

Presencia de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Listeria* sp. en fórmulas enterales

Ma. Laura Arias, Rafael Monge, Julia Rodríguez

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud

RESUMEN. Se evaluó la presencia de coliformes totales, *E. coli* y *Listeria* sp. en 65 muestras de fórmulas enterales provenientes de servicios de alimentación hospitalarios costarricenses. En más del 75% de las muestras de licuados a base de verduras cocidas, frutas o caldo de carne se evidenciaron niveles promedio de coliformes totales iguales a 10^4 unidades formadoras de colonias/g (UFC/g). Entre el 12 y 31% de las diferentes fórmulas presentaron *E. coli* en valores que oscilaron entre 3.0×10^2 y 2.1×10^4 UFC/g. Las fórmulas elaboradas a partir de frutas, así como aquellas preparadas a base de caldo de carne presentaron ese bacilo con mayor frecuencia y en mayor cantidad. *Listeria* sp. se evidenció en el 17% de los licuados de frutas y en las fórmulas a base de leche. *L. grayi*, *L. welshimeri* y *L. innocua* fueron las especies encontradas.

Palabras clave: Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Listeria* sp., nutrición enteral.

SUMMARY. Presence of total coliforms, *Escherichia coli* and *Listeria* sp. in enteral formulas. The presence of total coliforms, *Escherichia coli* and *Listeria* sp. was evaluated in 65 samples of enteral nutrition formulas. In more than the 75% of the samples made up from cooked vegetables, fruits or meat broth, the score level of total coliforms was of 10^4 UFC/g. In 12-31% of the different enteral food formula, *E. coli* was isolated in levels ranging from 3.0×10^2 to 2.1×10^4 UFC/g. Enteral nutrition formulas made out of fruits and those elaborated with meat broth presented this agent more frequently and in bigger quantities. *Listeria* sp. was isolated in 17% of the fruit preparations and in enteral formulas made with milk. *L. grayi*, *L. welshimeri* and *L. innocua* were the species found.

Key words: Total coliforms, *Escherichia coli*, *Listeria* sp., enteral nutrition.

INTRODUCCION

Algunos individuos enfermos, pero con tracto gastrointestinal funcional, son incapaces de satisfacer sus requerimientos nutricionales a causa de la inadecuada ingesta de energía y nutrientes (1). Esto, aunado a la inhabilidad o incapacidad de ingerir alimentos o bien a raíz de mala digestión o malabsorción (2). Ante esta situación, la alimentación enteral es la estrategia dietética para proporcionar la cantidad requerida de energía, macro y micronutrientes (1,2). Para tal efecto, se administran soluciones nutricionales artesanales o comerciales, con una densidad energética de 1.0-1.5 kcal/cc (1,2), por vía nasogástrica, nasoyeyunal, gastrostomía o yeyunostomía, dependiendo del estado del paciente y del tiempo requerido para su recuperación (2).

Entorno al uso de la alimentación enteral, se han propuesto una serie de recomendaciones sobre las técnicas adecuadas para su seguridad y transferencia al paciente (2,3). Entre éstas, sobresale el uso de los métodos adecuados para su elaboración, pues se requiere que las fórmulas presenten una calidad microbiológica óptima. Esto debido a que diversos estudios señalan que cerca del 50% de las infecciones en pacientes hospitalizados son causadas por organismos intrahospitalarios que han colonizado el canal alimentario del enfermo (4,5).

A pesar de lo anterior, parece haber una insuficiente apreciación de la importancia de los alimentos como fuente de microorganismos responsables de infecciones intrahospitalarias. No obstante, alimentos como las fórmulas enterales son de riesgo debido al importante contenido de nutrimentos que poseen, así como por las vías de administración utilizadas, pues en algunos casos la sonda evade la barrera ácida del estómago y lleva el alimento directamente a un pH alcalino en duodeno o yeyuno (2). En este medio, los microorganismos contaminantes pueden proliferar y colonizar el intestino, cuya resistencia ha sido disminuída significativamente por el uso sistémico de antibióticos (5,6), y generar complicaciones gastrointestinales.

