

Evaluación de la presencia de bacterias en alimentos y en el ambiente de una sección de oncología de un hospital nacional, San José, Costa Rica

Fabiola Jiménez, Laura Garro, Evelyn Rodríguez, Zenén Zeledón

Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

RESUMEN. Se evaluó la calidad microbiológica de 92 muestras de la sección de Oncología de un Hospital Nacional, San José, Costa Rica durante los meses de febrero a julio, 2002. De éstas, 48 eran ensaladas, refrescos y frutas y 44 provenían de superficies, aire y manos del personal médico. Se determinó, mediante la técnica de recuento total, la presencia de coliformes totales y fecales utilizando Agar Bilis Rojo Violeta, de *Staphylococcus aureus* en Agar Baird-Parker, de *Pseudomonas* en Agar Cetrimida y de *Listeria* en Caldo Universidad de Vermont, Caldo Fraizer y posteriormente aislada en Agar Oxford. El 77% de los alimentos analizados dio positivo por al menos uno de los parámetros estudiados; las frutas presentaron la mayor contaminación (94%) y las ensaladas cocinadas la menor, no obstante se determinó en éstas la presencia de *Listeria* (13%). El 100% de las ensaladas crudas fue positivo por coliformes fecales. Se encontró *Pseudomonas* y *S. aureus* en frutas, ensaladas crudas y refrescos. Todas las superficies analizadas, con una excepción, resultaron negativas por los parámetros evaluados. El 75% de las manos del personal médico, dio positivo por al menos uno de los parámetros: 25% tenía coliformes totales (2.8×10^3 UFC por mano), 13% coliformes fecales (2.4×10^3 UFC por mano), 69% *S. aureus* (1.3×10^3 UFC por mano) y 19% *Pseudomonas* sp. Se seleccionaron al azar 115 aislamientos que se identificaron mediante pruebas miniaturizadas (API®). Al comparar esas identificaciones con los 166 aislamientos del Laboratorio Clínico del Hospital provenientes de infecciones en los pacientes de oncología, se determinó, mediante análisis de varianza, que ambas poblaciones bacterianas eran estadísticamente semejantes.

Palabras clave: Alimentos, contaminación, oncología, infección nosocomial, bacterias, ambiente.

SUMMARY. Evaluation of the presence of bacteria in food and environment of an Oncological Service of a National Hospital, San José, Costa Rica. The microbiological quality of 92 samples from the Oncological Service of a National Hospital, San José, Costa Rica was evaluated during the months of February to July, 2002. Of these samples, 48 were from salads, refreshments, and fruits and 44 from surfaces, air and hands of the medical personnel. The presence of total and fecal coliforms was determined by the total plate count technique, using Violet Red Bile Agar for the isolation of total and fecal coliforms, Baird-Parker Agar for *Staphylococcus aureus*, Cetrimide Agar for *Pseudomonas* and *Listeria* was enriched in University of Vermont Broth, Fraizer Broth and isolated in Oxford Agar. From the food samples analyzed, 77% were positive for at least one of the parameters studied; the fruits presented the greater contamination (94%) and the cooked salads the minor, even though *Listeria* was isolated in 13% of them. All tested salads (100%) were positive for fecal coliforms. *Pseudomonas* and *S. aureus* were isolated from fruits, raw salads, and refreshments. All the analyzed surfaces, with an exception, were negative for the parameters evaluated. 75% of the hands of the medical personnel were positive for at least one of the parameters evaluated; 25% had total coliforms (2.8×10^3 UFC/hand), 13% fecal coliforms (2.4×10^3 UFC/hand), 69% *S. aureus* (1.3×10^3 UFC/hand) and 19% *Pseudomonas* sp. 115 isolates were randomly selected, and identified using miniaturized tests (API®). When comparing these identifications with the 166 isolations done at the Clinical Laboratory of the Hospital from the infected patients of oncology, by means of variance analysis, it was determined that both bacterial populations were statistically similar.

