 h.:il. –30 refs.

Se propone evaluar la calidad bacteriológica de las fórmulas enterales infantiles en tres hospitales de clase A del Área Metropolitana haciendo un análisis comparativo entre el método de recuento total estándar y un método rápido alternativo.

Se analizaron muestras de fórmula en polvo de inicio para lactantes y recién nacidos de bajo peso en dos Hospitales clase A de adultos, así como fórmulas enterales artesanales: licuados de frutas y vegetales en un Hospital pediátrico. Se homogenizaron y se realizaron diluciones decimales de la muestra madre, cada una fue montada por duplicado por el método de recuento total por vaciado en agar estándar, así como en placas de método rápido de recuento total Sim Plate con indicador de color, ambas se incubaron a 35 °C durante 48 y 24 horas respectivamente. Previo a la toma de muestra se realizó un hisopado a los utensilios utilizados en la preparación de las fórmulas con el método de validación de limpieza Lightning de lectura por bioluminiscencia de ATP, con el cual se detectan residuos alimenticios midiendo el trifosfato de adenosina (ATP). Este valor puede emplearse para controlar la eficiencia de los procedimientos de limpieza en los lugares donde se procesan alimentos.

Se pudo observar que en los alimentos enterales estudiados, las fórmulas hechas a partir de frutas y vegetales presentan recuentos del orden de 10^6 UFC/mL, y las fórmulas lácteas aún cuando vienen estériles y empaçadas en latas en promedio se encontró una contaminación de alrededor de 10^2 UFC/mL por ambos métodos, esto demuestra una muy alta correlación estadística. El método de detección de ATP por bioluminiscencia

Lightning sirvió como base de confirmación de que, área sucia significa alto recuento como ocurrió con el equipo de preparación de los licuados de frutas y vegetales, y un bajo recuento un área más limpia.

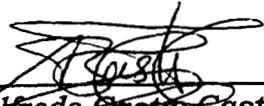
Siendo los pacientes alimentados con fórmulas enterales, enfermos en estado delicado y muchos de ellos inmunocomprometidos es importante enfatizar que la contaminación bacteriana de los alimentos es más problemática que en los pacientes sin estos compromisos. Por esto que la calidad microbiológica de los alimentos juega un papel preponderante ya que una infección gastrointestinal en dichos pacientes puede producir una permanencia hospitalaria más allá de lo esperado, aumentar los gastos médicos, producir depresión del estado anímico del paciente, e incluso puede llegar a producir la muerte. Por esto, la prevención en los procesos de manipulación se verá favorecida en la medida en que la educación y concientización de los manipuladores de los alimentos se vaya asumiendo, tanto a nivel de vigilancia y control de su salud, como respecto a la higiene y seguridad en todas las manipulaciones que lleven a cabo. AAN.

Palabras claves: FORMULAS ENTERALES; HIGIENE ALIMENTARIA; RECUENTO BACTERIANO.

Directora: Dra. María Laura Arias
Facultad de Microbiología

Informe Final de Práctica Dirigida de Graduación presentado a la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el Título de Licenciada en Microbiología y Química Clínica y grado profesional de Doctora en Microbiología y Química Clínica.

El Tribunal Examinador estuvo integrado por los siguientes miembros:


Dr. Alfredo Castro Castillo
Presidente


Dra. Ma. Laura Arias Echandi


Dra. Carolina Chaves Ulate


Dr. Rafael Jiménez Bonilla


Dra. Adriana Troyo Rodríguez

INTRODUCCION

Históricamente la alimentación enteral se remonta a los egipcios y griegos muchos cientos de años antes de Cristo. Estas culturas fueron las primeras en incursionar en el tubo digestivo, con mezclas de alimentos que infundían por vía rectal (Heymsfield et al, 1985; Savino, 1986).

No hay muchos avances científicos en este campo hasta finales de 1950, en que Pereira publica la experiencia con 240 pacientes alimentados por sonda, siendo mantenidos de esta forma por largo tiempo (Piza y Gallegos, 1991).

Con base en el nuevo conocimiento y la progresiva utilización de las sondas de alimentación, las soluciones de nutrientes se han hechos más complejas, y las mezclas de alimentos han ido dando paso a otro tipo de formulaciones, cuya composición fue más definida.

En Costa Rica, así como en otros países, el soporte nutricional se inició por vía parenteral en tanto que la utilización de la vía enteral se ha desarrollado más lentamente (Piza y Gallegos, 1991).

El apoyo nutricional que se le brinda a un paciente cuando éste se encuentra ingresado en un centro hospitalario lleva como fin principal brindar nutrientes como lo son: las proteínas, carbohidratos, lípidos, electrolitos y vitaminas entre otros, los cuales son fundamentales para reparar y mantener la masa corporal así como para mejorar el cuadro clínico del paciente.

El desarrollo de la biología molecular en la nutrición ha abierto un nuevo panorama a la nutrición artificial del futuro. Todavía quedan muchas incógnitas respecto del metabolismo del enfermo grave y de los medios por los cuales la nutrición artificial puede apoyar en su tratamiento (Villazón, 1993).

Por esto en las últimas décadas la alimentación enteral ha adquirido suma importancia como un método de soporte nutricional seguro y eficiente en la rehabilitación de pacientes hospitalizados.

Definición de Alimentación Enteral

La alimentación enteral puede definirse como la administración de nutrientes a través del tracto gastrointestinal y es el método de elección cuando éste es funcional. La American Society for Parental and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N), la define como el suministro de dietas líquidas por sonda o boca dentro del tracto gastrointestinal.

Vías de administración

Una vez que se identifica la necesidad del tratamiento nutricional entérico, es necesario determinar la vía o ruta adecuada de suministro conforme a las necesidades de fondo del paciente y que permita cubrir los requerimientos nutricionales establecidos. La alimentación enteral puede realizarse por dos vías: oral o por sonda.

a. Vía oral:

Por esta vía se suministran dietas de consistencia líquida, entre ellas licuados hechos con alimentos enriquecidos con suplementos nutritivos, o solamente suplementos. Ejemplo de éstos son las fórmulas para lactantes. Son utilizados en pacientes donde el consumo de los alimentos y el número de las comidas son suficientes para satisfacer las necesidades nutricionales. Los suplementos pueden ser parte de la dieta o bien suministrar el total de los requerimientos proteicos y energéticos (Zeman, 1983).

b. Por sonda:

Administración de suplementos alimenticios líquidos mediante incursión en diferentes puntos del tubo digestivo.

Alimentación colectiva

Se define la alimentación colectiva como “aquella que se elabora para un número determinado de comensales superior a los que comprende un grupo familiar” (Cervera, 1999).

La creciente necesidad de alimentar a un gran número de personas a la vez precisa una cierta organización, así como la adopción de una serie de normas relacionadas con la nutrición y la higiene, todo ello sin dejar de lado las características sensoriales de las comidas con objeto de hacerlas más apetecibles a los distintos tipos de comensales.

Fórmulas utilizadas

El amplio uso de la alimentación enteral en los últimos años ha provocado el desarrollo de productos con un valor nutritivo definido. Este es un gran avance en el manejo nutricional, pues disminuye el riesgo de contaminación y permite el conocimiento exacto de la fórmula, lo cual hace más sencillo el manejo de cualquier complicación.

La dieta licuada corriente o normal, es un régimen de alimentación que permite satisfacer las necesidades nutricionales de un paciente. Está compuesta por los siguientes tipos de licuados: licuado de leche, licuado de vegetales, atoles, helados, gelatina o cereal. Un licuado puede ser tanto corriente como especial, agregando fórmulas comerciales en caso de ser necesario.

Fórmulas complejas

Este grupo comprende los licuados de alimentos y fórmulas completas.

- a. Fórmulas completas:** también llamadas intactas, son fórmulas comerciales equilibradas que aportan cerca del 100% de las recomendaciones dietéticas diarias.

- b. Licuados de alimentos:** compuestos por alimentos habituales, que al mezclarse, dan como resultado preparaciones, que por sus características físicas pueden pasar por una sonda o ser administrados de forma oral. Por ejemplo, sólidos en suspensión elaborados a base de leche, vegetales, carnes, verduras y frutas, que además pueden ser enriquecidos con fórmulas comerciales.

La nutrición clínica enteral según la Sociedad Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (ASPEN) la clasifica en dos categorías:

Nutrición oral: cuando los alimentos se dan directamente a través de la boca.

Nutrición por sonda: cuando se da la alimentación a través de un tubo que lleva los nutrientes hasta el tracto gastrointestinal.

Las fórmulas enterales que se suministran pueden ser de dos tipos:

- Artesanales:

Preparadas a base de alimentos naturales (leche, carne, huevos, verduras y frutas) con la adición de vitaminas y minerales o sin ella. Por su misma constitución y preparación estas fórmulas presentan una alta probabilidad de contaminación bacteriana.

- Comerciales:

Preparados a base de concentrados prefabricados que proveen los nutrientes necesarios para satisfacer las recomendaciones diarias con un mínimo riesgo de contaminación bacteriana.

