

**Presencia de *Cronobacter* spp. en fórmulas
infantiles en polvo para pacientes lactantes en
dos hospitales de Honduras**

Jorge Wilmer Echevarria Peña

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Presencia de *Cronobacter* spp. en fórmulas
infantiles en polvo para pacientes lactantes en
dos hospitales de Honduras**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Jorge Wilmer Echevarria Peña

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2016

Presencia de *Cronobacter* spp. en fórmulas infantiles en polvo para pacientes lactantes en dos hospitales de Honduras

Jorge Wilmer Echevarria Peña

Resumen: *Cronobacter* spp. es un género de bacterias causante de enfermedades transmitidas por alimentos. Se encuentra asociado al consumo de fórmulas infantiles en polvo, porque son productos no estériles y pueden estar contaminados. El riesgo de infección por *Cronobacter* spp. aumenta con la incorrecta reconstitución del producto. Ocasiona infección y muerte en recién nacidos, especialmente en prematuros e inmunodeprimidos. Este estudio buscó determinar la presencia de *Cronobacter* spp. en fórmulas infantiles en polvo; evaluar las condiciones de operación para procesar fórmulas; y desarrollar un manual de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo, en dos hospitales de Honduras. Los hospitales se evaluaron, 50 muestras fueron recogidas y transportadas al Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano. El método ISO/TS 22964: 2006, se usó para el aislamiento de *Cronobacter* spp. La presencia de *Cronobacter* spp. se determinó en el 4% (2/50) de las muestras. Los hospitales evaluados necesitan implementar las directrices para la preparación, almacenamiento y manipulación de fórmulas infantiles en polvo para lactantes de la Organización Mundial de la Salud. En conclusión existe exposición al *Cronobacter* spp. en los dos principales hospitales públicos de Honduras. Es necesario realizar mayor investigación sobre este microorganismo en Honduras.

Palabras clave: *Enterobacter sakazakii*, ETA, inmunodeprimido, recién nacido, VIH

Abstract: *Cronobacter* spp. is a genus of bacteria that causes foodborne illness. It is associated with the consumption of powdered infant formula, because these products are not sterile and can be contaminated. The risk of infection for *Cronobacter* spp. increases with poor processing in the rehydration of formula. Causes infection and death in newborns, especially premature and immunocompromised. The purpose of this study was determine the presence of *Cronobacter* spp. in powdered infant formula; evaluate the operating conditions where formulas are processed; and present a manual for processing powdered infant formula in two hospitals in Honduras. The hospitals were evaluated, 50 samples in total were collected and transported to the Laboratory of Food Microbiology of Zamorano. ISO/TS 22964:2006 was used for *Cronobacter* spp. isolation. The result was presence of *Cronobacter* spp. in 4% (2/50) of the samples. The hospitals need to implement the guidelines to safe preparation, storage and handling of powdered infant formulas of the World Health Organization. In conclusion exist exposure to *Cronobacter* spp. in the two main public hospitals in Honduras. The hospitals need to implement improvements in processing of formulas. More research on this microorganism in Honduras is needed.

Key words enzymatic *Enterobacter sakazakii*, foodborne illness, HIV, immunocompromised, newborn.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexo	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
4. CONCLUSIONES.....	11
5. RECOMENDACIONES.....	12
6. LITERATURA CITADA	13
7. ANEXO	17

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXO

Cuadros	Página
1. Puntos evaluados del Servicio de Fórmulas Infantiles de los Hospitales	3
2. Resultados de la evaluación del Servicio de Fórmulas Infantiles del Hospital I	9
3. Resultados de la evaluación del Servicio de Fórmulas Infantiles del Hospital II	9
4. Capítulos del manual de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo para hospitales.....	10

Figuras	Página
1. Flujo de proceso de procesamiento de fórmulas infantiles en hospitales, según Vargas <i>et al.</i> en el 2008.....	4
2. Flujo de proceso del método aséptico utilizado para recoger muestras de fórmulas infantiles en polvo	5
3. Flujo de proceso del Método ISO/TS 22964:2006 para aislamiento de <i>Cronobacter sakazakii</i> en Fórmulas Infantiles en Polvo (FIP).....	6

Anexo	Página
1. Guía de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo para hospitales	17

1. INTRODUCCIÓN

Cronobacter spp. es un género de microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (Iversen *et al.* 2008). Hasta 1958 fue llamado *Enterobacter cloacae* con pigmento amarillo y después renombrada como *Enterobacter sakazakii* en 1980 (Farmer *et al.* 1980; FDA 2012). Después de un estudio de ADN en el 2007, se propuso la creación de un nuevo género para la taxonomía de *Enterobacter sakazakii* (Iversen *et al.* 2007). En el 2008 se presentó el cambio de la nomenclatura y se reclasificó en el género *Cronobacter* spp. incluyendo siete especies que corresponden a *Cronobacter sakazakii*, *Cronobacter malonaticus*, *Cronobacter turicensis*, *Cronobacter muytjensii*, *Cronobacter dublinensis*, *Cronobacter condimenti* y *Cronobacter universalis*. (Iversen *et al.* 2008; Healy *et al.* 2010; Joseph *et al.* 2012).

Las especies presentadas son causantes de ETA's (Enfermedades Transmitidas por Alimento), exceptuando *Cronobacter condimenti*. La mayoría de casos de infección están asociados a *Cronobacter sakazakii* y *Cronobacter malonaticus* (Sigüenza 2014; Asato *et al.* 2013). El género *Cronobacter* spp. es de tipo Gram negativo, móvil, no formadora de esporas, anaerobias facultativas, termotolerantes y ubicuas (OMS y FAO 2004, 2008; Elika 2013). Tienen capacidad de formar biopelículas, son resistentes a la desecación y al estrés osmótico, favoreciendo su existencia en ambientes secos. En diferentes estudios se ha desconocido el reservorio, pero se ha logrado aislar en diversos ambientes donde se produce leche en polvo (ACSA BRIEF 2013).

Este género de bacterias puede sobrevivir hasta dos años con una actividad de agua de 0.14 - 0.27. El pH óptimo de crecimiento es de 5 - 9, con un rango de sobrevivencia de 3 - 10. El tiempo de generación para duplicar la población de *Cronobacter* spp. es de 300 minutos a 10 °C, el tiempo se reduce a 40 minutos a una temperatura de 23 °C y a 20 minutos a 37 °C, es por eso que se pueden multiplicar en almacenamiento y procesamiento (Elika 2013; ACSA BRIEF 2013; OXOID 2010).

Los casos más graves por infección están asociados al consumo de fórmulas infantiles en polvo. Estas fórmulas no son estériles y pueden estar contaminadas. Los primeros casos de infección se reportaron en el año de 1958, en Reino Unido (Urmenyi y Flanklin 1961). En la actualidad se han presentado casos de morbilidad y mortalidad infantil por *Cronobacter* spp. en todo el mundo (OMS y FAO 2008; FUNCEI 2011).

La infección por *Cronobacter* spp. produce enfermedades como sepsis, meningitis, cerebritis, absceso cerebral y enterocolitis necrotizante. Este microorganismo es causante de secuelas graves y hasta la muerte (OMS y FAO 2004, 2008).

El grupo más afectado son los menores de dos meses. Los que tienen mayor riesgo a infección son los recién nacidos, los prematuros y los inmunológicamente deprimidos. Este grupo tiene mayor riesgo al asociarse a su alimentación fórmulas contaminadas con *Cronobacter* spp. (Codex Alimentarius 2008; OMS y FAO 2004, 2008; Lopardo *et al.* 2016).

La infección no es frecuente, pero la mortalidad es alta, entre el 40 y 80% (Sáez *et al.* 2012; Castro *et al.* 2013). La dosis infectiva no se ha estimado, pero podría ser una dosis baja semejante a *Escherichia coli*, de 10 - 100 UFC (Unidades Formadoras de Colonias). *Cronobacter* spp. se transfiere a las fórmulas infantiles por malas prácticas de manufactura en la fabricación, por agregar ingredientes contaminados después de la pasteurización, por contaminación directa en el equipo, además por personas que manipulan el alimento y son portadoras (Elika 2013). El *Cronobacter* spp. tiene mayor frecuencia que *Salmonella* en las plantas procesadoras, por sus extremas características de vida (OMS y FAO 2004, 2008).

Está demostrado que niveles altos de contaminación y fallos en las BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) no son los únicos factores determinantes para la aparición del *Cronobacter* spp. porque su presencia se ha determinado hasta en fórmulas infantiles en polvo que cumplían con los requisitos del Codex para el recuento de coliformes (< 3 UFC/g). Se asocia que los fallos en la higiene al momento de la rehidratación en los hospitales y hogares, y la exposición a temperaturas de no refrigeración (>5 °C) aumentan la posibilidad de la infección en el momento del consumo de las fórmulas infantiles. También no se descarta el equipo que se usa en la preparación de fórmulas, que se ha visto asociado a contaminación causando brotes (OMS y FAO 2004, 2008; Codex Alimentarius 2008).

Cronobacter spp. es considerado por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (CIEM) como peligro severo y desde el 2004 la FAO conjuntamente con la OMS la consideran como microorganismo de tipo A, definiéndolo como peligro grave para la salud (OMS y FAO 2004, 2008). En países donde los niveles de salud son superiores al latinoamericano, se han presentado hasta 156 casos de infección y 29 casos de muerte, asociados al consumo de fórmulas infantiles en polvo contaminadas, entre los años 1961 y 2008. Es necesario determinar la presencia de *Cronobacter* spp. en países donde se consumen fórmulas infantiles en polvo y donde además no existen registros de este microorganismo. En Honduras no existe información sobre *Cronobacter* spp. es necesario realizar un estudio para determinar la presencia de este microorganismo patógeno. Los objetivos de este estudio fueron:

- Determinar la frecuencia de la presencia de *Cronobacter* spp. en fórmulas infantiles en polvo para pacientes lactantes en los dos principales hospitales públicos de Honduras.
- Evaluar las condiciones de procesamiento de las fórmulas infantiles en polvo del Servicio de Fórmulas Infantiles de los dos hospitales.
- Presentar un manual de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo para los dos principales Hospitales públicos de Honduras.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio fue necesario la colaboración de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), quien proporcionó el financiamiento y gestionó los permisos para el ingreso a los hospitales. El estudio se desarrolló en dos etapas, en la primera etapa se evaluaron los hospitales y se recolectaron las muestras y en la segunda etapa se procesaron las muestras.

Etapas I. Para esta etapa fue necesario trasladarse a los principales hospitales públicos de Honduras. Los cuales fueron denominados como Hospital I y Hospital II.

Evaluación del servicio de fórmulas infantiles del Hospital I y Hospital II. Para la evaluación de los hospitales se adaptó la Guía para la elaboración de fórmulas infantiles en polvo en medio hospitalario. Sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (Vargas *et al.* 2008). Con la guía se desarrolló una lista de puntos a evaluar (Cuadro 1), que se usó conjuntamente con un flujo de proceso (Figura 1), para identificar lo que se tenía que valorar en los Servicios de Fórmulas Infantiles de los dos hospitales.