Key words: Foods, contamination, oncology, nosocomial infection, bacteria, environment.

INTRODUCCION

En un paciente con cáncer se presentan una serie de condiciones que debilitan su sistema inmunológico, ya sea porque el crecimiento de la masa tumoral facilita el desarrollo de distintos procesos infecciosos, porque el tratamiento destruye células hematopoyéticas lo que produce anemia, leucopenia y trombocitopenia o por la destrucción de células epiteliales. Las bacterias de la flora normal pueden ocasionar

infecciones oportunistas y los largos períodos de hospitalización junto con la ruptura de piel por catéteres, facilitan la entrada de distintos microorganismos a sitios estériles dentro del cuerpo del paciente (1,2). Todos estos factores, sumados a la enfermedad oncológica que por sí misma es debilitante, causan en el paciente alta susceptibilidad a las infecciones intrahospitalarias, que con frecuencia son fatales.

Las infecciones nosocomiales, aquellas que se presentan en pacientes y personal de instituciones hospitalarias sin que se manifestaran o incubaran antes de la admisión (3), constituyen un problema importante para países desarrollados y en vías de desarrollo, pues afectan entre el 5% y 15% de los pacientes, se asocian a morbilidad elevada, aumentan los costos de operación de los centros de salud por empleo de antibióticos y procedimientos más costosos y prolongan la estancia hospitalaria de los enfermos infectados (4).

Debido a que la ingestión de alimentos o agua contaminada, aire, personal médico, o fomites, entre otros, pueden ser causa de infección nosocomial (3), se pretende con este estudio conocer las bacterias a las que usualmente están expuestos los pacientes del Servicio de Oncología de un Hospital clase A a través de estos mecanismos y correlacionar los hallazgos con las infecciones que padecen. De esta forma, se procura identificar algunos puntos claves para disminuir las infecciones nosocomiales en este servicio, con resultados beneficiosos para los pacientes y para el hospital.

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 92 muestras, 48 de las cuales fueron de alimentos (16 de frutas, 16 de refrescos y 16 de ensaladas), 12 de superficies, 16 de aire y 16 de manos del personal médico (de febrero a julio del 2002). Se siguió la metodología descrita por Vanderzant y Splittstoesser (5) y Arias y col. (6), en la que 25g muestra (fruta o ensalada) se diluyen en 225 mL de agua peptonada estéril al 0.1% para obtener una solución madre; el refresco se trabajó directamente como solución madre. A partir de estas soluciones se prepararon diluciones decimales hasta 10^{-5} y se inocularon, por duplicado, en agar Bilis Rojo Violeta (ABRV) incubadas a 35°C por 48 h para la cuantificación de coliformes totales y a 44.5°C por 24 h para la cuantificación de coliformes fecales. Se inocularon también, por duplicado 0.1mL y 0.5mL en agar Cetrimida incubados a temperatura ambiente y a 44.5°C por 48 h para la detección de *Pseudomonas* y 0.1mL y 0.5mL en agar Baird Parker incubados a 35°C por 48 h para la detección de *Staphylococcus*. De cada plato se seleccionaron colonias al azar y se identificaron con galerías bioquímicas miniaturizadas (API®) seleccionadas de acuerdo con la tinción de Gram, pruebas de catalasa y oxidasa.

Con el fin de buscar *Listeria* sp. se enriqueció, por 24 h a 35°C, 10 mL de solución madre en 90 mL de caldo University of Vermont Modified (CUVM); a partir de allí se inoculó un caldo Fraizer que se incubó a 35°C por 24 h y posteriormente un agar Oxford, incubado a 35°C hasta por 72 h. Aquellas colonias con morfología característica de *Listeria* sp. (redondas, café oscuras, con una depresión central) se confirmaron con tinción de Gram, movilidad a 25°C, luz de Henry, pruebas de oxidasa, catalasa y CAMP (5).