Leches “Maternizadas”

Estas fórmulas artificiales se basan en la leche de vaca, pero están especialmente preparadas para que se parezcan a la composición de la leche humana lo más estrechamente posible. Las modificaciones han alterado el tipo de proteína y la grasa. En la mayoría de los casos la grasa ha sido reemplazada con aceite vegetal, que tiene algunas propiedades similares a la grasa de la leche materna. El carbohidrato ha sido ajustado con lactosa y se ha realizado cierto número de cambios en los otros elementos nutritivos, especialmente calcio y fósforo, sodio y potasio, hierro y algunos de microelementos, como el zinc. La fórmula ha sido fortificada con vitaminas solubles en grasa, vitamina C y muchas del complejo de vitamina B, incluso vitamina B₁₂ y folato. Como son alimentos “completos”, estos polvos sólo requieren su reconstitución a la forma líquida, generalmente una parte por volumen en siete partes de agua hervida, aunque hay variaciones menores entre las marcas (Cameron, 1980).

Dada la importancia que tienen las fórmulas enterales en el proceso de recuperación del paciente la preparación y administración de éstas debe hacerse en condiciones lo más asépticas posibles para prevenir su contaminación y por ende evitar complicaciones que interfieran con la salud del paciente.

Este interés es aún mayor cuando se trata de infantes y neonatos sobre todo si son prematuros ya que por su condición inmunológica quizás no podrían hacerle frente a una infección cuya fuente de origen sea de tipo alimentario, ya sea porque la fórmula enteral se contaminó desde su origen (sus ingredientes), o durante la preparación por el equipo usado o por el personal que lo prepara.

Los diversos factores que entran en juego en la patología del recién nacido pueden ser resumidos así:

Prenatales	Perinatales	Postnatales
Enfermedades maternas infecciosas	Afecciones respiratorias	Afecciones digestivas
Enfermedades maternas no infecciosas	Alteraciones sanguíneas	Síndrome de posmadurez
Herencia	Infecciones generales	Afecciones respiratorias
Prematurez	Malformaciones congénitas	Afecciones umbilicales
	Traumas obstétricos	Afecciones de la piel
		Enfermedades metabólicas y endocrinas
		Infecciones generales

Por lo tanto los servicios de alimentación hospitalarios presentan puntos críticos de control importantes, que deben ser monitoreados periódicamente con el fin de evitar la aparición de focos de contaminación.

Otra fuente importante de contaminación es la acumulación de residuos de leche que cubren el fondo del biberón, la parte interna del cuello del mismo y del chupón. Esto provee un medio rico para el crecimiento de multitud de bacterias, incluyendo algunas que pueden ocasionar gastroenteritis devastadora (diarrea y vómito). Muchos de los biberones disponibles en el mercado están hechos de un plástico barato, con una superficie áspera y porosa, por lo que resultan más difíciles de limpiar. Cada nueva preparación de fórmula láctea que se pone en el biberón queda contaminada inmediatamente. Además, el calor en los países tropicales como el nuestro acelera la reproducción de las bacterias.

Las fuentes de contaminación bacteriana están en todas partes: en las manos, las moscas, la tierra y hasta el agua que se utiliza para preparar las leches artificiales.

Higiene Alimentaria

Aproximadamente desde 1880 se conoce la contaminación de los alimentos por microorganismos productores de enfermedades.

Según la Organización Mundial de la Salud a través de un Comité de Expertos en Higiene Alimentaria, ésta “comprende todas las medidas necesarias para garantizar la inocuidad sanitaria de los alimentos, manteniendo a la vez el resto de cualidades que le son propias y con especial atención del contenido nutricional” (Cervera, 1999).

Todos los alimentos a excepción del agua y la sal, por su propia condición nutritiva, son perecederos, es decir, susceptibles de alterarse y deteriorarse con mayor o menor rapidez, pudiendo incluso llegar a ser causa de problemas sanitarios.

Las causas de alteración de los alimentos pueden ser: físicas, químicas, bioquímicas o biológicas. Nos limitamos aquí a las biológicas o bióticas.

Dentro de las causas biológicas, es preciso diferenciar la forma de actuar de los distintos microorganismos.

Mohos

Son responsables del enmohecimiento que se aprecia a veces en la superficie de algún alimento; por ejemplo, en el pan, las frutas o las legumbres.

Levaduras

La actuación de las levaduras produce CO₂, por lo que todo alimento sobre el que han actuado aumenta de volumen, es decir, se hincha y puede producir formas espumosas.

Bacterias

Son los microorganismos que más trascendencia tienen en alimentación, tanto por su utilización en la industria alimentaria transformadora, como por la responsabilidad de algunas bacterias patógenas en la aparición de los cuadros patológicos denominados “toxiinfecciones alimentarias”.

Muchos de estos microorganismos son útiles y se usan habitualmente en la producción alimentaria. Otros son totalmente inocuos para el organismo humano, y sólo unos pocos son patógenos. Éstos son los responsables directos de las toxiinfecciones alimentarias, ya sea por el propio microorganismo, por las toxinas que elaboran o por ambos factores a la vez.

Se citan algunas bacterias comunes:

- Útiles: Lácticas
Acéticas
Sacarolíticas
Proteolíticas

- Patógenas: Salmonelas
Estafilococos
Clostridios
Shigella
Escherichia coli
Bacillus cereus, etc.

Los cuadros clínicos que originan las toxiinfecciones alimentarias se pueden prevenir y evitar si se impide o dificulta al máximo el crecimiento microbiano. Es preciso para ello no mantener los alimentos en las condiciones óptimas de proliferación, que son conocidas y por tanto evitables.

Virus

Dentro de la problemática microbiológica, es importante diferenciar la acción de los virus, ya que éstos no crecen en el alimento (cosa que si hacen las bacterias), sino que utilizan éste como medio de transporte. Los virus necesitan una célula viva para desarrollarse.

Parásitos

La parasitación se puede dar en alimentos de origen animal como vegetal en que se pueden encontrar oxiuros (lombrices), que también son responsables de ciertos trastornos, en especial en la edad infantil.

En general, el número y clase de microorganismos presentes en un producto alimenticio elaborado se ve influenciado por los siguientes factores:

1. Ambiente general en el que el alimento ha sido originalmente obtenido.
2. Su calidad microbiológica en estado fresco o no elaborado.
3. Las condiciones sanitarias en que el producto ha sido manipulado y elaborado.
4. Las condiciones en que se haya envasado, manejado y conservado para mantener un alto grado de asepsia (Jay, 1978).

Todos los alimentos, con la excepción de los que han sido obtenidos en condiciones de esterilidad, pueden contener una cierta cantidad de microorganismos de uno u otro tipo. Idealmente, el número de microorganismos deberá ser lo más bajo posible, siempre que se mantengan las condiciones de producción satisfactorias. Por lo tanto el recuento en placa constituye una de las prácticas más importantes en el campo de la microbiología de los alimentos.

Recuento Total como indicador de calidad sanitaria de los alimentos

El recuento total o recuento en placa de aerobios (RPA) en los productos alimenticios refleja las condiciones de manipulación, el estado de alteración o el grado de frescura, pueden además indicar la calidad sanitaria de los alimentos.

El método de recuento estándar en placas (REP) consiste en mezclar muestras alícuotas de alimentos, seriadamente se disuelven en un diluyente adecuado y se siembran en placa en o sobre un medio de agar conveniente, se incuban a una temperatura apropiada durante un tiempo determinado y se cuentan todas las colonias visibles como unidades formadoras de colonia (UFC) (Jay, 1978).

Cuando se indica el recuento total de células vivas en un alimento, se considera que el contaje es una función en la que intervienen al menos varios de los siguientes factores:

1. El método de muestreo utilizado.
2. La distribución de los microorganismos en la muestra de alimento.
3. La naturaleza de la flora en el alimento.
4. La naturaleza del alimento.
5. Los antecedentes del producto alimenticio.
6. Las propiedades nutricias del medio utilizado en placas.
7. La temperatura y tiempo de incubación utilizado.
8. El pH, aw y Eh del medio de las placas.
9. El tipo de diluyente empleado.
10. La cantidad relativa de microorganismos de la muestra de alimento.
11. La existencia de otros microorganismos, sean competitivos, antagónicos o de otro tipo.

Es necesario hacer notar que los recuentos totales bajos no siempre son representativos de productos higiénicos, ya que aunque el recuento total sea escaso es posible que el alimento contenga coliformes.

También es posible encontrar alimentos con recuentos bajos en los que se han desarrollado organismos que producen toxinas, las cuales pueden ser estables, aunque las condiciones no favorezcan la supervivencia de los elementos celulares.

Los alimentos pueden ser además el vehículo a través del que llegan al consumidor ciertos gérmenes patógenos incapaces de desarrollarse en ellos. Los alimentos en este caso actúan de modo similar a como pudiera hacerlo un pañuelo, un vaso, etc. A las infecciones así transmitidas pertenecen por ejemplo ciertas fiebres tíficas y paratíficas, disenterías bacilar y amebiana y el cólera, todas ellas infecciones del tracto intestinal.