El objetivo de este estudio es evaluar la presencia de bacterias indicadoras de contaminación fecal y mala higiene, *Escherichia coli* y *Listeria* sp. en fórmulas enterales distribuidas en servicios nutricionales hospitalarios costarricenses.

MATERIAL Y METODOS

En el período comprendido entre marzo y abril de 1996 se analizaron sesenta y cinco muestras de fórmulas enterales elaboradas a partir de la mezcla de diferentes alimentos cocidos o crudos. Las muestras fueron tomadas al azar de los

servicios nutricionales hospitalarios costarricenses, a partir de la comida que diariamente se suministra a los pacientes que necesitan este tipo de alimentación.

El recuento de coliformes totales y de *E. coli* se determinó utilizando "Petrifilm" de la Casa 3M. Para esto, se pesaron 25 g de cada muestra y se diluyeron en agua peptonada estéril (APE) 0.1%. Se prepararon diluciones consecutivas que fueron inoculadas en Petrifilm 3M e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, se efectuó el recuento de colonias típicas, rosadas para coliformes totales y rosadas con centro azul para *E. coli*.

La presencia de *Listeria sp.* se determinó utilizando la metodología descrita por Vanderzant y Splittstoesser (7). Brevemente, de cada una de las muestras se transfirió una alícuota de 25 ml a 225 ml de caldo UVM (University of Vermont Medium) y se incubó a 37°C por 24 h. Luego de este período, se tomó 0.5 ml del caldo y se pasó a caldo Frazer, incubándose por 24 h a 37°C. Posterior a esto, se realizó un plaqueo selectivo en agar Oxford y se incubó por 24 h a 37°C. La identificación bioquímica de *Listeria sp.* se efectuó usando

las pruebas de hemólisis en agar sangre, prueba de CAMP con eritrocitos de carnero, Luz de Henry, fermentación de carbohidratos, catalasa y movilidad.

RESULTADOS

El 100% (n=65) de las muestras evaluadas fueron fórmulas enterales artesanales; es decir, licuados de alimentos cocidos (como leche, verduras, galletas y arroz) o de alimentos crudos como frutas. El 37% (n=24) de las muestras correspondió a licuados de fruta, el 26% (n=17) a fórmulas preparadas a partir de leche pasteurizada y alimentos cocidos y el 25% (n=16) a preparaciones elaboradas a base de caldo de carne y alimentos cocidos. El 12% (n=8) restante de las muestras evaluadas fueron licuados de verduras cocidas.

La temperatura promedio de las fórmulas estudiadas, al momento de la toma de muestra, osciló entre 27± 2°C y 30± 2°C. El pH de las mismas varió de 3.89 en los licuados de fruta a 6.3, en promedio, en las fórmulas a base de leche, caldo de carne y vegetales cocidos (Tabla 1).

TABLA 1
Porcentaje de muestras de alimentación enteral positiva por coliformes totales, *Escherichia coli* y *Listeria sp.*

Tipo de licuado	n (# de muestras)	pH promedio	Coliformes totales n (%)	<i>Escherichia coli</i> n (%)	<i>Listeria sp.</i> n (%)	Recuento promedio coliformes totales UFC/g	Recuento promedio <i>E. coli</i> UFC/g
Frutas	24	3.89	21 (87.5)	6 (25)	4 (16.7)	2.1 x 10 ⁴	1.6 x 10 ³
Leche	17	6.65	9 (52.9)	3 (17.6)	3 (17.6)	2.1 x 10 ⁴	8.4 x 10 ²
Caldo de carne	16	6.22	11 (68.7)	5 (31.3)	0 (0)	2.4 x 10 ⁴	2.1 x 10 ⁴
Vegetales	8	6.10	6 (75)	1 (12.5)	0 (0)	1.4 x 10 ⁴	3.0 x 10 ²