Debido a que en ambos hospitales las fórmulas infantiles reconstituidas son transportadas inmediatamente para su consumo, las etapas de la 9 a la 11 que corresponden a refrigeración y recalentamiento, no fueron evaluadas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Puntos evaluados del Servicio de Fórmulas Infantiles de los hospitales I y II.

Etapas	Evaluar
Inicio	Organización general del servicio.
1 - 2	Almacenaje de fórmulas infantiles y agua para la reconstitución.
3 - 4	Limpieza, desinfección y esterilización de los materiales y equipos.
5	Proceso de reconstitución de las fórmulas infantiles.
6 - 8	Etiquetado, rellenado y transporte de las fórmulas reconstituidas.
9 - 10	Refrigeración y almacenamiento de las fórmulas reconstituidas.
11	Preparación de los contenedores para el consumo.
Final	Evaluación de la vigilancia.

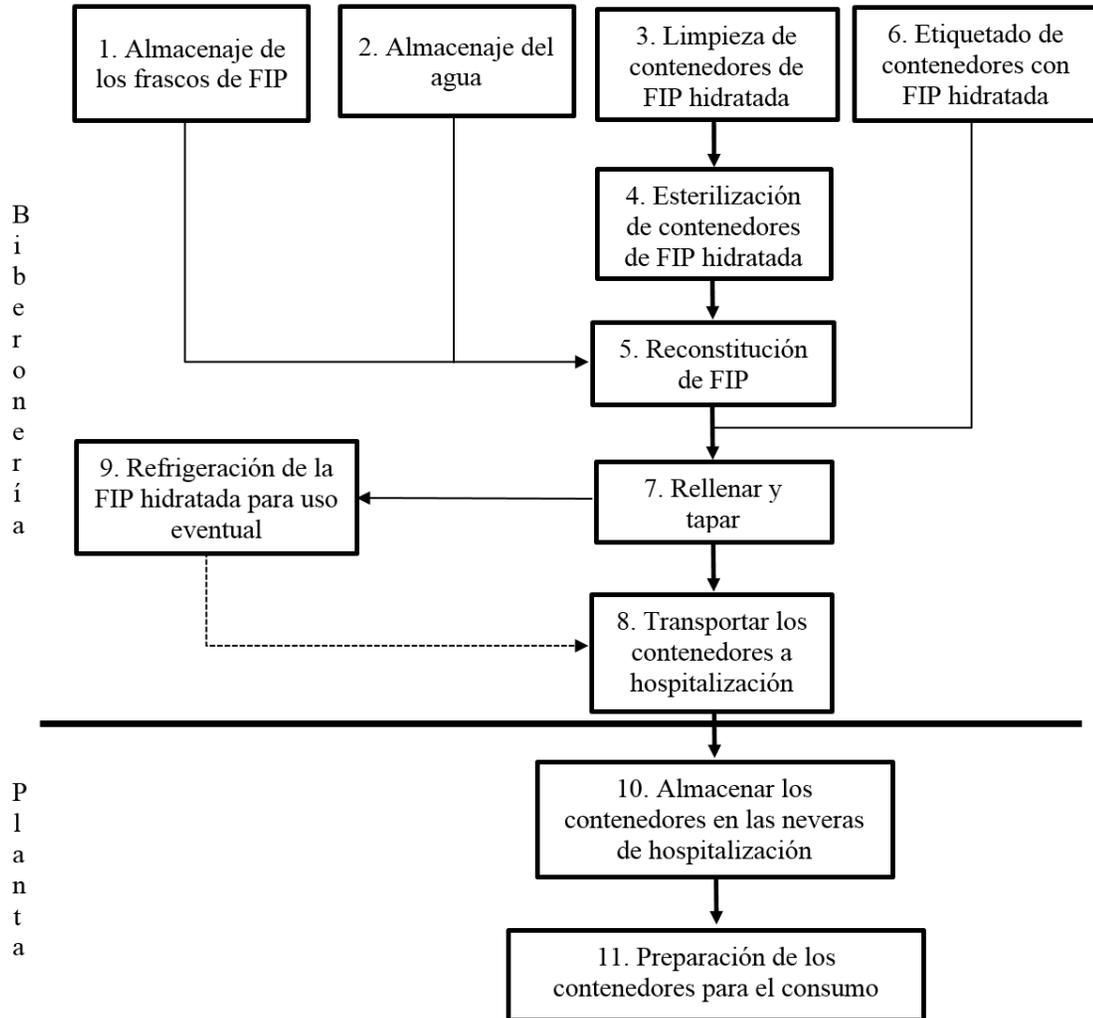


Figura 1. Flujo de proceso de procesamiento de Fórmulas Infantiles en Polvo (FIP) en hospitales, según Vargas *et al.*, en el 2008.

Determinación del tamaño de muestra. El tamaño de muestra fue de 40, se determinó considerando una población infinita con la Ecuación 1 (Aguilar-Barojas 2005).

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q}{d^2} \quad [1]$$

- $Z^2 = 1.036^2$ (la seguridad es del 85%)
- $p =$ proporción esperada ($5\% = 0.05$)
- $q = 1 - p$ ($1 - 0.15 = 0.85$)
- $d =$ precisión ($5\% = 0.05$)

$$n = \frac{1.036^2 \times 0.15 \times 0.85}{0.05^2} = 40$$

Recolección y transporte de las muestras de fórmulas infantiles. Para la recolección de muestras se utilizó un método aséptico, siguiendo un flujo de proceso realizado por el autor (Figura 2). Para el posterior reconocimiento de las fórmulas infantiles se recaudó información de cada muestra tomada, como: código de recolección, nombre del producto, dirección del fabricante, fecha de producción, fecha de caducidad, lote, marca, contenido neto, registro sanitario y se verificó si estaba en uso o sellada.

En total se recolectaron 50 muestras, que fueron trasladadas herméticamente al Laboratorio de Microbiología de los Alimentos de Zamorano (LMAZ).

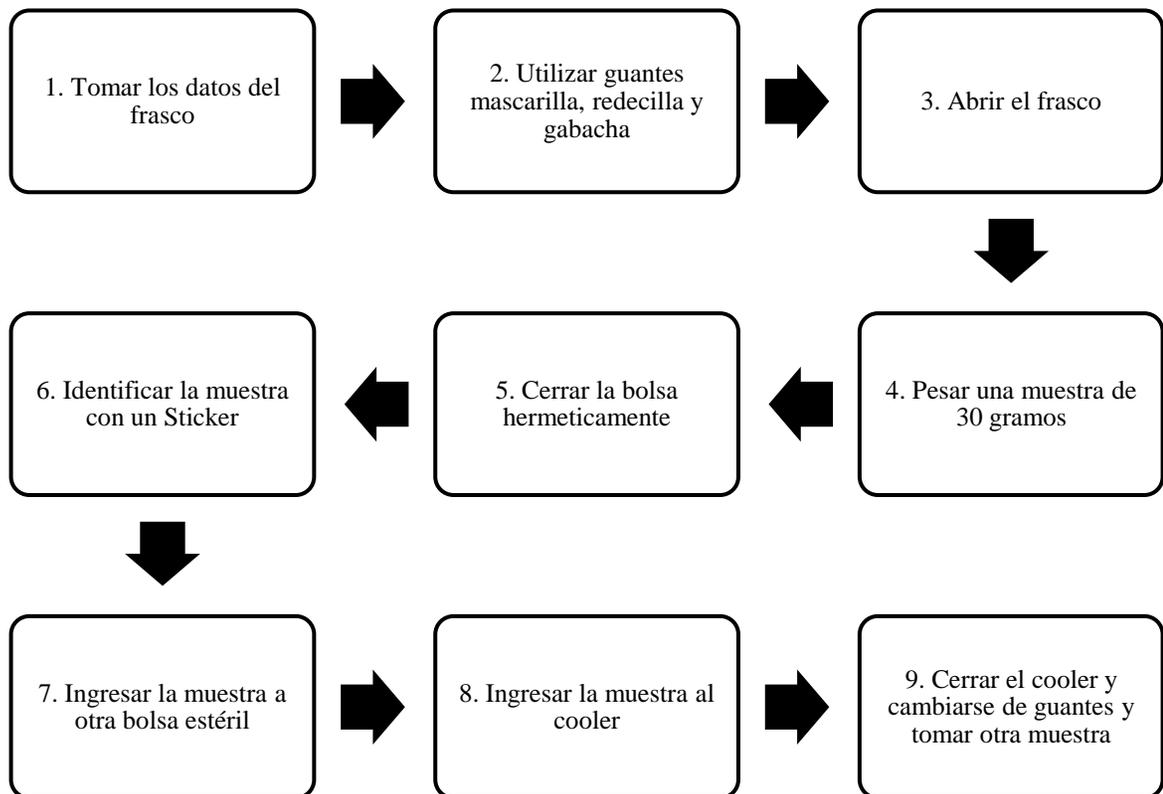


Figura 2. Flujo de proceso del método aséptico utilizado para recoger muestras de fórmulas infantiles en polvo.

Etapa II. En esta etapa se desarrolló el análisis microbiológico de las muestras de fórmulas infantiles, tomadas del Hospital I y Hospital II.

Análisis microbiológico. El análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de microbiología de los Alimentos de Zamorano (LMAZ), ubicado en el campus de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Km 30 carretera de Tegucigalpa a Danlí, Valle del Yeguaré, Municipio de San Antonio de Oriente. Francisco Morazán, Honduras.

Para la identificación de *Cronobacter spp.* se usó el método de Especificaciones Técnicas – ISO/TS 22964: 2006 (ISO 2006; FUNCEI 2011). La cantidad de muestra utilizada fue de 10 gramos, tomando en cuenta los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios de la Comisión Europea para el método ISO/TS 22964: 2006 (Comisión Europea 2010). El aislamiento selectivo se realizó con CHROMagar™ para *Cronobacter spp.* y para la confirmación bioquímica se utilizó Microgen™ GN-ID Identificación. El procedimiento se realizó según el flujo del proceso de la Figura 3.