Es importante entonces definir varios términos importantes:

Enfermedad alimenticia: cualquier enfermedad causada por el consumo de alimentos.

Intoxicación alimenticia: enfermedad ocasionada al ingerir un alimento en el que se encuentra un veneno. Las intoxicaciones alimenticias que producen las bacterias se dividen en dos grupos fundamentales:

- (1) Botulismo determinado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por *Clostridium botulinum*.
- (2) Intoxicación estafilocócica producida por la toxina de *Staphylococcus aureus*.

Infección alimenticia: es la determinada por la invasión, multiplicación y alteraciones tisulares del huésped que producen los gérmenes patógenos transportados por el alimento. Se presentan infecciones de dos clases:

- (1) Aquellas en las que los alimentos no constituyen, en general, el medio de cultivo de los gérmenes patógenos, pero los transportan (tuberculosis, difteria, disenterías, fiebre tifoidea, brucelosis, cólera, etc.).

- (2) Aquellas en que los alimentos constituyen el medio de cultivo de los gérmenes patógenos que al multiplicarse aumentan la posibilidad de infectar al consumidor. A este grupo pertenecen los gérmenes del género *Salmonella*. Los brotes de infecciones alimenticias de este tipo son en general más explosivos que los causados por otros gérmenes patógenos intestinales (Frazier, 1985).

Del mismo modo pueden transportarse los gérmenes productores de ciertas enfermedades del aparato respiratorio: tuberculosis, escarlatina, difteria, etc. La brucelosis, tularemia, faringitis séptica, y hepatitis infecciosa pueden también transmitirse por los alimentos.

Los alimentos se contaminan con éstos gérmenes a partir de los operarios que los manipulan; los utensilios (tanto los usados para beber o comer como los empleados en la preparación de los alimentos), el aire, el suelo, el agua y agentes como: moscas, cucarachas y roedores. Los cocineros, ayudantes, etc., y en general los operarios que manejan los alimentos después de cocidos son los agentes transmisores más probables.

Los alimentos consumidos en crudo son otra fuente probable de agentes patógenos. Las frutas frescas y las verduras pueden llevar estos gérmenes de un operario enfermo al consumidor. Según el tratamiento térmico a que se sometan los alimentos, al cocinarlos pueden ser destruidos o no los microorganismos patógenos presentes en ellos. En general se destruyen todos los que hay en la superficie, pero no siempre los del interior. Se han registrado casos en que, incluso gérmenes patógenos poco resistentes al calor, han sobrevivido a la cocción y provocado un brote de enfermedad (Frazier, 1985).

Los brotes de enfermedades de origen alimentario por lo común se identifican por la aparición del cuadro clásico en un lapso brevísimo, aunque variable (horas a semanas), entre personas que han comido los mismos alimentos implicados. Es esencial el estudio de laboratorio rápido y detenido de todos los casos y de los alimentos involucrados. Es difícil identificar los casos aislados de enfermedad de origen alimentario, a menos que, como ocurre en el botulismo, exista un síndrome clínico característico.

La enfermedad de origen alimentario puede ser una de las causas más comunes del cuadro clínico agudo; sin embargo, muchos casos y brotes pasan inadvertidos y no se notifican.

El principio fundamental para la prevención de las infecciones alimenticias es evitar que el microorganismo patógeno contamine el alimento, si es posible suprimiendo la fuente de contaminación.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad bacteriológica de las fórmulas enterales infantiles en tres hospitales de clase A del Área Metropolitana.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinación del recuento bacteriano de fórmula láctea en polvo de inicio para lactantes y para recién nacidos de bajo peso.
- Determinación del recuento bacteriano de fórmulas enterales artesanales: licuado de frutas y verduras.
- Realizar una comparación entre el método de recuento total estándar y el método rápido Sim Plate de recuento total con indicador de color.
- Correlacionar los métodos de recuento total con el sistema de validación de limpieza Lightning por bioluminiscencia de ATP.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron muestras de fórmula en polvo de inicio para lactantes y para recién nacidos de bajo peso en los Hospitales clase A de adultos (A y B), así como fórmulas enterales artesanales: licuados de frutas y vegetales en el Hospital pediátrico (C) (detalles de su constitución en anexos II, III, IV, y V).

Las muestras fueron tomadas en bolsas plásticas estériles debidamente identificadas, una por cada hospital durante el período de noviembre del 2001 a marzo del 2002 y transportadas a la Facultad de Microbiología para ser debidamente tratadas. Todas las muestras fueron líquidas.

Se homogenizaron y se realizaron diluciones decimales de la muestra madre con agua peptonada estéril 0,1% colocando 1 mL de muestra en 9 mL de agua peptonada, cada una fue montada por duplicado por el método de recuento total por vaciado en agar estándar, además de ser montadas en placas de método rápido de recuento total Sim Plate con indicador de color, ambas se incubaron a 35 °C durante 48 y 24 horas respectivamente.

Previo a la toma de muestra se realizó un hisopado a los utensilios utilizados en la preparación de las fórmulas como lo son: cucharas, picheles, batidores, licuadora, colador, etc., con el método de validación de limpieza conocido como Lightning de lectura de bioluminiscencia de ATP que consiste en un luminómetro y dispositivos de hisopo, con el cual se detectan residuos alimenticios midiendo el trifosfato de adenosina (ATP). Este valor puede emplearse para controlar la eficiencia de los procedimientos de limpieza en los lugares donde se procesan alimentos.

Método de Recuento total por vaciado

1. Pipetear 1mL de la muestra (madre o dilución decimal) en una placa de Petri estéril.
2. Agregar 15-20 mL agar licuado (constitución en anexo I) mantenido a 45°C al cual se le agregó previamente 1 mL de 2,3,5-cloruro de trifeniltetrazolium al 0,5% (TTC) como marcador de óxido reducción.
3. Mezclar, dejar solidificar, e incubar la placa invertida durante 48 horas a 37°C.
4. Cuente el número de unidades formadoras de colonia.

Método de recuento total Sim Plate con indicador de color

Este método detecta y cuantifica las bacterias presentes en alimentos por reaccionar en presencia de enzimas en bacterias típicas de alimentos. El substrato enzimático en el medio de crecimiento del Sim Plate es catabolizado por la bacteria en crecimiento.

Procedimiento:

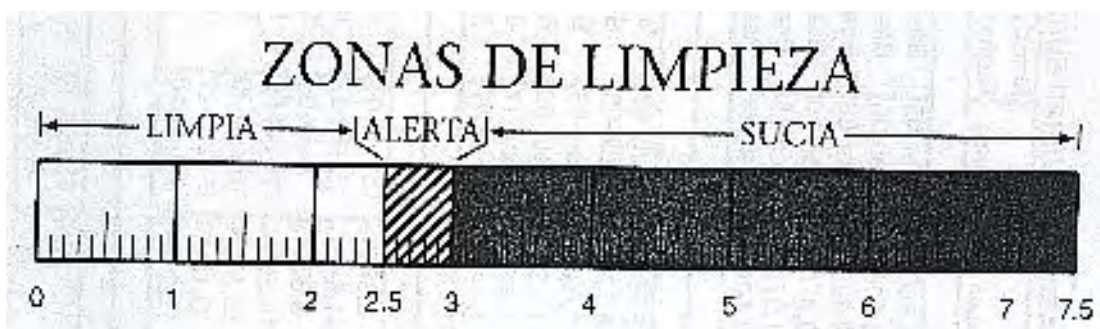
1. Rehidrate con 9 mL de agua peptonada estéril al frasco de medio estéril.
2. Coloque 1 mL de la muestra (madre o dilución decimal) en el centro de la placa Sim Plate.
3. Adicione el medio hidratado, mezcle hasta que todos los pocillos queden llenos.
4. Escorra el exceso en la almohadilla e incube la placa invertida durante 24 horas a 37°C.
5. Cuente como positivos aquellos pocillos que presenten un cambio de color del medio (morado) y realice la conversión a unidades formadoras de colonias según tabla de conversión (ver anexo IX).

Método de validación de limpieza Lightning

El sistema Lightning es un sistema de bioluminiscencia de ATP que consiste en un luminómetro y dispositivos de hisopo. El sistema detecta residuos alimenticios midiendo el trifosfato de adenosina (ATP). Este valor se emplea para controlar y optimizar la eficiencia de los procedimientos de limpieza en los lugares donde se procesan alimentos. La prueba utiliza la enzima luciferasa, derivada de las luciérnagas, la cual es extremadamente sensible al ATP (detalle en anexo VIII) . El ATP se encuentra en la mayoría de los residuos alimenticios y en todas las células de bacterias, levaduras y hongos y provee un indicador altamente sensible de la eficiencia de la limpieza.