Para el análisis de superficies se raspó, con ayuda de

torunda estéril, un área de 50 cm² de las superficies donde se colocan las bandejas de los alimentos y las de preparación de medicamentos. La torunda se sumergió en 5 mL de agua peptonada al 0.1% para obtener la solución madre. A partir de ésta se hicieron diluciones decimales que se trabajaron como se mencionó anteriormente.

El análisis ambiental se realizó mediante la exposición a la atmósfera por 15 minutos de placas de agar sangre ubicadas en distintos sitios de las secciones de Oncología. Las placas se incubaron durante 48 h a 35°C y se contaron las unidades formadoras de colonias; se escogieron colonias al azar y se identificaron con galerías bioquímicas miniaturizadas como se citó anteriormente.

Se analizó la flora bacteriana presente en las manos del personal que trabaja en las salas de Oncología, para lo cual se les pidió que se lavaran una de sus manos en 100 mL de agua peptonada estéril al 0.1% dentro de una bolsa plástica, que se constituyó en la solución madre. A partir de ésta se hicieron diluciones hasta 10^{-5} , que se trataron igual que las de alimentos y superficies.

RESULTADOS

El 77% de los alimentos analizados dio positivo por al menos uno de los parámetros evaluados, siendo las frutas el alimento con los mayores porcentajes de contaminación (94%) y las ensaladas cocinadas con los menores porcentajes (13%).

De las 16 ensaladas muestreadas, ocho estaban constituidas por ingredientes previamente cocinados y las restantes por ingredientes crudos. Todas las muestras con ingredientes cocinados resultaron negativas (<10 UFC/g) para coliformes totales, fecales, *Pseudomonas* o *Staphylococcus aureus*, en tanto que dos muestras (25%) dieron resultados positivos por *Listeria* sp. El 100% de las ensaladas crudas fueron positivas por coliformes totales y fecales, con un promedio de 8.5×10^3 UFC/g de coliformes totales y 4.6×10^3 UFC/g de coliformes fecales. Dos de las muestras (25%) fueron positivas por *S. aureus*, (promedio de 1.5×10^2 UFC/g) y otras dos muestras (25%) fueron positivas por *Pseudomonas*. En ninguna de estas muestras se detectó la presencia de *Listeria* sp. (Tabla 1).

De las 16 muestras de refresco, 12 (75%) fueron positivas por coliformes totales y fecales con un promedio de 1.7×10^4 y 6.0×10^3 UFC/mL respectivamente. Seis muestras (38%) fueron positivas por *S. aureus* con un promedio de 1.5×10^2 , 11 (69%) por *Pseudomonas* y dos (13%) por *Listeria* sp. (Tabla 1).

Los resultados de las muestras de frutas fueron los siguientes: 15 de 16 muestras (94%) fueron positivas por coliformes totales y fecales, con un promedio de 1.7×10^4 y 1.2×10^4 UFC/g respectivamente; cuatro muestras (44%) fueron positivas por *S. aureus* y 11 (69%) por *Pseudomonas*. En ninguna de las muestras se aisló *Listeria* sp. (Tabla 1).

TABLA 1
Evaluación microbiológica de alimentos obtenidos del servicio de Oncología de un Hospital Nacional, San José, Costa Rica

Alimento	Colif. totales		Colif. fecales		S.aureus		<i>Listeria</i>	<i>Pseudomonas</i>
	% ¹	UFC/g ²	%	UFC/g	%	UFC/g		
Ensalada cocinada	0	< 10	0	< 10	0	< 10	25	0
Ensalada cruda	100	8,5x10 ³	100	4,6x10 ³	25	1,5x10 ²	0	25
Fresco	75	1,7x10 ⁴	75	6,0x10 ³	38	1,5x10 ²	13	69
Fruta	94	1,7x10 ⁴	94	1,2x10 ⁴	44	2,5x10 ²	0	69

¹ Porcentaje de muestras positivas

² Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de alimento

Se seleccionaron al azar 76 aislamientos provenientes de las diferentes muestras de ensaladas, frutas y refrescos para identificarlas bioquímicamente. Los géneros que se encontraron con más frecuencia fueron *Pseudomonas* (25%), *Enterobacter* (20%) y *Staphylococcus* (21%). Aunque en bajo porcentaje, fue posible identificar a *Listeria* (8%) y a *Shigella* (3%).