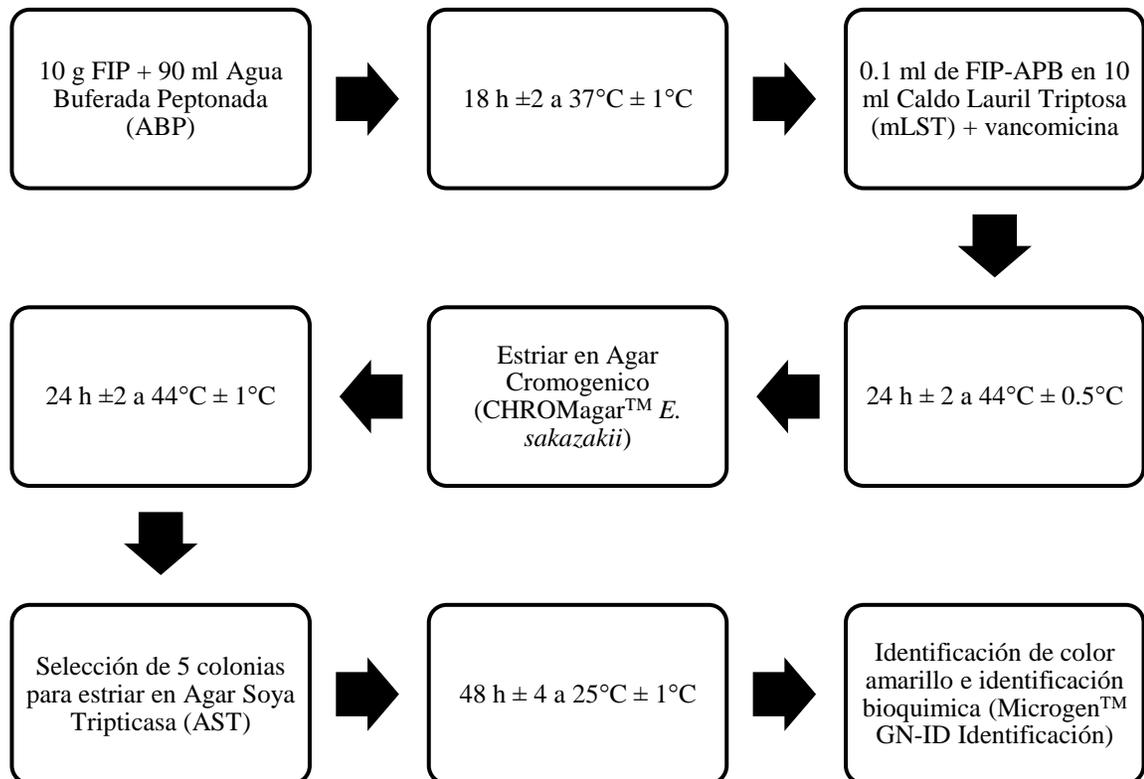


Figura 3. Flujo de proceso del Método ISO/TS 22964:2006 para aislamiento de *Cronobacter sakazakii* en fórmulas infantiles en polvo (ISO 2006).

Etapa III. En esta etapa se desarrolló el análisis microbiológico de las muestras de fórmulas infantiles, tomadas del Hospital I y Hospital II.

Elaboración del manual de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo. El manual se elaboró tomando en consideración el diagnóstico que se realizó después de la evaluación del Hospital I y del Hospital II. El manual se sometió a revisión de especialistas del Departamento de Agroindustria Alimentaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, para posteriormente ser entregado a los hospitales donde se realizó el estudio.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera visita al Hospital I, se recolectaron ocho muestras de fórmulas infantiles y en la segunda visita 32 muestras. En el Hospital II, diez muestras de fórmula se recolectaron en una sola visita. En total se obtuvieron 50 muestras de fórmulas infantiles en polvo, que se encontraban disponibles en el momento de la recolección. Las fórmulas muestreadas provenían de 14 productos, de cinco marcas disponibles en el mercado, originarias de seis países. El 38% (19) de las fórmulas procesadas en esta investigación se encontraban en uso durante el muestreo y el 62% (31) de muestras de fórmulas restantes fueron recolectadas del empaque sellado.

Los resultados del laboratorio arrojaron presencia de *Cronobacter* spp. con una frecuencia del 4%, de 50 muestras de fórmulas infantiles en polvo (2/50). Las especies encontradas corresponden a *Cronobacter sakazakii*, que es la especie más patógena del género *Cronobacter* (Sigüenza 2014; Asato *et al.* 2013). No se pudo determinar si ambas muestras positivas se encontraban contaminadas de fábrica o la contaminación del producto tuvo lugar en el procesamiento de las fórmulas en los hospitales, debido a que ambas fórmulas contaminadas pertenecían a productos que se encontraban en uso en el momento del muestreo. Castro *et al.* menciona que la contaminación con *Cronobacter* spp. se puede llevar a cabo en la fabricación o en el momento de la hidratación de las fórmulas, debido a que esta bacteria puede encontrarse en el medio ambiente y en alimentos (Petrola 2012; Castro *et al.* 2013; Carvajal y Paredes 2013).

Existe riesgo de infección por la exposición a *Cronobacter* spp. en los dos principales hospitales públicos de Honduras, por la presencia de este microorganismo en las fórmulas infantiles que se procesan en estos hospitales. El riesgo de contaminación aumenta debido a que este microorganismo puede sobrevivir en las fórmulas en polvo por más de dos años y tiene resistencia al calor, considerándose como el microorganismo más termoresistente de las enterobacterias (OMS y FAO 2004; Petrola 2012). Casos de meningitis, septicemia, enterocolitis necrotizante y sepsis en recién nacidos podrían estar asociados por el consumo de fórmulas contaminadas en ambos hospitales, así como lo presenta Flores *et al.* (2011) en dos casos de diarrea hemorrágica por *Cronobacter* spp. en pacientes hospitalizados en México en el 2011.

Los resultados obtenidos corresponden al primer reporte científico de *Cronobacter* spp. en hospitales de Honduras. Este resultado es similar al encontrado por Sáez *et al.* (2012) en una planta procesadora de fórmulas infantiles en el 2008, en el primer aislamiento de *Cronobacter* spp. en Chile, donde se usó el mismo protocolo ISO y se reportó presencia en el 5% de muestras, de 80 procesadas.

De la misma forma en el 2008 y con un porcentaje menor Leyva *et al.* (2008) reportan 1.6% de presencia de *Cronobacter* spp. en Cuba, de un total de 60 muestras procesadas, las muestras provenían de 9 países, para la identificación se usó el método del FDA - Food and Drug Administration (Leyva *et al.* 2008; FDA 2002). En Colombia Vanegas *et al.* (2008) reportaron la presencia de *Cronobacter* spp. de 27.7%, de 222 muestras de 9 lactarios, analizadas con el método FDA (Vanegas *et al.* 2008).

Además de *Cronobacter sakazaki*, en el estudio se encontró presencia de *Klebsiella* spp. en un 8%, *Acinetobacter* spp. en un 4% y *Yersinia* spp. Las especies de *Klebsiella* y *Acinetobacter* corresponden a microorganismos que son de importancia intrahospitalaria mundial, por el alto nivel de resistencia a antimicrobianos (Santisteban *et al.* 2014; Agodi *et al.* 2015). Además *Klebsiella* spp. representa un peligro en las fórmulas infantiles, Saéz *et al.* menciona que este microorganismo puede estar presente en fórmulas importadas, como las que se procesan en los hospitales de este estudio (Saéz *et al.* 2012; Parra 2011).

Los hospitales evaluados se encontraron con deficiencias en el procesamiento de fórmulas infantiles en polvo. En la evaluación se descubrieron diferentes falencias a nivel de todo el proceso para asegurar un producto inocuo (Cuadro 2 y Cuadro 3).

En el Hospital I, las condiciones donde se procesaban las fórmulas infantiles en polvo fueron de nivel precario, la infraestructura no aseguraba un proceso que garantice la inocuidad de las fórmulas al ser rehidratadas, no contaban con las condiciones correctas de almacenamiento de las fórmulas infantiles. No se observó un control sobre las temperaturas dentro del área de procesamiento, para poder reducir la posibilidad de crecimiento de microorganismos y en especial de *Cronobacter* spp. El nivel educativo de las personas que procesan las fórmulas en este hospital es bajo. El personal no se encontraba capacitado y desconocían los peligros de procesar fórmulas infantiles en polvo.

En el Hospital II, las condiciones donde se procesan las fórmulas infantiles en polvo eran mejores en cuanto a infraestructura, en comparación al Hospital I. Pero aun así los procedimientos no garantizaban que las fórmulas rehidratadas sean inocuas, debido al pobre conocimiento para reconstituir fórmulas y a que el personal no reconocía los peligros de procesar estas fórmulas. No se encontraron flujos de procesos y registros para la reconstitución de fórmulas infantiles en polvo.

Considerando los resultados de las evaluaciones, es claro que existe peligro potencial de contaminación en las fórmulas infantiles, debido al carente conocimiento sobre el procesamiento de las fórmulas, débil infraestructura para procesar y al mal manejo de las temperaturas que no contribuyen a la reducción y eliminación de *Cronobacter* spp. Es de importancia mencionar que, para el proceso de reconstitución de fórmulas infantiles, se deben realizar según las directrices establecidas por la OMS y FAO. Hay que resaltar que es necesario reconstituir las fórmulas con agua a temperaturas mayores a 70 °C para asegurar un producto inocuo, porque las bacterias proliferan entre temperaturas de 22 – 37 °C y se ha demostrado que la resistencia térmica de *Cronobacter* spp. puede ser hasta 52 °C (Moreno *et al.* 2005; OMS y FAO 2007; Vargas *et al.* 2008; Arku 2011; Saéz *et al.* 2012; Martínez y Luigui 2012; Flores 2014).

Cuadro 2. Resultados de la evaluación del Servicio de Fórmulas Infantiles del Hospital I.

Etapa	Evaluación	Resultado*	(%)
Inicio	Organización general del Servicio de Fórmulas Infantiles.	1/11	9/100
1 - 2	Almacenaje de fórmulas infantiles y agua para la reconstitución.	5/38	13/100
3 - 4	Limpieza, desinfección y esterilización de materiales y equipos del servicio.	3/15	20/100
5	Proceso de reconstitución de las fórmulas infantiles en polvo.	1/11	9/100
6 - 8	Etiquetado, relleno y transporte de las fórmulas reconstituidas.	6/8	75/100
Final	Evaluación de la vigilancia del procesamiento de las fórmulas.	2/8	25/100
Total		18/91	20/100

*El número adelante es la puntuación obtenida, sobre el total de puntos de la etapa evaluada. Cada unidad significa la aprobación de un ítem de evaluación.

Cuadro 3. Resultados de la evaluación del Servicio de Fórmulas Infantiles del Hospital II.

Etapa	Evaluación	Resultado*	(%)
Inicio	Organización general del Servicio de Fórmulas Infantiles.	7/11	64/100
1 - 2	Almacenaje de fórmulas infantiles y agua para la reconstitución.	14/38	37/100
3 - 4	Limpieza, desinfección y esterilización de materiales y equipos del servicio.	6/15	40/100
5	Proceso de reconstitución de las fórmulas infantiles en polvo.	5/11	45/100
6 - 8	Etiquetado, relleno y transporte de las fórmulas reconstituidas.	7/8	88/100
Final	Evaluación de la vigilancia del procesamiento de las fórmulas.	5/8	63/100
Total		44/91	48/100

*El número adelante es la puntuación obtenida, sobre el total de puntos de la etapa evaluada. Cada unidad significa la aprobación de un ítem de evaluación.

Como resultado del estudio se presentó una guía de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo para hospitales, esta guía es un manual que contempla procedimientos requeridos por la FAO y las OMS, para procesar fórmulas infantiles (FAO y OMS 2007). En el Cuadro

4, se pueden observar los capítulos por los que está compuesto este manual para los hospitales.