Procedimiento (ver anexo VII):

1. Retire la parte superior del dispositivo hisopo y tome la muestra de interés.
2. Reintroduzca el hisopo en el dispositivo y actívelo presionando la parte inferior forzando el hisopo para romper la película.
3. Doble la bombilla a un lado para romper la válvula para vaciar del todo la solución tampón.
4. Agite el dispositivo de hisopo varias veces como si fuera un termómetro e introdúzcalo de inmediato en el luminómetro y lea el resultado en zonas de limpia, alerta o sucia según escala logarítmica mostrada:



RESULTADOS

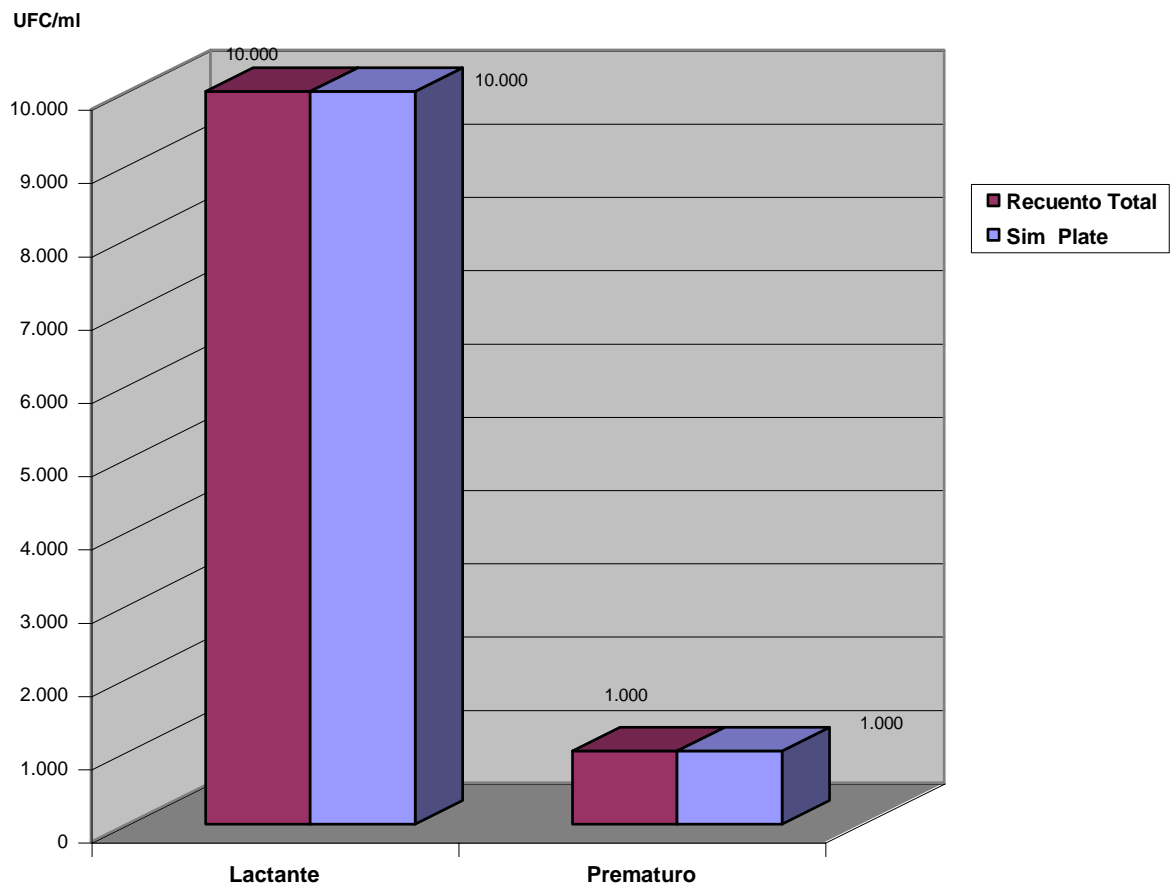
RECuento TOTAL:

Cuadro N°1. Distribución de la positividad del muestreo de fórmulas enterales realizado de noviembre del 2001 a marzo del 2002 en el Hospital A.

TIPO DE MUESTRA	SIM PLATE (UFC/mL)	RECuento TOTAL (UFC/mL)
Lactante	$6,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$
Prematuro	$8,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$
Lactante	$6,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
Prematuro	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$
Lactante	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$
Prematuro	$1,0 \times 10^2$	$7,0 \times 10^2$
Lactante	$2,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
Prematuro	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$
Lactante	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$
Prematuro	$3,6 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$

Como puede verse en el cuadro N°1 durante el muestreo realizado en el Hospital A de las fórmulas enterales para inicio de lactantes se obtuvo un recuento tanto para el método Sim Plate como para el recuento total por vaciado de hasta 10^4 UFC/mL y para la de recién nacidos prematuros de 10^3 UFC/mL.

Figura No. 1
Distribución promedio de la alimentación enteral estudiada según
positividad por el método Sim Plate Vrs. Recuento Total en el Hospital A.

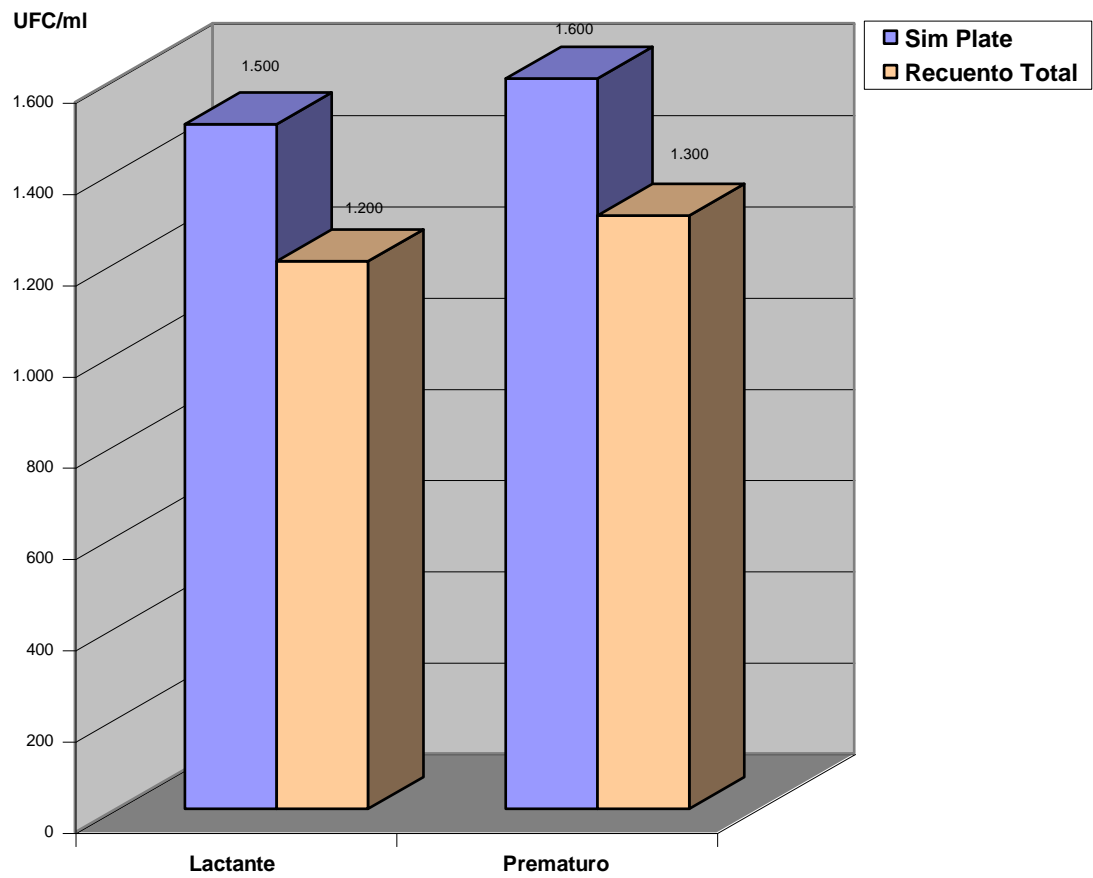


Cuadro N°2. Distribución de la positividad del muestreo de fórmulas enterales realizado de noviembre del 2001 a marzo del 2002 en el Hospital B.

TIPO DE MUESTRA	SIM PLATE (UFC/mL)	RECuento TOTAL (UFC/mL)
Lactante	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$
Prematuro	$1,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$
Lactante	$6,0 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$
Prematuro	$4,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$
Lactante	$2,2 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$
Prematuro	$3,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
Lactante	$2,6 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$
Prematuro	$3,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$
Lactante	$1,8 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
Prematuro	$1,8 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$

Del cuadro N°2 se desprende que los datos obtenidos del análisis realizado en el Hospital B revelan un crecimiento bacteriano que va por encima del orden de 10^3 UFC/mL tanto para las fórmulas de inicio de lactante como para las de recién nacidos prematuros por igual en el método de Sim Plate como en el recuento total por vaciado en placa.

Figura No. 2
Distribución promedio de la alimentación enteral estudiada según
positividad por el método Sim Plate Vrs. Recuento Total en el
Hospital B.