Todas las superficies analizadas resultaron ser negativas por coliformes, *Pseudomonas* sp. y *Listeria* sp. y solo una muestra fue positiva por *S. aureus* con 1,2x10² UFC/cm².

En el 94% de las muestras ambientales hubo crecimiento bacteriano, con un promedio de 13 UFC/15 minutos. Los géneros que se aislaron fueron *Staphylococcus* sp. (46%), *Moraxella* sp. (23%), *Sphingomonas* sp. (15%), *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (8% cada uno). Se determinó, mediante un análisis de t-Student, que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la cantidad de unidades formadoras de colonias aisladas en la época seca y en la época lluviosa (p>0.05).

Al estudiar la flora bacteriana de las manos del personal de oncología, se encontró que el 75% de las manos estaba positivo por al menos uno de los parámetros evaluados; 25% con coliformes totales (promedio 2,8x10³ UFC por mano) 13% con coliformes fecales (promedio 2,4x10³ UFC por mano), 69% con *S. aureus* (promedio 1,3x10³ UFC por mano) y 19% con *Pseudomonas* sp. Se realizó la identificación bacteriana a 23 aislamientos provenientes de estas muestras, de los cuales un 35% correspondió a *Staphylococcus* coagulasa negativa, un 26% a *S. aureus*, un 17% a *Pseudomonas* y a *Enterobacter* y un 5% a *Klebsiella*.

En total, considerando todas las muestras, se identificaron 115 cepas, dentro de las cuales predominaron *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter* (Tabla 2). Mediante análisis de varianza se determinó que no hubo diferencias estadísticamente significativas (p>0.05) entre los 115 aislamientos de este estudio y los 166 aislamientos identificados por el Laboratorio Clínico del Hospital, como responsables de infecciones en los pacientes de Oncología durante el período de tiempo que duró el estudio (Tabla 2).

TABLA 2
Géneros bacterianos aislados a partir de este estudio y los que se identificaron en pacientes en las secciones de Oncología de un Hospital Nacional, en el mismo período de tiempo. San José, Costa Rica

Bacterias	Porcentaje obtenido en el estudio	Porcentaje aislado de pacientes
<i>Acinetobacter</i>	0.87%	3.01%
<i>Aeromonas</i>	0.00%	0.60%
<i>Citrobacter</i>	3.48%	3.01%
<i>Enterobacter</i>	16.52%	15.06%
<i>Escherichia</i>	2.61%	13.86%
<i>Klebsiella</i>	8.70%	4.22%
<i>Listeria</i>	5.22%	0.00%
<i>Moraxella</i>	2.61%	0.00%
<i>Morganella</i>	0.00%	3.61%
<i>Proteus</i>	0.00%	1.81%
<i>Pseudomonas</i>	20.87%	9.64%
<i>Serratia</i>	1.74%	1.20%
<i>Shigella</i>	1.74%	0.00%
<i>Sphingomonas</i>	1.74%	0.00%
<i>Staphylococcus aureus</i>	15.65%	12.65%
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	18.26%	17.47%
<i>Stenotrophomonas</i>	0.00%	1.81%
<i>Streptococcus</i>	0.00%	3.01%
Otros	0.00%	9.04%

DISCUSION

Las bacterias del grupo coliforme, así como la presencia de *S. aureus*, se utilizan como parámetros de manipulación y evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos (7). Es preocupante que el 77% de los alimentos analizados tuviera algún grado de contaminación; aunque el número UFC de coliformes totales no superó el orden de 10⁴, la presencia de coliformes fecales en alimentos listos para consumo en cantidades de 10³ y 10⁴ UFC/g es inadmisibles (5). Esto es

especialmente cierto si se trata de enfermos inmunosuprimidos, pues si estos microorganismos indicadores se encuentran en alimentos, también se pueden encontrar patógenos de transmisión fecal-oral como *Shigella*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, entre otros (8). Esta situación se confirma con el hallazgo de *Shigella* en el 3% de las bacterias identificadas en los alimentos analizados.