Cuadro 4. Capítulos del manual de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo para hospitales.

Capítulos	Actividades
1	Establecimiento de registros de organización y estandarización de procedimientos.
2	Almacenamiento de fórmulas infantiles en polvo y agua para reconstitución.
3	Limpieza, desinfección y esterilización de materiales y equipos del servicio de fórmulas infantiles.
4	Procedimiento de reconstitución de fórmulas infantiles en polvo

4. CONCLUSIONES

- Existe exposición a *Cronobacter* spp. en los principales hospitales públicos de Honduras, debido a la presencia de este microorganismo en fórmulas contaminadas.
- Los hospitales evaluados necesitan implementar mejoras en organización, registros, capacitación y manuales para procesar fórmulas infantiles en polvo, basados en las recomendaciones de la OMS y FAO.
- Las mejoras que necesitan hacer los hospitales están detalladas en el Manual de Procesamiento de FIP para Hospitales, para evitar contaminación e infección en pacientes.

5. RECOMENDACIONES

- Este primer reporte sobre *Cronobacter* spp. en Honduras es un estudio preliminar, se recomienda realizar mayor investigación en el país por parte de instituciones públicas y privadas.
- No se puede asociar a una misma fuente de contaminación la presencia de *Cronobacter* spp., debido a que las muestras positivas pertenecían a producto que estaba en uso además, ambas pertenecían a diferentes marcas y países, sería necesario realizar un análisis de ADN para ello, es necesario implementar el equipo RIBOPRINTER® en Honduras.
- Es necesario implementar las directrices de la FAO y la OMS sobre manipulación de fórmulas infantiles en polvo en los hospitales y la aplicación de políticas estrictas a empresas que comercializan fórmulas en Honduras.

6. LITERATURA CITADA

ACSA BRIEF (Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria) 2013. *Cronobacter spp.* Salud y seguridad alimentaria. Agencia de Salud Pública de Catalunya. SSN: 2013-3308. Dep. legal: B. 24469-2012. 3 p.

Agodi A, Barchitta M, Quattrocchi A, Maugeri A, Aldisio E, Marchese A, Mattaliano A, Tsakris A. 2015. Antibiotic trends of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* resistance indicators in an intensive care unit of Southern Italy, 2008 –2013. Published online 2015 Nov 3.

Aguilar-Barojas S. 2005. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. Secretaría de Salud del Estado de Tabasco. Villahermosa, México. Salud en Tabasco, vol. 11, núm. 1-2, enero-agosto, 2005, pp. 333-338.

Arku B, Fanning S, Jordan K. 2011. Heat adaptation and survival of *Cronobacter spp.* (formerly *Enterobacter sakazakii*). Foodborne Pathog Dis. 2011 Sep; 8(9): 975-81.

Asato V., E. Vilches, M. Pineda, E. Cananueva, A. Cane, M. Moroni, S. Brengi y Pichel M. 2013. First clinical isolates of *Cronobacter spp.* (*Enterobacter sakazakii*) in Argentina: Characterization and subtyping by pulsed-field gel electrophoresis. Rev Argent Microbiol. 2013 Jul-Sep; 45(3): 160-4.

Castro J, Gómez C, Vargas E. 2013. *Cronobacter sakazakii*. Centro de Investigaciones Químicas. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro Universitario, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5. Mineral de la Reforma, Hgo., C.P. 42183. México. 46 p.

Carvajal D. y Paredes M. 2013. Estudio de la Presencia de *Enterobacter Sakazakii* en Fórmulas Infantiles en Polvo Proporcionadas a Pacientes Lactantes de un Hospital Público de la Ciudad de Guayaquil. Escuela Superior Politécnica Del Litoral. 172 p.

Codex Alimentarius. 2008. Código de prácticas de higiene para los preparados en polvo para lactantes y niños pequeños. CAC/RCP 66 – 2008. 30 p.

Comisión Europea 2010. Reglamento (CE) n° 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Rectificado. Reglamento (UE) n° 65/2010 de la Comisión de 28 de abril de 2010. La Comisión de las Comunidades Europeas. DO L 115 de 29.4.2008, p. 48 (2073/2005).

Elika 2013. *Cronobacter*. Fundación Vasca para la seguridad agroalimentaria. Arcaute, Álava. España. 3 p. [Consultado 2016 nov 31]. http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento88/Copia%20de%2010.Cronobacter.pdf

Farmer J, Asbury M, Hickman F, Brenner D. 1980. *Enterobacter sakazakii*: A new species of “*Enterobacteriaceae*” isolated from clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol*. 1980; 30:569–84.

FDA (Food and Drug Administration) 2002. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*: Chapter 29: *Cronobacter*. Page Last Updated: 08/11/2015.

FDA (Food and Drug Administration) 2012. *BAM: Cronobacter*. *Bacteriological Analytical Manual*. Chapter 29. *Cronobacter*. U.S. Page Last Updated: 03/17/2016.

Flores J, Medrano A, Silva J, Fernández - Escartín E. 2011. Two Cases of Hemorrhagic Diarrhea Caused by *Cronobacter sakazakii* in Hospitalized Nursing Infants Associated with the Consumption of Powdered Infant Formula. *J Food Prot*. 2011 Dec;74 (12): 2177-81.

Flores D. 2014. Identificación de *Enterobacter sakazakii* y *Salmonella enterica* en preparados en polvo para lactantes suministrados en el Hospital de Maternidad Dr. Raúl Argüello Escolán de la red de salud pública de San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador. El Salvador. 99 pg.

FUNCEI (Fundación Centro de Estudios Infectológicos). 2011. *Cronobacter sakazakii* en Fórmulas Lácteas Infantiles. Argentina. 288 p.

Healy B, Cooney S, O' Brien S, Iversen C, Whyte P, Nally J, Callanan J, Fanning S. 2010. *Cronobacter (Enterobacter sakazakii)*: An opportunistic foodborne pathogen. *Foodborne Pathog Dis*. 2010 Apr; 7(4): 339-50.

ISO (International Organization for Standardization) 2006. Milk and milk products-detection of *Enterobacter sakazakii*. *ISO/TS 22964:2006 (IDF/RM 210: 2006)*. 90.92 (2013-07-19). 13 p.

Iversen C, Lehner A, Mullane N, Bidlas E, Cleenwerck I, Marugg J, Stephan R, Joosten H. 2007. La taxonomía de *Enterobacter sakazakii*: propuesta de un nuevo género *Cronobacter gen. nov.* y descripciones de *Cronobacter sakazakii* *peine. nov.*, *Cronobacter sakazakii* *subsp. sakazakii, comb. nov.*, *Cronobacter sakazakii* *subsp. malonaticus* *subsp. nov.*, *Cronobacter turicensis* *sp. nov.*, *Cronobacter muytjensii* *sp. nov.*, *Cronobacter dublinensis* *sp. nov.* y *Cronobacter genomospecies*. *BMC Evolutionary Biology*, 2007; 7: 64-64.

Iversen C, Mullane N, McCardell B, Tall B, Lehner A, Fanning S, Stephan R, Joosten H. 2008. *Cronobacter gen. nov.*, a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii gen. nov., comb. nov.*, *Cronobacter malonaticus sp. nov.*, *Cronobacter turicensis sp. nov.*, *Cronobacter muytjensii sp. nov.*,

Cronobacter dublinensis sp. nov., *Cronobacter genomospecies* 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2008 Jun; 58(Pt 6): 1442-7.

Joseph S, Cetinkaya E, Drahovska H, Levican A, Figueras J, Forsythe J. 2012. *Cronobacter condimenti* sp. nov., isolated from spiced meat, and *Cronobacter universalis* sp. nov., a species designation for *Cronobacter* sp. genomospecies 1, recovered from a leg infection, water and food ingredients. Int J Syst Evol Microbiol. 2012 Jun; 62 (Pt 6): 1277-83.

Leyva V, Ruiz H, Machín M, Tejedor R, Martino T, Ferrer Y. 2008. Primer estudio de *Enterobacter sakazakii* en alimentos en Cuba. La Habana, Cuba. Rev Cubana Salud Pública v.34 n.4 Ciudad de La Habana oct.-dic. 2008

Lopardo H, Predari S, Vay C. 2016. Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: enterobacterias. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2016. ISBN 978-987-26716-8-6. 429 p.

Martínez A. y Luigi T. 2012. Evaluación de algunos factores que afectan el desarrollo de *Cronobacter Sakazakii* en fórmulas lácteas infantiles. Universidad Central de Venezuela Facultad de Ciencias Postgrado en Ciencia y Tecnología De Alimentos. 59 p.

Moreno J, Galiano M, Dalma J. 2005. Preparación y manejo de las fórmulas infantiles en polvo. Reflexiones en torno a las recomendaciones del comité de nutrición de la ESPGHAN. Valencia. España. Acta Pediatr Esp. 2005; 63: 279-282.

OMS y FAO (Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2004. *Enterobacter sakazakii* y otros microorganismos en los preparados en polvo para lactantes: Informe de la reunión. Microbiological Risk Assessment Series 6. FAO/OMS (2004). 86 pg.

OMS y FAO (Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2007. Preparación, almacenamiento y manipulación en condiciones higiénicas de preparaciones en polvo para lactantes. Directrices. ISBN: 978 92 4 259541 2. 32 p.

OMS y FAO (Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2008. *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered follow-up formula. MEETING REPORT. Microbiological Risk Assessment Series 15- FAO/WHO (2008). 105 p.

OXOID (ThermoFisher) 2010. *Cronobacter* species. School of Science and Technology, Nottingham Trent University Nottingham, U. Volume 31 No 1 March 2010 ISSN 0 9 6 5 - 0 9 8 9.

Parra J. 2011. Evaluación de Riesgos Microbianos en los alimentos preparados en un Hospital Materno Infantil. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. 192 p.

Petrola M. 2012. Evaluación de algunos factores que afectan el desarrollo de *Cronobacter sakazakii* en Fórmulas Lácteas Infantiles. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Santisteban Y, Carmina Y, Pérez Y, Díaz L, García S, Kobayashi N, Quiñones D. 2014. Infecciones por los géneros *Klebsiella* y *Acinetobacter* en hospitales pediátricos cubanos y resistencia antibiótica. Ciudad de la Habana. Sep.-dic. 2014. Rev Cubana Med Trop vol.66 no.3

Sáez M. Llanos S. Tamayo R. 2012. Primer aislamiento de *Cronobacter spp* (*Enterobacter sakazakii*) en fórmula láctea en polvo producida en Chile. Salud Pública. República de Chile. Rev Chil Salud Pública 2012; Vol 16 (1): 11-15

Sigüenza T. 2014. Brotes causados por *Cronobacter sakazakii*. Facultad de Medicina y ciencias de la salud. Universidad De Valladolid. Ciudad de Valladolid. España. 27 p.