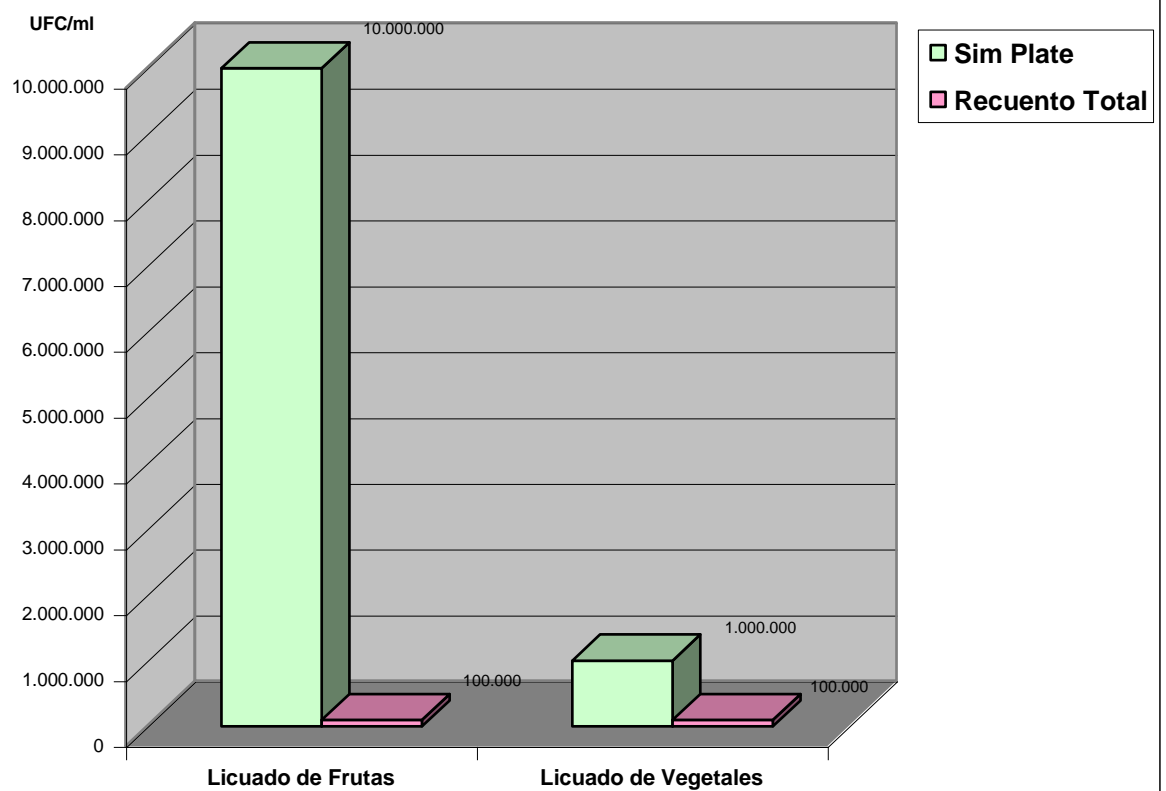


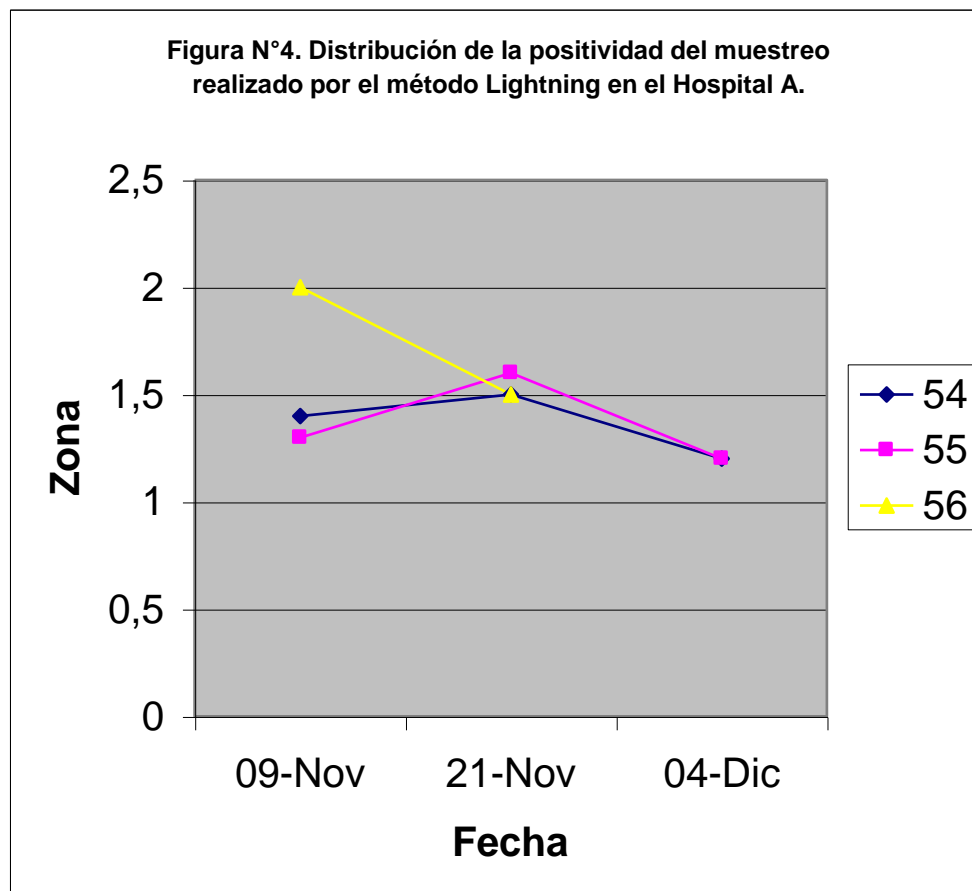
Cuadro N°3. Distribución de la positividad del muestreo de fórmulas enterales realizado de noviembre del 2001 a marzo del 2002 en el Hospital C.

TIPO DE MUESTRA	SIM PLATE (UFC/mL)	RECuento TOTAL (UFC/mL)
Licudo de frutas	$>7,4 \times 10^4$	$>10^4$ estimado
Licudo de frutas	$> 7,4 \times 10^6$	$>10^3$ estimado
Licudo de vegetales	$6,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5$
Licudo de frutas	$1,1 \times 10^7$	$1,4 \times 10^5$
Licudo de vegetales	$2,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$

En el muestreo realizado en el Hospital C de licuados elaborados a partir de frutas se obtuvo recuentos del orden de 10^7 UFC/mL por el método de Sim Plate y de 10^5 UFC/mL en el recuento total por vaciado. Por otra parte en los hechos a base de vegetales se obtuvo valores de hasta de 10^6 UFC/mL por Sim Plate y de 10^5 UFC/mL por recuento total como se observa en el cuadro N°3.

Figura No. 3
Distribución promedio de la alimentación enteral estudiada según positividad por el método Sim Plate vrs. Recuento Total en el Hospital C.



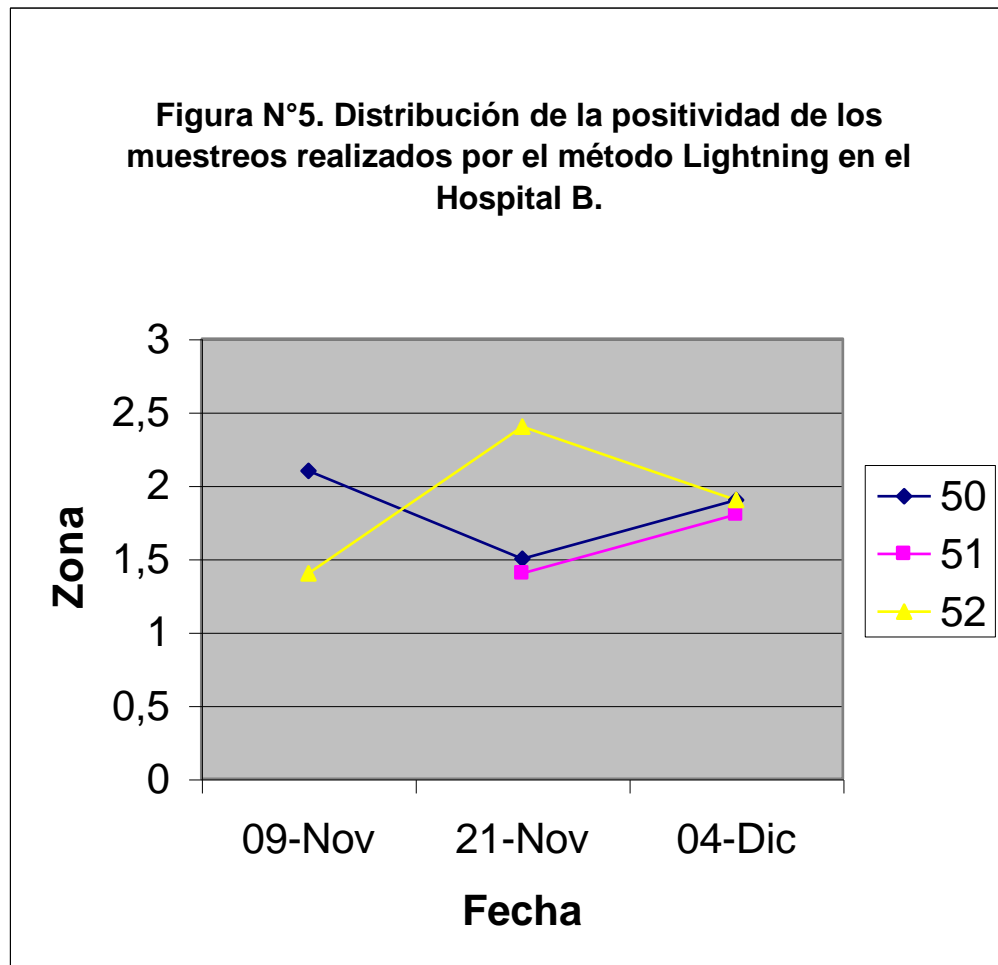
METODO LIGHTNING:

54 = Olla

55 = Pichel

56 = Chupones

En el Hospital A los puntos muestreados por el método de bioluminiscencia Lightning se mantuvieron siempre dentro del área de limpieza como se ve en la Figura N°5.