Los coliformes totales, que incluyen los géneros *Citrobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, se hallaron repetidamente dentro de este estudio. Aunque *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* aislados de alimentos no se han relacionado con patologías importantes a nivel gastrointestinal, (9,10) son indicadores de higiene inadecuada (5). Además, su presencia dentro de una sección como ésta, donde se encuentran internados pacientes inmunocomprometidos, puede ser perjudicial para estos.

En lo que respecta a *Pseudomonas*, también sugerido como un patógeno de cuidado en las infecciones nosocomiales de pacientes inmunocomprometidos (8,10), se aisló en un 25% de las ensaladas crudas, además de un 69% en los refrescos y en las frutas del estudio (Tabla 1). Esto es muy importante considerando el estado de inmunosupresión de los pacientes, pues en ellos la dosis infectante se reduce hasta en un 50% (8,9). *P. aeruginosa* fue una de las especies encontradas en los refrescos analizados y también se encuentra dentro de las especies comúnmente aisladas por el Laboratorio del Hospital (Tabla 2).

En este estudio se aislaron menos de 10 UFC/g de *S. aureus* en las ensaladas cocinadas, un valor mucho más bajo que el obtenido en los otros alimentos que se encuentran entre $1,5 \times 10^2$ y $2,5 \times 10^2$ UFC/g (Tabla 1). Esto puede deberse al proceso de cocción al que se sometieron algunos de los ingredientes, que logra disminuir la carga microbiana. Sin embargo, debe recordarse que la toxina de estas bacterias puede resistir las temperaturas de cocción, por lo que este proceso no garantiza que recuentos bajos de *S. aureus* no constituyan un riesgo para los pacientes.

Con respecto a *Listeria*, también reconocida como un agente infeccioso importante en pacientes inmunosuprimidos, relacionada con meningitis, septicemias y gastroenteritis atípica (5,9,11), se encontró en un 13% de los refrescos y en un 25% de las ensaladas cocinadas (Tabla 1); estas últimas posiblemente se contaminaron después de la cocción, pues esta bacteria no soporta las temperaturas de pasteurización, aunque sí es resistente al pH ácido, por lo que pudo sobrevivir a pesar del vinagre. Aunque *L. monocytogenes* se encuentra dentro de las especies involucradas en infecciones nosocomiales, ésta no aparece dentro de los aislamientos realizados por el Laboratorio Clínico del Hospital (Tabla 2); esto podría deberse a que no se tienen protocolos establecidos para identificar esta bacteria, ya que es un microorganismo fastidioso.

Varias de las bacterias aisladas a partir de los alimentos en este estudio, pertenecen a los géneros *Escherichia*, *Shigella*, *Staphylococcus* y *Listeria* (Tabla 2) que han sido reconocidas como agentes de infecciones nosocomiales importantes. Algunos estudios indican que las frutas y los vegetales usados en servicios de comida hospitalarios portan bacterias Gram negativas como *P. aeruginosa*, *Klebsiella* y especies de *Enterobacter* (12); inclusive, estos mismos agentes infecciosos pueden afectar otros sistemas además del tracto gastrointestinal (5). Al respecto es importante señalar que fueron precisamente las frutas el alimento que presentó los mayores índices de contaminación (Tabla 1), probablemente por un lavado inadecuado y por la manipulación que conlleva el prepararlas para el consumo de los pacientes.