La distribución porcentual de las muestras según los microorganismos contaminantes se presentan en la Tabla 1. En más del 75% de los licuados a base de verduras cocidas, frutas o caldo de carne se evidenciaron niveles promedio de coliformes totales de 10⁴ UFC/g. Entre el 12 y 31% de las diferentes fórmulas presentaron *E. coli* en valores que oscilaron entre 3.0 x 10² y 2.1 x 10⁴ UFC/g. No obstante, la presencia de este bacilo se determinó con mayor frecuencia y en mayores niveles en las fórmulas enterales preparadas a partir de frutas o a base de caldo de carne y alimentos cocidos (Tabla 1).

Listeria sp. se evidenció en cerca del 17% (n=7) de los licuados de fruta y en aquellos elaborados a partir de leche pasteurizada y alimentos cocidos. Las especies de *Listeria* identificadas fueron en el 71.4% de los casos (n=5) *L. grayi*, en el 14.3% (n=1) *L. welshimeri* y en el 14.3% restante *L. innocua*.

DISCUSION

En Costa Rica, la prevalencia de las infecciones intrahospitalarias es un problema emergente. El origen de estas infecciones puede ser múltiple, aunque normalmente no se consideran los alimentos como posible causa. No obstante; los niveles de coliformes totales *E. coli* hallados en este estudio, señalan a las fórmulas enterales como vehículos potenciales de microorganismos patógenos. Esta situación se agrava al considerar que el pH cercano a 7 de la mayoría de las fórmulas, así como la temperatura a la que se distribuyen estos alimentos son factores que favorecen la multiplicación de los microorganismos contaminantes.

La manipulación inadecuada parece ser el factor responsable de las deficientes características sanitarias halladas, pues en las fórmulas enterales elaboradas a partir de alimentos que han recibido tratamiento térmico, no hay razón justificable para encontrar *E. coli*, un bacilo termolábil. Además, los altos niveles de coliformes totales (10³/g) y la presencia de *Listeria*

sp. confirman las inadecuadas prácticas de manipulación, pues aún cuando estos microorganismos constituyen parte de la flora normal de leche cruda, vegetales y frutas (8,9), no deben encontrarse en los alimentos cocidos. Así mismo, en aquellos alimentos crudos que han sido adecuadamente lavados, desinfectados y manipulados debe evidenciarse su ausencia.

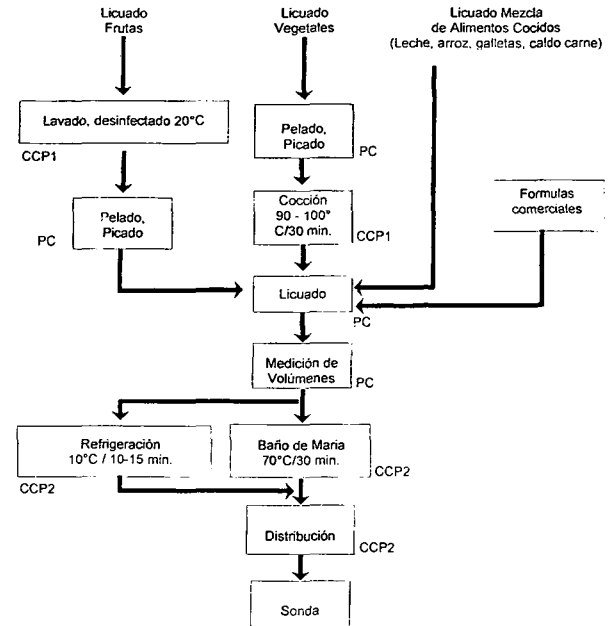
Por otro lado, la presencia de *L. welshimeri* y *L. grayi*, señala el riesgo potencial de patogenicidad de las fórmulas enterales, pues aunque universalmente se considera a *L. monocytogenes* como la principal especie patógena (9), algunos informes han confirmado infecciones humanas causadas por *L. welshimeri* (10). De igual modo, la existencia de *E. coli* constituye un factor de riesgo importante, pues ésta sugiere la presencia de otros microorganismos enteropatógenos (8).