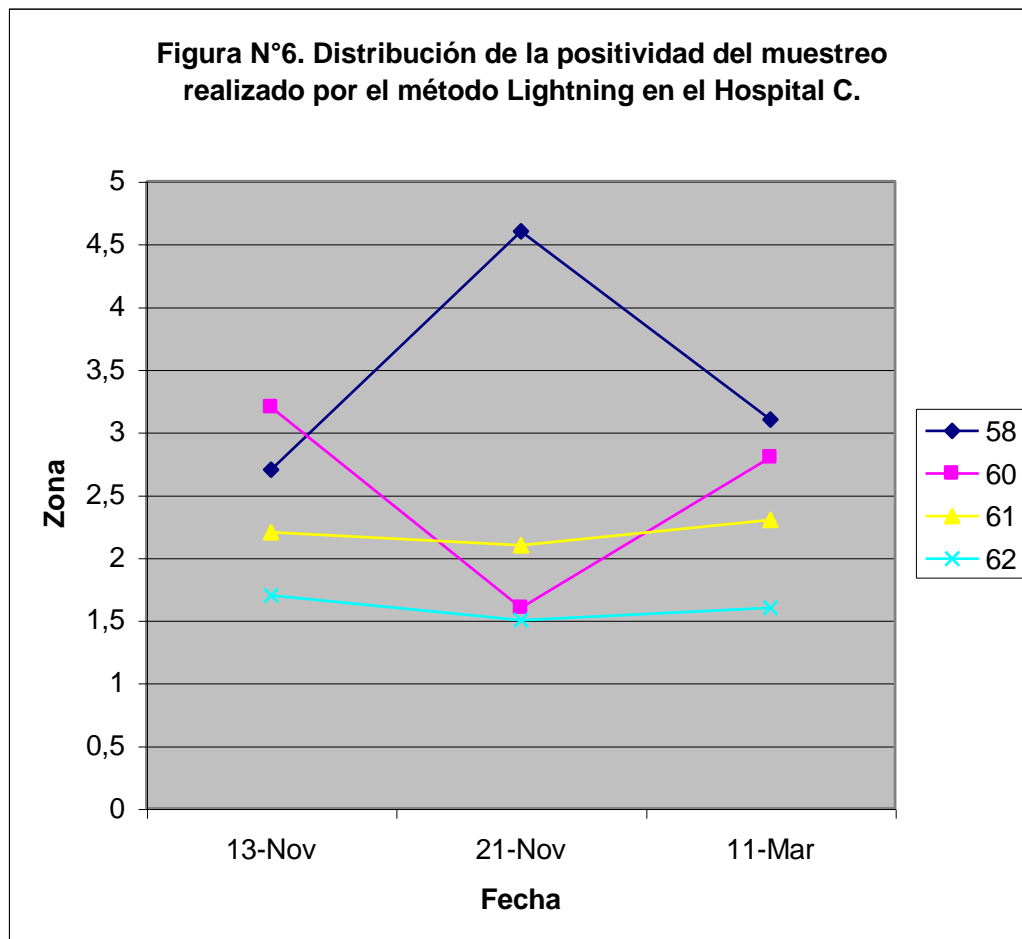


50 = Olla

51 = Pichel

52 = Chupones

Según se observa en la figura N°4 los chupones del Hospital B mostraron una leve cercanía a la zona de alerta de limpieza, los otros puntos muestreados se mantuvieron dentro de la zona limpia.



58 = Licuadora
 60 = Colador
 61 = Pichel
 62 = Chupones

En el área de preparación de alimentos del Hospital C donde se elaboran los licuados de administración oral, se pudo observar ciertas deficiencias en la limpieza del equipo utilizado, como se ve en la figura N°6 la licuadora todo el tiempo estuvo dentro de la zona sucia detectada por el luminómetro, y el colador que varió entre sucio y en zona de alerta.

DISCUSION DE RESULTADOS

La nutrición clínica enteral forma parte del apoyo nutricional que se da a través del tracto gastrointestinal a pacientes hospitalizados, con el fin de mejorar el cuadro clínico de la enfermedad. Su objetivo es brindar proteínas, calorías (carbohidratos y lípidos), electrolitos, vitaminas, y todos los nutrientes esenciales de manera que puedan ser utilizados por el paciente para reparar y mantener masa corporal, en esencial el componente visceral.

Lo ideal sería que la mayoría de las fórmulas para la nutrición enteral se preparen comercialmente bajo condiciones estériles, reduciendo la contaminación bacteriana (Kieswetter, 1996) puesto que una vez preparada la fórmula puede contaminarse por diversos medios como los ingredientes, el personal o el mismo paciente.

Siendo los pacientes alimentados con fórmulas enterales, enfermos en estado delicado y muchos de ellos inmunocomprometidos es importante enfatizar que la contaminación bacteriana de los alimentos es más problemática que en los pacientes sin estos compromisos. Por esto que la calidad microbiológica de los alimentos juega un papel preponderante ya que una infección gastrointestinal en dichos pacientes puede producir una permanencia hospitalaria más allá de lo esperado, aumentar los gastos médicos, producir depresión del estado anímico del paciente, e incluso puede llegar a producir la muerte.

Al hacer un análisis comparativo de la separación según el tipo de alimento se puede observar que de los cuatro tipos, que conforman los alimentos enterales estudiados, se nota que las fórmulas hechas a partir de frutas y vegetales presentan recuentos del orden de 10^6 UFC/mL.

Las fórmulas hechas a partir de frutas no llevan tratamiento térmico, pero las hechas a base de vegetales sí, y un alimento cocinado eficientemente no debería presentar contaminación bacteriana apreciable, a no ser que se recontamine después de la cocción (Rodríguez, 1996).

Con respecto a las frutas diversos estudios han demostrado que la *Listeria* sp es capaz de proliferar en alimentos ácidos, siendo un potencial agente patógeno presente en este tipo de alimentos (Marth, 1988, Shlech, 1988), la distribución de *Listeria* podría explicarse en torno a su amplia distribución en la naturaleza (Weis, 1975), o bien, a su presencia en agua de irrigación, pues esta bacteria ha sido aislada de las heces de animales domésticos y silvestres (Beuchant, 1990).

Aún cuando los alimentos evaluados en este estudio fueron lavados y hasta cocinados en el caso de los licuados de vegetales, hay una importante carga bacteriana que posiblemente se debe a la recontaminación. Esta recontaminación puede explicarse por la utilización de envases (chupones), cuchillos, mesas, delantales, bandejas, pisos, paredes, cielorrasos, licuadoras, tuberías, filtros, coladores o trituradores contaminados. Las superficies de madera y fibras textiles son difíciles de limpiar y desinfectar por lo que son contaminantes potenciales. Además las propias manos de los manipuladores pueden ser contaminantes, cuando no son desinfectados adecuadamente. De esta forma el método de detección de ATP por bioluminiscencia Lightning sirvió como base de confirmación de que, área sucia significa alto recuento como ocurrió con el equipo de preparación de los licuados de frutas y vegetales (licuadora, colador, etc.); y un bajo recuento un área más limpia como los picheles autoclavados de preparación de las fórmulas lácteas, ya que el Lightning permite detectar la presencia de microorganismos y residuos de alimentos en una superficie, obteniendo los resultados de forma inmediata.

La utilidad de la bioluminiscencia de ATP resultó satisfactoria como alternativa de los métodos tradicionales de recuento de microorganismos viables, para la determinación de las condiciones higiénicas de superficies de un área de preparación de alimentos.

Se presume que además de la manipulación también puede darse una contaminación de fondo a través de los envases (chupones) y utensilios, los cuales, si no son desinfectados adecuadamente resultan en muestras muy contaminadas aún cuando todos los factores se controlen.