Urmenyi A, Flanklin A. 1961. Neonatal death from pigmented coliform infection. The city hospital, St. Albans, Herts, United Kingdom. Lancet. 1961 Feb 11; 1(7172): 313-5.

Vanegas M, Rugeles L, Martinez A. 2009. Isolation and identification of *Enterobacter sakazakii* in milk feeders of Bogotá, D. C. Laboratorio de Ecología Microbiana de Alimentos, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia. vol.13, n.1, pp.36-42.

Vargas-Leguás H, Rodríguez V, Lorite R, Perez-Portabella C, Redecillas S, Campins M. 2008. Guía para la elaboración de fórmulas infantiles en polvo en el medio hospitalario. Sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico. Universitat Autònoma de Barcelona. Anales de Pediatría. Volume 70, Issue 6, June 2009, Pages 586–593

7. ANEXO

Anexo 1. Guía de procesamiento de fórmulas infantiles en polvo para hospitales.

Guía para procesamiento de Fórmulas Infantiles en Polvo para Hospitales

Autor: Jorge Echevarria

Revisado: Mayra Márquez Ph.D.

Financiado por:



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE
Americas

INTRODUCCIÓN

Cronobacter spp es un género de microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (Iversen *et al.* 2008). La mayoría de especies de este género son patógenas oportunistas causantes de infecciones, exceptuando *Cronobacter condimenti*. (Iversen *et al.* 2008; Healy *et al.* 2010; Joseph *et al.* 2012).

Cronobacter spp. en su mayoría es responsable de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) y los mayores casos están asociados a *Cronobacter sakazakii* y *Cronobacter malonaticus* (Sigüenza 2014; Asato *et al.* 2013). El género *Cronobacter* spp. es de tipo Gram negativo, móvil, no formadora de esporas, anaerobias facultativas, termotolerantes y ubicuas (OMS y FAO 2004, 2008; Elika 2013). Tienen capacidad de formar biopelículas, son resistentes a la desecación y al estrés osmótico, favoreciendo su existencia en ambientes secos.

En estudios realizados se ha desconocido el reservorio de *Cronobacter* spp. pero se ha logrado aislar en diversos ambientes donde se produce leche en polvo, además en plantas donde se procesan otros alimentos y en hogares (ACSA BRIEF 2013). Este género de bacterias puede sobrevivir hasta dos años en actividad agua de 0.14 - 0.27, característica que le permiten estar presente en alimentos deshidratados. El pH óptimo de crecimiento es de 5 – 9, con un rango de sobrevivencia de 3 – 10. El tiempo de generación para duplicar la población de *Cronobacter* spp. es de 300 minutos a 10 °C, el tiempo se reduce a 40 minutos a una temperatura de 23 °C y a 20 minutos a 37 °C, es por eso que se puede multiplicar en almacenamiento y procesamiento (Elika 2013; ACSA BRIEF 2013; OXOID 2010).

Los casos más graves y severos por infección de *Cronobacter* spp. Están asociados al consumo de fórmulas infantiles en polvo. Fórmulas que no son esterilizadas y pueden estar contaminadas. En la actualidad se han presentado casos en todo el mundo causando morbilidad y mortalidad infantil (OMS y FAO 2008; FUNCEI 2011). La infección por *Cronobacter* spp. produce enfermedades como sepsis, meningitis, cerebritis, absceso cerebral y enterocolitis necrotizante. Este microorganismo es causante de secuelas graves y hasta la muerte (OMS y FAO 2004, 2008). *Cronobacter* spp. causa enfermedad en todos los grupos de edad. Se llegó a aislar en adultos y ancianos inmunodeprimidos causando fiebre y convulsiones (Lopardo *et al.* 2016). El grupo de edad más afectado son los menores de dos meses. Los que tienen mayor riesgo son los recién nacidos, los prematuros y los inmunológicamente deprimidos, especialmente los hijos de madres VIH positivo (Codex Alimentarius 2008; OMS y FAO 2004, 2008). Este grupo tiene mayor riesgo al asociarse a su alimentación fórmulas contaminadas con *Cronobacter* spp. porque el estómago de los recién nacidos y en especial de los prematuros es menos ácida en comparación con una persona adulta, esto contribuye a la sobrevivencia del *Cronobacter* spp. en esta población.

La infección no suele ser frecuente, pero la mortalidad que produce es alta entre el 40 y 80% (Sáez *et al.* 2012; Castro *et al.* 2013). La dosis infectiva no se ha estimado, pero podría ser una dosis baja semejante a *Escherichia coli* de 10 - 100 UFC (Unidades Formadoras de Colonias). *Cronobacter* spp. se transmite a los alimentos por malas prácticas de manufactura en el proceso de fabricación, por agregar ingredientes contaminados después

de la pasteurización, por contaminación directa en el equipo, además por personas que manipulan el alimento y son portadoras (Elika 2013). El *Cronobacter* spp. tiene mayor frecuencia en las plantas procesadoras en comparación con *Salmonella*, por sus características de vida (OMS y FAO 2004, 2008). La baja contaminación con *Cronobacter* spp. es de gran importancia por su resistencia dentro de las FIP, por su rápida multiplicación al momento de la rehidratación de FIP.

Está demostrado que niveles altos de contaminación y fallos en las BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) no son los únicos factores determinantes para la aparición del *Cronobacter* spp. porque su presencia se ha determinado hasta en fórmulas infantiles en polvo que cumplieran con los requisitos del Codex para el recuento de coliformes (< 3 UFC/g). Se asocia que los fallos en la higiene al momento de la rehidratación en los hospitales u hogares, y la exposición a temperaturas de no refrigeración (> 5 °C) aumentan la posibilidad de la infección en el momento del consumo de las fórmulas infantiles. También no se descarta el equipo que se usa en la preparación de fórmulas, que se ha visto asociado a contaminación causando brotes (OMS y FAO 2004, 2008; Codex Alimentarius 2008).

El *Cronobacter* spp. es considerado por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (CIEM) como peligro severo y desde el 2004 la FAO conjuntamente con la OMS la han considerado como microorganismo de tipo A, que lo define como peligro grave para la salud (OMS y FAO 2004, 2008). En países donde los niveles de salud son superiores al latinoamericano, se han presentado hasta 156 casos de infección y 29 casos de muerte, asociados al consumo de fórmulas infantiles en polvo contaminadas, entre los años 1961 y 2008. Es necesario determinar la presencia de *Cronobacter* spp. en países donde se consumen fórmulas infantiles en polvo y donde además no existen registros de este microorganismo. En Honduras no existe información sobre *Cronobacter* spp. es necesario realizar un estudio para determinar la presencia de este microorganismo patógeno.

FÓRMULAS INFANTILES EN POLVO (FIP)

Las Fórmulas Infantiles en Polvo son sucedáneos de la leche materna, cuando los lactantes no pueden acceder a ella. Estos se preparan según las normas del Codex, existen sucedáneos para lactantes de menos de seis meses. También están los sustitutos que tienen fines médicos que son utilizados en pacientes enfermos y los que son para mayores de seis meses sanos, que tienen alimentación complementaria y se quiere sustituir la leche materna. Para los preparados con fines médicos es necesaria la adición de otros nutrientes para contribuir a la nutrición especial del paciente (OMS y FAO 2004, 2008).

Existen diversas formas de manufacturar FIP. En la **Figura 1** se presentan los posibles puntos donde se produciría la contaminación del producto con *Cronobacter sakazakii*. Los procesos de fabricación pueden ser de tres tipos. Proceso húmedo, todos los ingredientes están en estado líquido y expuestos a tratamiento térmico. Proceso seco, los ingredientes son procesados por separado, luego se brinda tratamiento térmico, se deshidratan y se realiza la mezcla. Proceso combinado, se prepara un polvo con proceso húmedo que luego sirve de base para mezclar los demás ingredientes secos (OMS y FAO 2004, 2008).

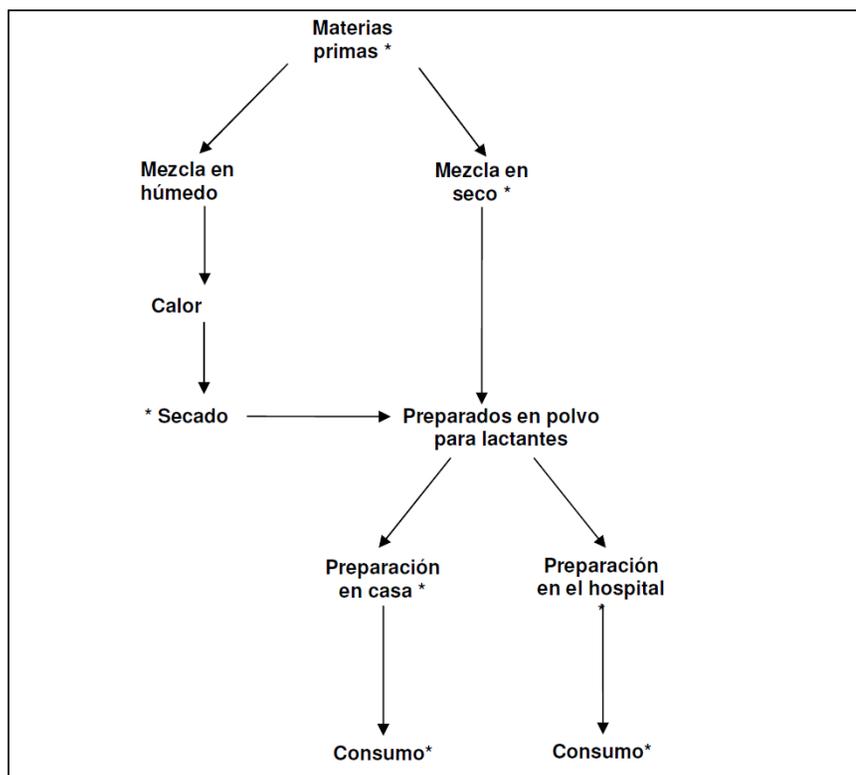


Figura 1. Diagrama de producción y el uso de los preparados en polvo para lactantes. La fase de calor durante la mezcla en húmedo supone elimina con eficacia las *Enterobacteriaceas*.

*=Posibles puntos de contaminación ambiental.

Fuente: (OMS y FAO 2004, 2008).

La principal preocupación por la inocuidad en el proceso de manufactura es por la familia *Enterobacteriaceae*, con *Cronobacter sakazakii* y por *Salmonella*. La contaminación se puede dar cuando los ingredientes (leche, derivados de la leche, concentrados de proteína, carbohidratos, lípidos, minerales, vitaminas y aditivos) no son procesados con tratamiento térmico y en especial en procesos en seco o combinados. También la contaminación se puede presentar en la mezcla de los ingredientes, por el ambiente donde se procesa y esto incluye procesos en seco, húmedo o combinado. Los ingredientes en seco son productos que han pasado por tratamiento térmico que se contaminan con *Enterobacteriaceae* después de realizado el tratamiento térmico. Para determinar la inocuidad de estos productos se tiene que tener en cuenta el tipo de ingrediente (Cuadro 1), por ejemplo, el almidón tiene un riesgo más alto de tener enterobacterias en comparación con el aceite También depende de la rigurosidad del proveedor, los procesos que realiza y por último la comprobación de que estos productos cumplen con las exigencias del proceso de rigurosidad (OMS y FAO 2004, 2008).