Se determinó que las superficies de las mesas utilizadas por los pacientes tenían menos de 10 UFC/cm² de coliformes totales y fecales, que no se aisló ni *Listeria* ni *Pseudomonas* y que únicamente se encontró *S. aureus* en un 8% de las muestras estudiadas. Esta especie, por ser Gram positiva, soporta mejor las condiciones ambientales y algunos desinfectantes (10). Este hallazgo debe considerarse de cuidado, ya que es una especie bacteriana frecuentemente relacionada con infecciones nosocomiales (5,13). Sin embargo, en términos generales, se infiere una adecuada sanitización de las superficies en el servicio de oncología.

En el aire, muchas bacterias Gram positivas se mantienen viables e infectivas en el polvo seco y pueden infectar a los pacientes de un hospital (14). En este estudio, de este grupo se encontró únicamente al género *Staphylococcus*, que como se ha señalado, es uno de los más implicados en infecciones nosocomiales (13). Cabe destacar que este género fue el que se encontró con mayor frecuencia, con un 46% de aislamientos, representando un riesgo importante en la contaminación de heridas quirúrgicas (15).

Las bacterias Gram negativas son más lábiles a las condiciones ambientales (16), por lo que se considera que las infecciones nosocomiales por esos agentes son de fácil prevención; sin embargo, es importante resaltar que todas las especies aisladas e identificadas a partir del aire (*Moraxella*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*) se han asociado a infecciones nosocomiales (17). Cabe destacar que *Staphylococcus* coagulasa positivo y negativo, *Acinetobacter* y *Pseudomonas* se encuentran entre los géneros aislados con más frecuencia de pacientes durante el tiempo del estudio, según el Laboratorio Clínico del Hospital (Tabla 2).

Con respecto a los recuentos bacterianos en las muestras de aire, no se encontraron diferencias significativas entre las estaciones seca y lluviosa, posiblemente porque no hay diferencias marcadas en las condiciones de humedad en estos dos períodos de tiempo.

La transmisión de microorganismos a través de las manos ha sido reconocida como el más importante factor de

diseminación de brotes de infección nosocomial (15,17). Es alarmante que el 75% de las muestras provenientes de las manos del personal estuviera positivo por al menos uno de los parámetros evaluados, siendo de gran preocupación la presencia de coliformes fecales en el 13%, de *Pseudomonas* en el 19% y de *S. aureus* en el 69%. Debido a que *Pseudomonas* puede crecer en el jabón líquido que comúnmente se encuentra junto a los lavados, esto podría explicar su presencia en las manos del personal (18).

A partir de las manos se aislaron además de *Staphylococcus* y *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Acinetobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter*. Varias de estas bacterias han sido implicadas en la contaminación de instrumental estéril e invasivo que tiene contacto con las manos del personal y que posteriormente se utiliza con los pacientes (19). Esto es aún más importante en pacientes con el sistema inmunológico deprimido, pues no se puede evitar que un número pequeño de bacterias que entre al torrente sanguíneo o a un compartimiento corporal estéril se multiplique.

Una higiene apropiada a la hora de lavarse las manos por parte del personal que tiene a su cargo el cuidado de los pacientes, es suficiente para minimizar brotes de infecciones dentro de los hospitales, pues lograría disminuir significativamente la carga bacteriana (15). En el lugar de estudio pudimos notar varias razones por las cuales no es posible poner en práctica adecuadas normas de higiene, entre ellas: falta de equipo de lavado y secado de manos accesible, falta de jabón, asignación de gran cantidad de pacientes a poco personal de salud, falta de campañas de educación dirigidas al personal sobre las consecuencias de malas prácticas de lavado para sus pacientes, entre otros.