Las fórmulas enterales comerciales son preparadas a base de concentrados prefabricados que proveen los nutrientes necesarios para satisfacer las recomendaciones diarias con un mínimo de riesgo de contaminación, con cualidades fisicoquímicas constantes y conocidas que permiten su utilización inmediata con un bajo costo y poco personal. Aún cuando vienen estériles y empacadas en latas, en promedio se encontró una contaminación de alrededor de 10^2 UFC/mL, ésta indiscutiblemente deriva de mala higiene durante su preparación o trato posterior. Con respecto a esto, frecuentemente ha sido aislada *Listeria* sp en leches, los reportes varían desde alta prevalencia en países como España y Canadá (Domínguez, 1985), a reportes bajos o nulos como Australia (Venables, 1989), Nueva Zelanda (Stone, 1987) y en Costa Rica (Arias et al, 1994).

Las alteraciones en la alimentación enteral pueden interferir en la recuperación del paciente. Las complicaciones gastrointestinales entre otras están constituidas por náuseas, vómitos, distensión abdominal, cólicos y constipación. La complicación más común es la diarrea. Su frecuencia oscila entre un 10-20% de los pacientes alimentados por sondas, y son producidas por factores como antibióticos, contaminación bacteriana, infusión rápida de las fórmulas, osmolaridad elevada y desnutrición severa (Rodríguez, 1996).

Por lo tanto el análisis comparativo de la higiene en las fórmulas enterales hecho con el recuento total en placa con indicador de color Sim Plate y por recuento total en placa por vaciado demuestra que los métodos presentan una muy alta correlación estadística (0.979 ver anexo VI) que permite así mismo una alta confiabilidad del nuevo método rápido Sim Plate en relación con el método de recuento total en placa.

Contando con la garantía de que los resultados obtenidos por el método de Sim Plate son comparables con el método estándar de oro de recuento total debemos agregar las demás ventajas que infiere este método rápido como lo son:

- Resultados en menor tiempo (24 horas en lugar de 48 horas).
- Necesita menos equipo y tiempo ya que el medio deshidratado no requiere ser trasvasado, calentado a ebullición para deshacerse, autoclavarse, ni enfriarse en baño maría.
- La lectura es sencilla ya que no se cuentan UFC como tal sino los negativos y los positivos por simple cambio de color que se manifiesta cuando los indicadores del medio son metabolizados por los componentes enzimáticos de la población contaminante, y se refieren a una tabla de conversión a UFC que incluye el método.
- El recuento en placa limita el conteo a 300 UFC o se reporta como incontables cuando supera esta cifra, el Sim Plate permite contar más de 738 UFC por plato lo que disminuye el número de diluciones que se deben realizar, y el error humano de conteo.
- El ahorro de tiempo y equipo se traduce a su vez en ahorro de costos.

Concluyendo, la prevención y el control de las enfermedades de origen alimentario se basan en los mismos principios técnicos, sea cual sea su causa específica: evitar la contaminación de los alimentos, destruir o desnaturalizar los contaminantes, y prevenir la mayor diseminación y multiplicación de los gérmenes patógenos. Los problemas específicos y los modos de intervención adecuados varían de un país a otro, según factores ambientales, económicos, políticos, tecnológicos y socioculturales (Villazón, 1993).

Debido a que la presente investigación no abarcó un número de muestras muy grande ni un periodo de muestreo lo suficientemente significativo sería muy recomendable que se amplíe dicho estudio para poder concluir de forma más segura con respecto a la higiene de los centros de preparación de alimentos de las instituciones evaluadas.

En forma general los lineamientos para la prevención dependen de la educación de los manipuladores de alimentos en cuanto a las prácticas adecuadas de cocción y almacenamiento de los alimentos y a la higiene personal. Para alcanzar estas metas, la OMS ha emitido las 10 “Reglas de oro” para la preparación higiénica de los alimentos (Benenson, 1997). Estas son:

1. Elegir alimentos tratados con técnicas higiénicas.
2. Cocinar bien los alimentos.
3. Consumir inmediatamente los alimentos cocinados.
4. Guardar cuidadosamente los alimentos cocinados (por encima de 60°C o por debajo de 10°C).
5. Recalentar bien los alimentos cocinados (70°C como mínimo en todas las partes del producto)
6. Evitar el contacto entre los alimentos crudos y los cocinados (pueden producirse contaminaciones cruzadas).
7. Lavarse las manos a menudo (al empezar el trabajo y después de cualquier interrupción).
8. Mantener escrupulosamente limpias todas las superficies de la cocina.
9. Mantener los alimentos fuera del alcance de insectos, roedores y otros animales.
10. Utilizar siempre agua potable.

La prevención en los procesos de manipulación se verá favorecida en la medida en que la educación y concientización de los manipuladores de los alimentos se vaya asumiendo, tanto a nivel de vigilancia y control de su salud, como respecto a la higiene y seguridad en todas las manipulaciones que lleven a cabo.

BIBLIOGRAFIA

1. American Academy of Pediatrics. Pediatric Nutrition Handbook. Illinois, U. S. A. 472 p., 1979.
2. Arias, Ma. L., Monge, R., Antillón, F., Glenn, E. Ocurrence of the bacteria Listeria spp. in raw milk in Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 711-713 p, 1994.
3. Ariztia, A. Martner, J. Nutrición y alimentación del lactante y su patología. Ed. Universitaria, Chile. 213 p., 1970.
4. Benenson, Abram. S. Manual para el control de las enfermedades transmisibles 16^a ed. Washington, DC. OPS, 569 p.,1997.
5. Beuchant, L. R., H. E. Berrang & R. E. Brackett. Presence and public health implications of Listeria monocytogenes on vegetables. AL Miller, JL Smith, GA Somkuti (ed). New York, Elsevier Science, 175-185 p, 1990.
6. Cameron, M, Hfvander Y. Manual sobre alimentación de lactantes y niños pequeños. FAO 180 p., 1980.
7. Cervera, P. Clapés, J. Alimentación y dietoterapia. McGraw Hill. Madrid, España. 3^{era} ed. 380 p., 1999.
8. Colmena. Bebés de biberón. San José, Costa Rica. 69p., 1981.

9. Chinchilla, P. Evaluación de la alimentación enteral normal prescrita y servida a los pacientes internados en el Hospital San Juan de Dios. Tesis de Licenciatura en Nutrición y Dietética. Escuela de Nutrición Universidad de Costa Rica 146 p., 1994.
10. Domínguez, L; Fernández, J. A. Vázquez, E. & G. Suárez. Isolation de microorganismes du genere Listeria a partir de lait cru destine a la consommation humaine. Can. J. Microbiol. 938-941 p, 1985.
11. Fields, M. Fundamentals of food Microbiology. Avi Publishing Company. Westport, Connecticut. 332 p., 1979.
12. Frazier W, C. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España 522 pág, 1985.
13. Glenn, E. y Antillón, F. Manual de Procedimientos de Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Facultad de Microbiología. U. C. R. 55 págs, 1994.
14. Heymsfield, S. y Casper, K. Continuos nasoentericfeeding: bioenergetic and metabolic response during recovery from semistarvation. Am J. Clin. Nut. 47: 900-10, 1988.
15. Jay, James M. Microbiología moderna de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 491 p., 1978.
16. Kieswetter, S. Nutrición clínica N°6. INCAP, OPS, Escuela de Nutrición de Centro América y Panamá, 45 p; 1996.
17. Marth, E. Disease characteristics of Listeria monocytogenes. Food Technology, 1988.

18. Ordoñez, Juan A. Microorganismos de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 215 p., 1985.
19. Pérez, Jorge. Bioquímica y microbiología de la leche. Editorial Limusa. México. 202 p., 1984.
20. Piza, M y Gallegos, A. Principios generales de soporte nutricional. Comité de soporte nutricional. Hospital San Juan de Dios. San José. Costa Rica. 42 p. , 1991.
21. Rodríguez, J. Análisis bacteriológico de fórmulas enterales de Hospitales clase A del área metropolitana. Trabajo de Graduación de Licenciatura Microbiología y Química Clínica. Universidad de Costa Rica, 1996.
22. Savino, P. Alimentación parenteral y enteral. Centro Médico de los Andes. Bogotá, Colombia. 40 p. , 1986.
23. Shlech, W. Virulence characteristics of Listeria monocytogenes. Food Technology, 1988.
24. Stone, D. L. A survey of raw whole milk for Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes and Yersinia enterocolitica. N: Z: J: Dairy Sci Technol. J. 257-264 p, 1987.
25. Ucha, J. M. Alimentación del niño sano y del enfermo. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 395 p., 1975.
26. Venables, L. J. Listeria monocytogenes in dairy products- the victorian experience. Food Aust. 942-943 p, 1989).
27. Villazón, A. Arenas, H. Nutrición enteral y parenteral. McGraw Hill México. 324 p., 1993.

28. Villalobos K. Evaluación de la toma de las medidas antropométricas neonatales y de la alimentación del niño en las primeras 24 horas, en 4 maternidades del país. Tesis de licenciatura en Nutrición. Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica 105 p., 1987.
29. Weis, J., KPR Seeligeri. Incidence of Listeria monocytogenes en nature. J. Appl Bacteriol. 1-9 p, 1975.
30. Zeman, f. Clinical Nutrition and dietetics. McMillan Publishing Company. New York. 682 p. , 1983.