Cuadro 1. Estudio de la industria para la detección de *Enterobacteriaceae* y *Cronobacter* spp. en los ingredientes utilizados en las operaciones de mezcla en seco para todos los tipos de preparados en polvo (hasta los tres años).

Ingredientes	n (10 g)	Positivos a coliformes o <i>Enterobacteriaceas</i>	Positivos <i>Cronobacter</i> spp.
Vitaminas	793	8	0
Leche desnatada en polvo	835	1	1
Suero en polvo desmineralizado	23	3	0
Sacarosa	1691	28	0
Lactosa	2219	70	2
Banana en polvo/copos	105	3	1
Naranja en polvo/copos	61	1	1
Lecitina	136	1	1
Almidón	1389	155	40

Fuente: (OMS y FAO 2004, 2008), nombre adaptado a *Cronobacter* spp.

En la elaboración, los ingredientes líquidos o secos son mezclados con agua. Luego se aplica el tratamiento térmico, puede ser pasteurización por 15 segundos a 71.6 °C, para productos espesantes o para almidón se usa 25 segundos por 74.4 °C o temperaturas de 105 °C a 125 °C por 5 segundos o menos. En este punto se puede evaporar, homogenizar o almacenar en refrigeración. Para el secado la mezcla líquida es calentada a 82 °C y luego es transportada por presión a atomizadores o boquillas pulverizadoras, donde pasa aire filtrado a temperaturas entre 135 °C y 204 °C y al salir 45 °C y 80 °C, donde la mezcla pasa a ser polvo con una actividad agua menor al 0.3, luego cae al fondo del secador, se enfría rápidamente debajo de 38 °C y se tamiza para luego ser almacenada o empacada (OMS y FAO 2004, 2008).

Otra forma de elaboración de FIP es secar una base de mezcla húmeda de ingrediente como carbohidratos, lípidos y proteínas, después del secado se añade los demás ingredientes como vitaminas, minerales y otros. La otra opción es realizar una mezcla en seco de todos los ingredientes, este es más ahorrativo, pero requiere de mejores estándares para asegurar que

los insumos cumplen con los requerimientos de inocuidad, para que el producto final sea el correcto y es necesario la aplicación de HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) en todo el proceso, desde los proveedores hasta llegar al producto final, donde es almacenado o empaçado.

El producto es empaçado con gas inerte, sellado, etiquetado y embalado. Se realiza pruebas de uniformidad, calidad e inocuidad. El sistema HACCP, las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), las Buenas Prácticas de Higiene (BPH), permitirían el control de *Cronobacter*. Especialmente en la aplicación de temperatura, pero este procesamiento es requerido por su importancia tecnológica, que por razones de inocuidad. Por tal razón no se cumple con un proceso de esterilización. Sin este procedimiento la osmotolerancia del microorganismo le permite aumentar la posibilidad de sobrevivencia hasta más de 600 días después de la fabricación de las FIP (Figura 2) (OMS y FAO 2004, 2008).

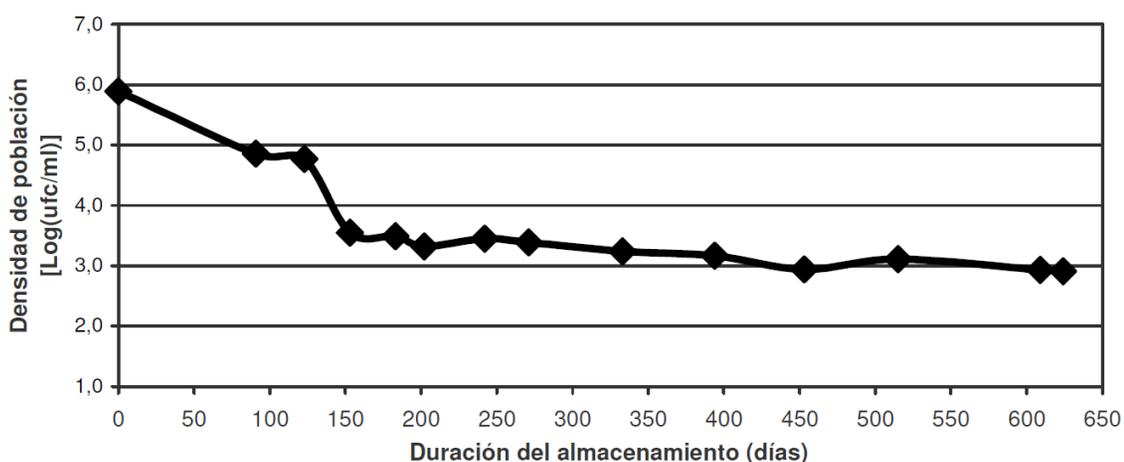


Figura 2. Supervivencia a largo plazo del *Cronobacter* spp. en los preparados en polvo para lactantes.

Fuente: (OMS y FAO 2004, 2008).

El tratamiento térmico puede ser capaz de eliminar el *Cronobacter* spp. en el proceso de la reconstitución, con temperaturas mayores o iguales a 70 °C (Cuadro 2). Debido a que el microorganismo crece entre los 5 y 48 °C, las fórmulas no deberían de ser reconstituidas a estas temperaturas, representa riesgo de multiplicación del microorganismo (Figura 3).

Cuadro 2. Tiempo de reducción decimal (valor-D) ^a y valor Z ^b para *Cronobacter* spp. en los preparados en polvo para lactantes.

Valor D (min.)									Valor z (°C)	Referencia
52 °C	53 °C	54 °C	56 °C	58 °C	60 °C	62 °C	65 °C	70 °C		
(Temperaturas a las que se determinaron los valores D)										
54,8 ±4,7		23,7 ±2,5	10,3 ±0,7	4,2 ±0,6	2,5 ±2				5,8	Nazarowec-White y Farber, 1997a ^c
	8,3 20,2	6,4, 7,1	1,1, 2,4	0,27 0,34, 0,4, 0,48 0,50					3,1 3,6	Breeuwer et al., 2003 ^d
			21,1 ±2,7	9,9 ±0,8	4,4 ±0,4		0,6 ±0,3	0,07	5,6	Breeuwer et al., 2003 Edelson-Mammel y Buchanan, 2004 ^e
		16,4 ±0,67	5,1 ±0,27	2,6 ±0,48	1,1 ±0,11	0,3 ±0,12			5,8 ±0,40	Iversen, Druggan y Forsythe, 2004 ^f
		11,7 ±5,80	3,9 ±0,06	3,8 ±1,95	1,8 ±0,82	0,2 ±0,11			5,7 ±0,12	Iversen, Druggan y Forsythe, 2004 ^g

^a El valor D es el tiempo necesario para reducir a la décima parte el número viable de microorganismos a una temperatura determinada.

^b El valor Z es el cambio de temperatura necesario para modificar el valor D en un factor de 10.

^c Valores D de una combinación de 10 cepas (cinco aislamientos clínicos y cinco alimentarios) de *Cronobacter* spp.

^d Estos valores D para cuatro cepas diferentes de *Cronobacter* spp. se determinaron en un tampón fosfato. Los autores informan de que el tratamiento térmico de los preparados en polvo para lactantes reconstituidos no influyeron en el valor D.

^e El valor D para la cepa 607 de *Cronobacter* spp. la describía como la más resistente al calor de las examinadas en el estudio.

^f Datos para el prototipo de cepa de *Cronobacter* spp.

^g Datos para la cepa de *Cronobacter* spp. encapsulada.

Fuente: (OMS y FAO 2004, 2008), nombre adaptado a *Cronobacter* spp.

Luego de la preparación se tiene que consumir el producto a una temperatura adecuada para el paciente (prueba de la mejilla), si el preparado se almacena es necesario refrigeración inmediata (temperatura no mayor de 5 °C). En los centros de salud es necesario que se cuente con agua estéril, condiciones asépticas, disposición de refrigeración y un ambiente con temperatura controlada. Cuando se administre el producto es necesario controlar el tiempo de consumo (menor a 2 horas, después de reconstituida la fórmula), en pacientes que pueden deglutir y en pacientes que usan sonda para la alimentación. En el caso de sondas es necesario mantener la limpieza con agua estéril o controlar los residuos para evitar la formación de biopelículas. Es necesario informar a las personas que usan FIP que el producto no es estéril y que podrían estar contaminados con patógenos, para ello es

necesario brindar información para la manipulación y almacenamiento del producto (OMS y FAO 2004, 2007, 2008).

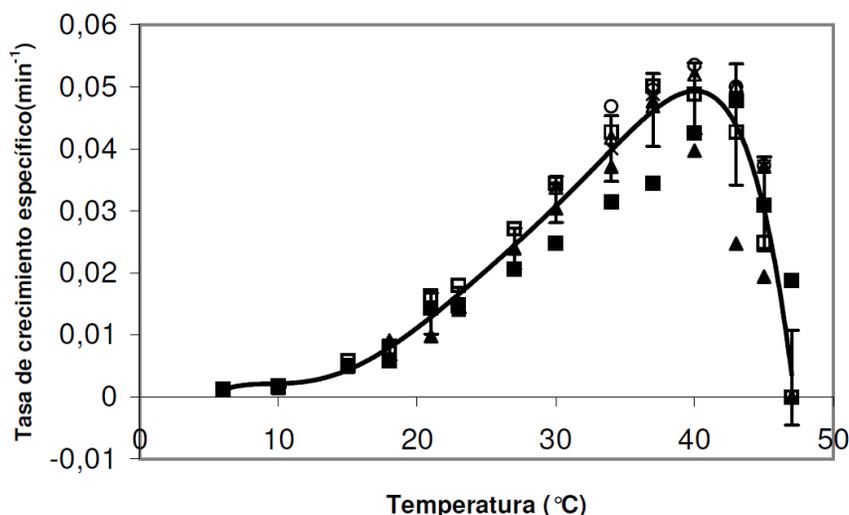


Figura 3. Tasa de crecimiento de *Cronobacter* spp. (n = 27) en preparados en polvo para lactantes reconstituidos en función a la temperatura (Iversen, Lane y Forsythe, 2004; Zwietering (comunicación personal, 2004).

Fuente: (OMS y FAO 2004, 2008), nombre adaptado a *Cronobacter* spp.

Para el etiquetado de las FIP es necesario que se cumpla con las normas del Codex para brindar informar, asesorar y advertir a los usuarios. Para las FIP reconstituidas con fines médicos es necesario agregar información, qué hace especial al producto, cuáles son las indicaciones, para que enfermedad está indicada, interacciones con medicamentos y usar advertencias de que no es para consumo de personas sanas y que debe estar bajo supervisión de un médico (OMS y FAO 2004, 2008).