En total, a partir de todos los tipos de muestras, se aislaron e identificaron 115 cepas, dentro de las cuales predominan *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y *Enterobacter* (Tabla 2). La mayoría de éstas coincide con los aislamientos identificados de muestras de pacientes durante el mismo período (Tabla 2), entre los que predominan los géneros *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, lo que sugiere la existencia de una interacción entre los microorganismos que se encuentran en los alimentos y el ambiente con los que causan infecciones en los pacientes. Es importante resaltar que los aislamientos identificados coinciden con la mayoría de los patógenos que comúnmente se aíslan en pacientes granulocitopénicos (20), lo cual refuerza la importancia de tener un mejor sistema de vigilancia de los microorganismos ambientales.

REFERENCIAS

1. Crooke S & Prestayko A. Cancer and Chemotherapy volume II. USA. Academic Pres, 1981.
2. Baron E, Peterson L & Finegold S. Diagnostic Microbiology. 9 Ed. USA. Mosby, 1994.
3. Alfred S, Evans V, Philip S & Brachman P. Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Control. 3 Ed. USA. Plenum Publishing Co., 1998.
4. Oreamuno LS. Presencia de *Listeria monocytogenes* y su relación con el nivel de coliformes fecales durante la manufacturación de queso blanco en plantas de la zona de Santa Cruz, Turrialba. Costa Rica: Universidad de Costa Rica, 1994.
5. Vanderzant C & Splittstoesser D. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA. Washington DC., 1995.
6. Arias M, Monge R, Antillón F & Chávez C. Microbiological contamination of enteral feeding solutions used in Costa Rican hospitals. Arch Latinoamer Nutr. 1999;49:363-366.
7. Schlech, W. Virulence characteristic of *Listeria monocytogenes*. Food Tech. 1988; 42:176-178.
8. Shooter RM., Faiebs M, Cooke A & Breader S. Isolation of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella* from food in hospitals, canteens and schools. Lancet. II: 1971;390-392.
9. Mahon C & Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. 2 Ed. USA. Sauder Editions, 2000.
10. Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F & Tenover R. Manual of Clinical Microbiology. 7 Ed. ASM Press. Washington DC. 1999.
11. Farber JM & Pettekin P. *Listeria monocytogenes* a food-borne pathogen. Rev Biol Trop. 1991;55:474-511.
12. Arias ML & Antillón F. Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. Rev Biomed. 2000;11:13-122.
13. Volkow P, De la Rosa M, Gordillo P, Vilar D, Lazo S, Aranda G & Sandoval S. Tendencias de infecciones nosocomiales intrahospitalarias en un centro oncológico, 1986-1996. Sal Púb Méx. 2002;42:181-187.
14. Mc Donal LC, Walker M, Carson L, Arduino M, Agüero SM, Gomez P, Mc Neil P & Jarvis W. Outbreaker of *Acinetobacter* spp. Bloodstream infections in nursery associated with contaminated aerosols and air conditioners. Pediatr Infect Dis. 1998;17:716-722, 1998.
15. Evans AS & Brachman P. Bacterial infections of humans. Epidemiology and Control. 3 Ed. New York. Plenum Publishing Co., 1998.
16. Prescott L, Harley J & Klein D. Microbiología. 4 Ed. España. Mc Graw Hill, 1999.
17. Anonymous. Prevention of hospital acquired infections. World Health Organization, Department of Communicable Disease, Surveillance and 2 Edit. <http://www.who.int/emc>. 2002. (consulta octubre 2003).
18. Mc Neil S, Foster C, Hedderwick S & Kauffman C. Effect of hand cleansing with antimicrobial soap or alcohol-based gel on microbial colonization of artificial fingernails worn by health care workers. Clin Inf Dis. 2001;32:367-372.
19. Schaal KP. Medical and microbiological problems arising from airborne infection in hospitals. J Hosp Infect. 1991;18:451.
20. Shulman S, Phail J & Sommer H. Infectious Disease. 4 Ed. México. Sauder. 1992.

Recibido: 16-12-2003

Aceptado: 14-06-2004