ANEXOS

I. Composición del Agar para recuentos

Ingredientes por litro:

Triptona	5 g
Extracto de levadura	2.5 g
Glucosa	1 g
Agar	15 g

pH final 7,0+/-0,2 a 25°C

Preparación:

1. Suspended los ingredientes en agua destilada o desionizada y caliente hasta ebullición para disolver por completo
2. Esterilice en autoclave durante 15 minutos a 15 Lbs de presión (121°C)

II. Constitución de la fórmula en polvo para lactantes recién nacidos de bajo peso (prematuros) marca Enfamil

Sólidos de jarabe de maíz

Sólidos de leche descremada

Suero de leche desmineralizado

Triglicéridos de cadena mediana (aceite de coco fraccionado)

Lactosa

Aceite de maíz

Aceite de nuez de coco

Aceite de soya

Minerales (carbonato cálcico, fosfato cálcico, sulfato cúprico, sulfato ferroso, cloruro de magnesio, sulfato de manganeso, cloruro potásico, citrato potásico, cloruro sódico y sulfato de zinc)

Lecitina de soya

Vitaminas (acetato de DL-alfa tocoferol, biotina, colecalciferol, pantotenato de calcio, cianocobalamina, ácido fólico, niacinamida, fitonadiona, clorhidrato de piridoxina, riboflavina, ascorbato sódico, clorhidrato de tiamina y palmitato de vitamina A)

Taurina

Palmitato de ascorbilo

III. Constitución de la fórmula en polvo para inicio de lactantes marca Enfamil

Lactosa

Leche descremada

Aceite de palma oleína

Concentrado de suero de leche desmineralizado

Aceite de nuez de coco

Aceite de soya

Aceite vegetal alto en ácido oleico

Lecitina de soya

Minerales (cloruro cálcico, hidróxido cálcico, sulfato cúprico, sulfato ferroso, cloruro de magnesio, sulfato de manganeso, bicarbonato potásico, citrato potásico, cloruro potásico, citrato sódico, yoduro sódico, y sulfato de zinc)

Vitaminas (acetato de alfa tocoferol, biotina, colecalciferol, pantotenato de calcio, cianocobalamina, ácido fólico, niacinamida, fitonadiona, clorhidrato de piridoxina, riboflavina, ascorbato sódico, clorhidrato de tiamina y palmitato de vitamina A)

Taurina

Cloruro de colina

Palmitato de ascorbilo

Nucleótidos (5'-monofosfato de citidina, 5'-monofosfato de adenosina, 5'-monofosfato de guanosina disódica, 5'-monofosfato de uridina disódica)

IV. Constitución de los licuados de frutas preparados en el Hospital Nacional de Niños

Melón o sandía

Galleta María

Jarabe de maíz

Aceite de soya

V. Constitución de los licuados de vegetales preparados en el Hospital Nacional de Niños

Vegetales tiernos hervidos: vainica, zanahoria, chayote (puede variar la combinación)

Carne molida cocida o carne de pollo

Galleta María

**VI. Correlación estadística de los métodos de Sim Plate vrs Recuento Total
(Programa Estadístico de Cómputo SPSS)**

Correlations			
		SIMPLATE	RT
SIMPLATE	Pearson Correlation	1.000	.979*
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	44	44
RT	Pearson Correlation	.979**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	44	44

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

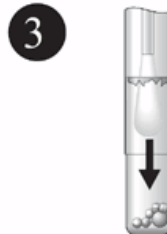
VII. Modo de operación del sistema Lightning



1
Remove top portion
of swab device.



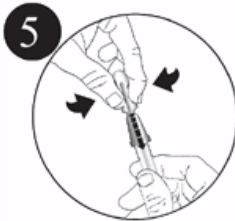
2
Swab 4" x 4"
(10 cm x 10 cm) area.



3
Push swab end
through foil seal.



4
Break bulb seal by
gently bending.



5
Squeeze bulb to
force reagent
through swab tip.



6
GENTLY shake to
dissolve white pellets.
NOTE: Brown desiccant
pellets do not dissolve.

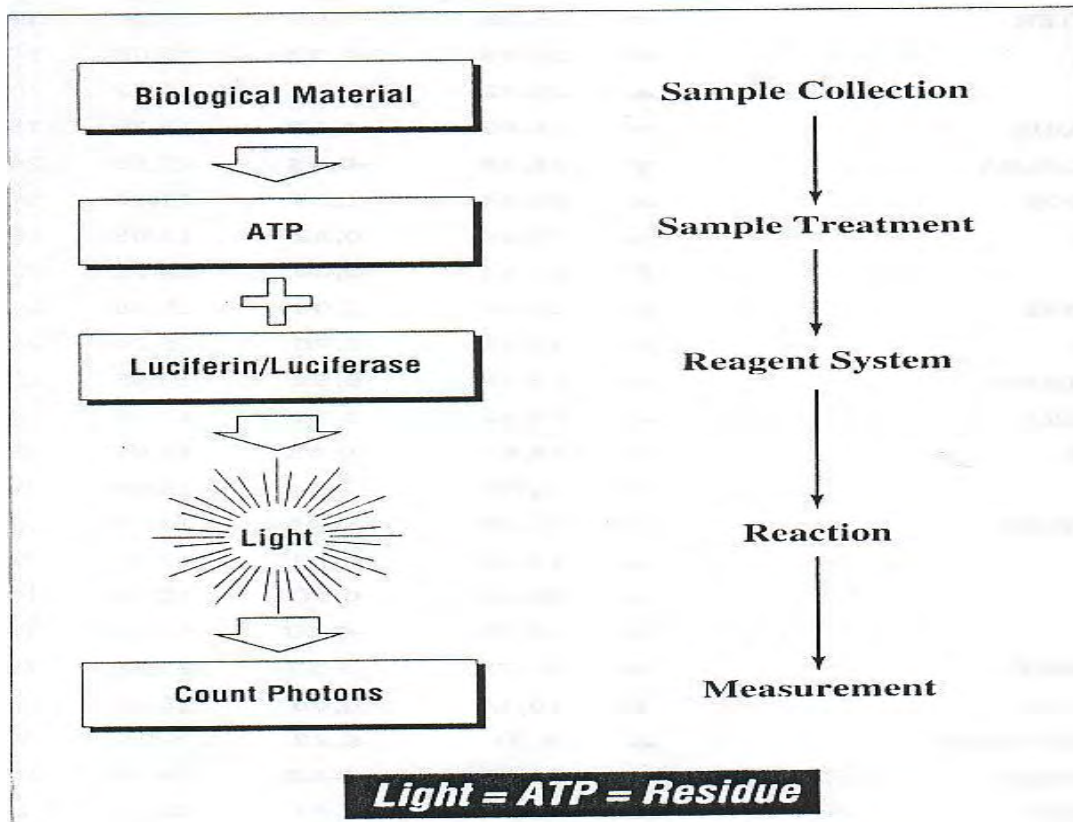
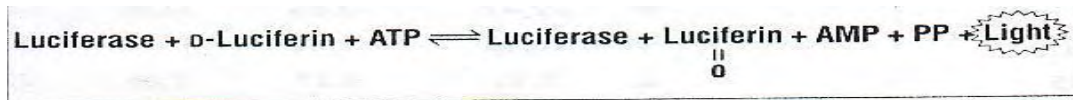


7
Insert swab into
read chamber.
Note: Wet swabs
should be wiped dry
before inserting.



8
Read results.

VIII. Reacción de la Luciferasa



IX. Tabla de conversión para Sim Plate

SimPlate			NCR Conversion Table*					
well=population			well=population			well=population		
1	=	2	31	=	76	61	=	216
2	=	4	32	=	80	62	=	224
3	=	6	33	=	84	63	=	232
4	=	8	34	=	86	64	=	240
5	=	10	35	=	90	65	=	248
6	=	12	36	=	94	66	=	256
7	=	14	37	=	96	67	=	266
8	=	16	38	=	100	68	=	276
9	=	18	39	=	104	69	=	288
10	=	22	40	=	108	70	=	298
11	=	24	41	=	112	71	=	312
12	=	26	42	=	116	72	=	324
13	=	28	43	=	120	73	=	338
14	=	30	44	=	124	74	=	354
15	=	32	45	=	128	75	=	372
16	=	36	46	=	130	76	=	392
17	=	38	47	=	132	77	=	414
18	=	40	48	=	142	78	=	440
19	=	42	49	=	146	79	=	470
20	=	46	50	=	150	80	=	508
21	=	48	51	=	156	81	=	556
22	=	50	52	=	160	82	=	524
23	=	54	53	=	166	83	=	738
24	=	56	54	=	172	84	=	<738
25	=	58	55	=	178			
26	=	62	56	=	184			
27	=	64	57	=	190			
28	=	68	58	=	196			
29	=	70	59	=	202			
30	=	74	60	=	208			

If all wells are negative
and the sponge is
positive then
conversion =<2