AGUA PARA RECONSTITUCIÓN DE FIP

Para la reconstitución de fórmulas infantiles se recomienda el uso de agua estéril embotellada. Por la potencial contaminación con microorganismos patógenos. Se deben almacenar bajo los mismos parámetros para las fórmulas infantiles a temperaturas menores a 20 °C en un ambiente limpio y seco. El límite crítico de la temperatura máxima aceptable de almacenamiento es de 22 °C (+2°C). La humedad relativa tiene que tener un máximo de 70% (Vargas *et al.* 2008).

RECONSTITUCIÓN DE FÓRMULAS INFANTILES EN POLVO (FIP)

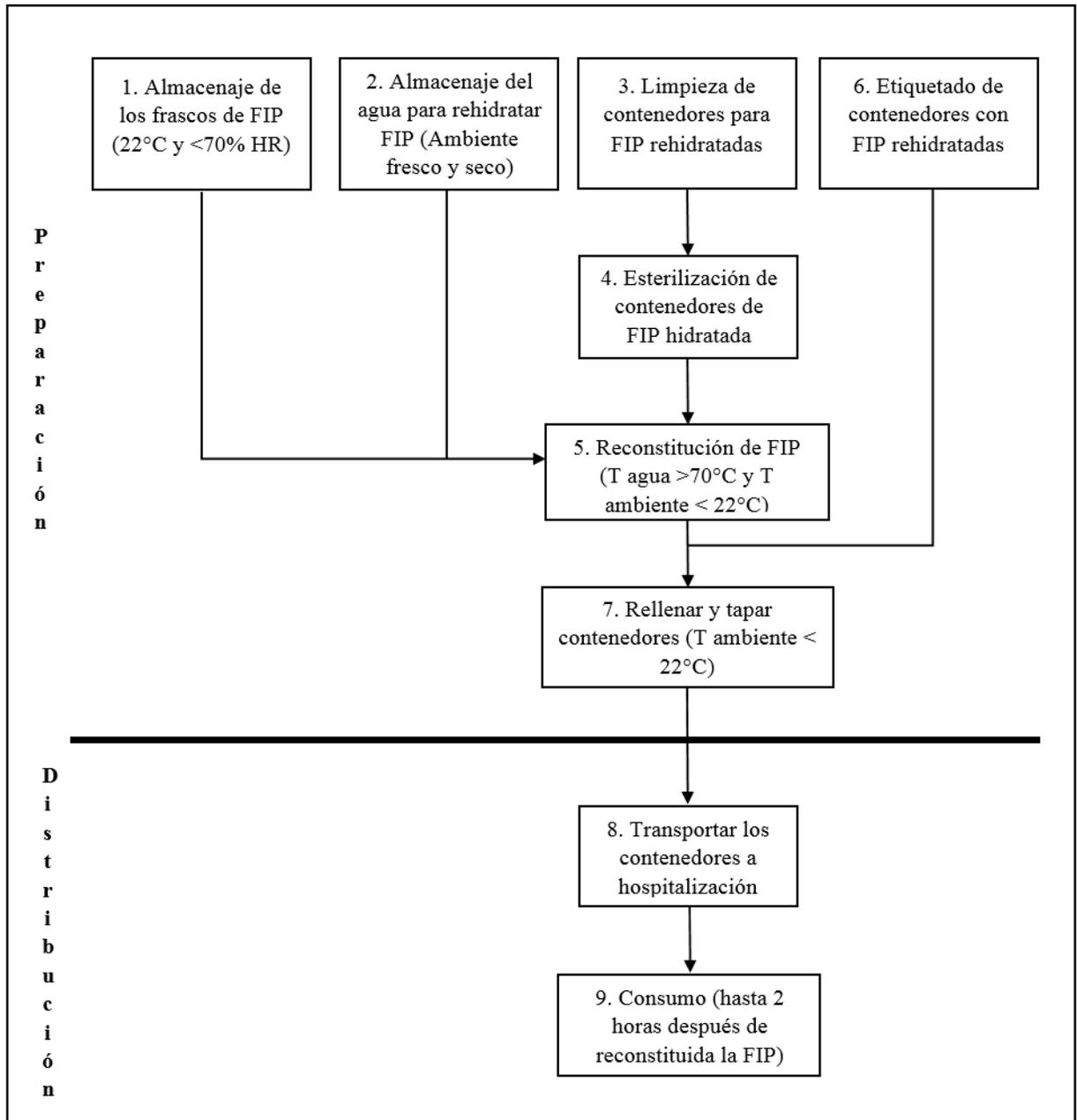


Figura 4. Flujo de proceso de reconstitución de Fórmulas Infantiles en Polvo (FIP) para Hospitales.

Fuente: Vargas *et al.* 2008. Adaptado al autor.

GUÍA PARA PROCESAMIENTO DE FÓRMULAS INFANTILES EN POLVO PARA HOSPITALES	
CAPÍTULO 1	Establecimiento de registros
Objetivo: Establecer registros para el procesamiento de fórmulas infantiles en polvo.	
Alcance: Personal de salud o personal capacitado, que reconoce los riesgos asociados a la contaminación de FIP.	
Responsables: Jefe del Servicio, personal de turno y personal de almacenamiento.	
1.1 Registro de recepción de FIP y agua.	<p>Desarrollar un formato de registro para el producto ingresado:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fecha de ingreso. • Cantidad, marca, nombre del producto, fecha de producción, fecha de vencimiento, lote, presentación, estado del envase. • Fecha de salida. <p>Se puede usar o adecuar el Anexo 1.</p>
1.2 Registro de análisis microbiológico de FIP y agua.	<p>Desarrollar un formato de registro de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Parámetros microbiológicos de las fórmulas ingresadas. • Parámetros microbiológicos del agua ingresada. <p>Se puede usar o adecuar el Anexo 2. *Se recomienda hacer seguimiento al proveedor de fórmulas y agua, para que remita un certificado de inocuidad por parte de la empresa.</p>
1.3 Registro de condiciones de almacenamiento de FIP	<p>Establecer un formato de registro donde se detalle:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nombre y firma del responsable de turno. • Fecha y hora de la toma del dato. • Temperatura de almacenamiento (<22 °C). • Humedad relativa de almacenamiento (<70%). <p>Se puede usar o adecuar el Anexo 3.</p>
1.4 Registro condiciones de procesamiento de las FIP.	<p>Establecer un formato de registro donde se detalle:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nombre y firma del responsable de turno. • Fecha y hora de la toma del dato. • Temperatura ambiental (<22 °C). • Temperatura del agua para la reconstitución (70 °C). <p>Se puede usar o adecuar el Anexo 4.</p>
1.5 Registro de uso de fórmulas.	<p>Se debe establecer un formato de registro donde:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se especifique la hora y fecha de cuando fue abierta la FIP. • Debe contener la información del responsable y la firma. • La FIP debe ser identificada con el lote, marca y se tiene que verificar fecha de vencimiento. <p>Se puede usar o adecuar el Anexo 5.</p>
1.6 Registro de esterilización de biberones.	<p>Establecer un formato de registro para el proceso de esterilización:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cantidad de biberones a esterilizar. • Temperatura y tiempo de esterilización. • Nombre y firma del responsable. • Hora y fecha. <p>Se puede usar o adecuar el Anexo 6.</p>

GUÍA PARA PROCESAMIENTO DE FÓRMULAS INFANTILES EN POLVO PARA HOSPITALES	
CAPÍTULO 2	Monitoreo del procesamiento
Objetivo: Reducir el riesgo de proliferación de microorganismos en las FIP y el agua.	
Alcance: Personal capacitado que reconoce los riesgos asociados a la contaminación de FIP.	
Responsables: Personal responsable de almacenamiento y responsable de la reconstitución.	
2.1 Información de la recepción de FIP y agua.	Registrar la información cada vez que ingrese producto al hospital. Se puede usar o adecuar el Anexo 1 .
2.2 Resultados microbiológicos de FIP y agua.	Registrar la información cada vez que ingrese producto al hospital. Se puede usar o adecuar el Anexo 2 .
2.3 Condiciones de almacenamiento de FIP y agua.	Monitorear dos veces al día las condiciones de almacenamiento. Se puede usar o adecuar el Anexo 3 .
2.4 Temperatura ambiental y temperatura de procesamiento.	Monitorear cada vez que se inicie a procesar fórmulas. Se puede usar o adecuar el Anexo 4 .
2.5 Uso de fórmulas.	Registrar cada vez que una nueva fórmula es abierta. Descartar las fórmulas que cumplan un mes de abiertas. Se puede usar o adecuar el Anexo 5 .
2.6 Monitoreo de esterilización de biberones.	Registrar cada vez que se esterilice contenedores. Se puede usar o adecuar el Anexo 6 .

GUÍA PARA PROCESAMIENTO DE FÓRMULAS INFANTILES EN POLVO PARA HOSPITALES

CAPÍTULO 3

Limpieza, desinfección y esterilización de contenedores (biberones), superficies, paredes y pisos del servicio

Objetivo: Eliminar o disminuir peligros biológicos en los contenedores de las FIP reconstituidas, equipos, superficies, pisos y paredes del Servicio de Fórmulas Infantiles.

Alcance: Personal de salud o personal capacitado, que reconoce los riesgos asociados a la contaminación de FIP y que labora en el Servicio de Fórmulas Infantiles.

Responsables: Personal de turno del Servicio de Fórmulas Infantiles.

3.1. Limpieza y desinfección del almacén.	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar limpieza y desinfección mensual del almacén. • Limpiar pisos, paredes y techo. <p>*Se recomienda usar medidas para el control de plagas.</p>
3.2 Limpieza y desinfección de área de reconstitución.	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar limpieza y desinfección de paredes semanalmente. • Realizar limpieza y desinfección de pisos y superficies diariamente, antes de iniciar el turno y después de terminar el turno.
3.3 Lavado de contenedores (biberones).	<ul style="list-style-type: none"> • Lavar contenedores inmediatamente después de su reingreso al servicio. • Usar escobillas para evitar la formación de biopelículas.
3.4 Lavado de utensilios para reconstitución de las FIP	<ul style="list-style-type: none"> • Lavar utensilios después de usarlos. • Evitar usar los mismos utensilios para diferentes fórmulas, por el riesgo de contaminación.
3.5 Esterilización de contenedores (biberones).	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilizar contenedores (biberones) según las consideraciones del equipo que este a la disposición. • Registrar: Cantidad de contenedores (biberones) a esterilizar, temperatura de esterilización, tiempo de esterilización, hora, fecha, nombre y firma del responsable • Guardar contenedores (biberones) cerrados, en un lugar fresco, seco y desinfectado. <p>Se puede usar o adecuar el Anexo 6.</p>

GUÍA PARA PROCESAMIENTO DE FÓRMULAS INFANTILES EN POLVO PARA HOSPITALES	
CAPÍTULO 4	Procedimiento de reconstitución
Objetivo: Reconstituir FIP que cumplan con los parámetros de inocuidad	
Alcance: Personal de salud o personal capacitado, que reconoce los riesgos asociados a la contaminación de FIP y que labora en el Servicio de Fórmulas Infantiles.	
Responsables: Personal de turno del Servicio de Fórmulas Infantiles.	
4.1 Higiene del personal	
4.1.1 Aseo del personal.	<ul style="list-style-type: none"> • El personal debe de presentarse en perfectas condiciones de higiene al servicio. No debe presentar signos de enfermedad infecto contagiosa, ni heridas o abrasiones. • Uñas cortas. • No usar barba o bigotes. • No usar maquillaje. • El personal no debe portar joyería. • El cabello largo debe ser recogido.
4.1.2 Equipo de protección personal.	<ul style="list-style-type: none"> • Gabacha, redecilla para el cabello, guantes, mascarilla y zapatos cerrados. • El equipo de protección debe permanecer limpio y dentro del área de preparación de FIP. Deberá retirarse el equipo de protección al salir del área durante los descansos o realizar otras actividades fuera del área de preparación.
4.1.3. Lavado de manos	<ul style="list-style-type: none"> • Lavarse las manos con las indicaciones de la OMS (Anexo 7). • El lavado de manos deberá efectuarse antes de preparar las fórmulas infantiles, al regresar de los descansos, entre preparaciones de fórmulas. Se recomienda una frecuencia de al menos cada 30 min. • El lavado de manos debe realizarse también antes de colocarse guantes o reemplazar guantes dañados. Bajo ninguna circunstancia el uso de guantes debe sustituir el lavado de manos.