La gravedad de esta contaminación es mayor al considerar que algunos pacientes que reciben alimentación enteral, como aquellos con administración sistémica de antibióticos, presentan una reducida resistencia a la colonización del intestino delgado (5,6), por lo que las dosis infectantes determinadas para individuos sanos probablemente puede reducirse hasta un 50% en ellos, tal y como se ha sugerido en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* (5,6). Una situación similar ocurre en inmunosuprimidos, ancianos y desnutridos.

Ante esta situación, se hace imprescindible identificar los puntos de contaminación de los alimentos en estudio (Figura 1). Al analizar el flujo del proceso de preparación de los diferentes licuados se visualizan las acciones de pelado y picado de las frutas, licuado y medición de volúmenes como los posibles puntos de contaminación (PC). Así mismo, se identifican los procesos de refrigeración, conservación en Baño María y distribución como puntos que al controlar disminuyen, aunque no eliminan, el riesgo de contaminación (CCP2). Únicamente, la cocción en el licuado de vegetales y la desinfección en el de frutas son procesos que eliminan el riesgo de contaminación (CCP1) por lo que el manejo óptimo posterior a estos tratamientos es fundamental para evitar la recontaminación. Además, con este mismo propósito, debe evitarse el ingreso de corrientes de aire a las áreas de preparación de las fórmulas enterales, pues tales favorecen el ingreso de microorganismos ambientales, entre ellos algunos miembros del grupo coliforme.

Frente a esta realidad, es necesario y urgente que los nutricionistas de los diferentes servicios de nutrición, así como las direcciones hospitalarias analicen la factibilidad económica de utilizar solamente fórmulas comerciales, mejorar sustancialmente la infraestructura de las áreas destinadas para la elaboración de la alimentación enteral y ejercer un control estricto sobre las prácticas de manipulación. Para esto se sugiere la adopción de los principios del sistema de control de calidad preventivo HACCP, "Análisis de Riesgo y Control de Puntos Críticos", pues por medio de éste se detectan errores en la manipulación y en los procedimientos de elaboración, se efectúa una corrección pronta de estos y se definen las estrategias preventivas de futuros problemas.

FIGURA 1
Flujograma de la elaboración de los diferentes tipos de alimentación enteral, preparados en los hospitales costarricenses



PC= Punto de contaminación

CCP1= Punto que al controlar, elimina el riesgo de contaminación

CCP2= Punto que al controlar, disminuye el riesgo de contaminación

REFERENCIAS

1. Ontario Dietetic Association. Nutritional Care Manual. 6th Ed. The Ontario Hospital Association: Ontario, 1989;509-520.
2. Anónimo. Nutritional support of adult patients. JPEN 1993;17:136-205.
3. Nelson JK, Palumbo PJ, O'Brien PC. Home enteral nutrition: observations of a newly established program. Nut Clin Pract 1986;1:193-199.
4. Wright C, Kominos S, Yel R. Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* recovered from vegetables salad. Appl Environ Microbiol 1976;3:453-454.
5. Shootes R, Faiebs M, Cooke M, Bredes A, O'Favel S. Isolation of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella* from food in hospital, canteens and schools. Lancet 1971;21:390-392.
6. Remington J, Schimpff S. Please don't eat the salads. Lancet 1981;7:433-434.
7. Vanderzant C & Splittstoesser D. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington. Ed APHA 1992;p. 637.
8. Mehlman I. Coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli*. En: Spedk M. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd. Ed. APHA: Washington 1984;265-285.
9. Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes* a food borne pathogen. Microb Rev. 1991;55:476-511.
10. Andre P, Genicot A. First isolation of *Listeria welshimeri* from human beings. Zentralbl Bakteriol hyg A. 1987;263:605-606.

Recibido: 01-04-1997

Aceptado: 30-10-1997