4.2 Reconstitución de FIP

- 1) Usar redecilla y gabacha.
- 2) Identificar el requerimiento del paciente según las indicaciones del médico.
- 3) Realizar el lavado de manos con los 10 pasos de la OMS y desinfectar.
- 4) Usar guantes y mascarilla.
- 5) Preparar materiales.
- 6) Desinfectar el frasco de FIP con una toalla desechable y alcohol.
- 7) Hervir el agua por 1 minuto a 100°C, enfriar hasta alcanzar 70 °C. Es necesario verificar la temperatura del agua con un termómetro y registrar. Se puede usar i adecuar el **Anexo 4**.
- 8) Medir la cantidad de agua a usar y verterlo en un contenedor estéril.
- 9) Abrir cuidadosamente el frasco del FIP y medir la cantidad necesaria según las indicaciones del médico y del fabricante.
- 10) Verter la cantidad requerida en el agua caliente.
- 11) Con una batidora estéril homogenizar el producto.
- 12) Distribuir la FIP reconstituida en los frascos y cerrar.
- 13) Etiquetar los contenedores con la información necesaria (Producto, fecha, hora, paciente, iniciales del responsable).
- 14) Entregar el producto, como un tiempo límite de dos horas después de reconstituida.

LITERATURA CITADA

ACSA BRIEF (Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria) 2013. *Cronobacter spp.* Salud y seguridad alimentaria. Agencia de Salud Pública de Catalunya. SSN: 2013-3308. Dep. legal: B. 24469-2012. 3 p.

Asato V., E. Vilches, M. Pineda, E. Cananueva, A. Cane, M. Moroni, S. Brengi y Pichel M. 2013. First clinical isolates of *Cronobacter spp.* (*Enterobacter sakazakii*) in Argentina: Characterization and subtyping by pulsed-field gel electrophoresis. Rev Argent Microbiol. 2013 Jul-Sep; 45(3): 160-4.

Castro J, Gómez C, Vargas E. 2013. *Cronobacter sakazakii*. Centro de Investigaciones Químicas. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro Universitario, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5. Mineral de la Reforma, Hgo., C.P. 42183. México. 46 p.

Codex Alimentarius. 2008. Código de prácticas de higiene para los preparados en polvo para lactantes y niños pequeños. CAC/RCP 66 – 2008. 30 p.

Elika 2013. *Cronobacter*. Fundación Vasca para la seguridad agroalimentaria. Arcaute, Álava. España. 3 p. [Consultado 2016 nov 31]. http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento88/Copia%20de%2010.Cronobacter.pdf

FUNCEI (Fundación Centro de Estudios Infectológicos). 2011. *Cronobacter sakazakii* en Fórmulas Lácteas Infantiles. Argentina. 288 p.

Healy B, Cooney S, O' Brien S, Iversen C, Whyte P, Nally J, Callanan J, Fanning S. 2010. *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*): An opportunistic foodborne pathogen. Foodborne Pathog Dis. 2010 Apr; 7(4): 339-50.

Iversen C, Lehner A, Mullane N, Bidlas E, Cleenwerck I, Marugg J, Stephan R, Joosten H. 2007. La taxonomía de *Enterobacter sakazakii*: propuesta de un nuevo género *Cronobacter gen. nov.* y descripciones de *Cronobacter sakazakii* *peine. nov.*, *Cronobacter sakazakii* *subsp. sakazakii, comb. nov.*, *Cronobacter sakazakii* *subsp. malonaticus subsp. nov.*, *Cronobacter turicensis sp. nov.*, *Cronobacter muytjensii sp. nov.*, *Cronobacter dublinensis sp. nov.* y *Cronobacter genomospecies*. BMC Evolutionary Biology, 2007; 7: 64-64.

Iversen C, Mullane N, McCardell B, Tall B, Lehner A, Fanning S, Stephan R, Joosten H. 2008. *Cronobacter gen. nov.*, a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii gen. nov., comb. nov.*, *Cronobacter malonaticus sp. nov.*, *Cronobacter turicensis sp. nov.*, *Cronobacter muytjensii sp. nov.*, *Cronobacter dublinensis sp. nov.*, *Cronobacter genomospecies 1*, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis subsp. dublinensis subsp. nov.*, *Cronobacter dublinensis subsp. lausannensis subsp. nov.* and *Cronobacter dublinensis subsp. lactaridi subsp. nov.* Int J Syst Evol Microbiol. 2008 Jun; 58(Pt 6): 1442-7.

Joseph S, Cetinkaya E, Drahovska H, Levican A, Figueras J, Forsythe J. 2012. *Cronobacter condimentii* sp. nov., isolated from spiced meat, and *Cronobacter universalis* sp. nov., a species designation for *Cronobacter* sp. genomospecies 1, recovered from a leg infection, water and food ingredients. Int J Syst Evol Microbiol. 2012 Jun; 62 (Pt 6): 1277-83.

Lopardo H, Predari S, Vay C. 2016. Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: enterobacterias. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2016. ISBN 978-987-26716-8-6. 429 p.

OMS y FAO (Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2004. *Enterobacter sakazakii* y otros microorganismos en los preparados en polvo para lactantes: Informe de la reunión. Microbiological Risk Assessment Series 6. FAO/OMS (2004). 86 pg.

OMS y FAO (Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2007. Preparación, almacenamiento y manipulación en condiciones higiénicas de preparaciones en polvo para lactantes. Directrices. ISBN: 978 92 4 259541 2. 32 p.

OMS y FAO (Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2008. *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered follow-up formula. MEETING REPORT. Microbiological Risk Assessment Series 15- FAO/WHO (2008). 105 p.

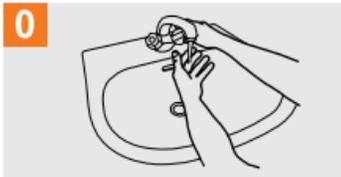
OXOID (ThermoFisher) 2010. *Cronobacter* species. School of Science and Technology, Nottingham Trent University Nottingham, U. Volume 31 No 1 March 2010 ISSN 0 9 6 5 - 0 9 8 9.

Vargas-Leguás H, Rodríguez V, Lorite R, Perez-Portabella C, Redecillas S, Campins M. 2008. Guía para la elaboración de fórmulas infantiles en polvo en el medio hospitalario. Sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico. Universitat Autònoma de Barcelona. Anales de Pediatría. Volume 70, Issue 6, June 2009, Pages 586–59.

¿Cómo lavarse las manos?

¡Lávese las manos solo cuando estén visiblemente sucias! Si no, utilice la solución alcohólica

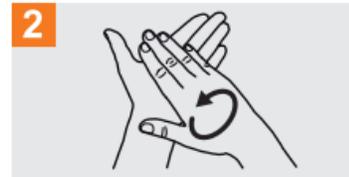
 Duración de todo el procedimiento: 40-60 segundos



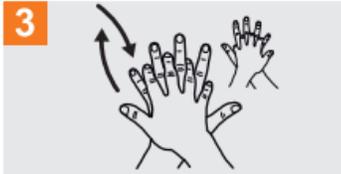
0 Mójese las manos con agua;



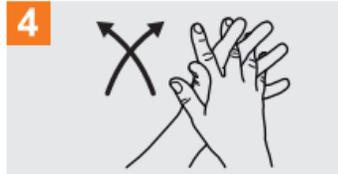
1 Deposite en la palma de la mano una cantidad de jabón suficiente para cubrir todas las superficies de las manos;



2 Frótese las palmas de las manos entre sí;



3 Frótese la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa;



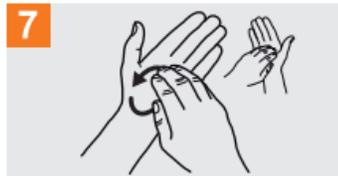
4 Frótese las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados;



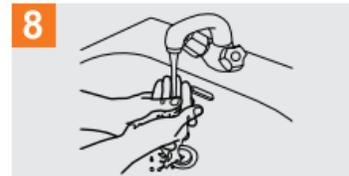
5 Frótese el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos;



6 Frótese con un movimiento de rotación el pulgar izquierdo, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa;



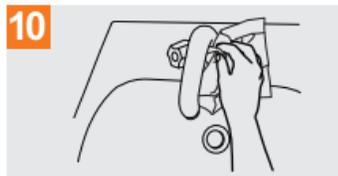
7 Frótese la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa;



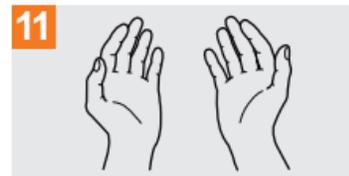
8 Enjuáguese las manos con agua;



9 Séquese con una toalla desechable;



10 Sirvase de la toalla para cerrar el grifo;



11 Sus manos son seguras.



Organización
Mundial de la Salud

Seguridad del Paciente

UNA ALIANZA MUNDIAL PARA UNA ATENCIÓN MÁS SEGURA

SAVE LIVES

Clean Your Hands

La Organización Mundial de la Salud ha tomado todas las precauciones razonables para comprobar la información contenida en este documento. Sin embargo, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ya sea expresa o implícita. Comprenda al respecto la responsabilidad de la interpretación y del uso del material. La Organización Mundial de la Salud no podrá ser considerada responsable de los daños que pudiere ocasionar su utilización. La OMS agradece a los Hospitales Universitarios de Ginebra (HUG), en particular a los miembros del Programa de Control de Infecciones, su participación activa en la redacción de este material.