

Contaminación microbiana de fórmulas enterales de uso hospitalario

Juan Kehr S.¹, Lorian Castillo D.¹, Blanca Morales V.²,
Karen Ridemann S.², Mónica Campano B.², Waldo Aranda Ch.³

Resumen

Objetivo: Determinar la calidad microbiológica de dos fórmulas enterales (FE): ADN® polvo (P) y ADN® líquido (L) listo para utilizar. **Método:** en 4 hospitales de Santiago se realizó recuento de mesófilas (Me), coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) en un total de 144 muestras de FE, obtenidas a los tiempos 0, 2, 4, 6, 10, 24 y 48 horas. Los estándares de calidad microbiológica (ECM) utilizados al tiempo cero fueron: $< 10^2$ UFC/ml de Me y ausencia de CT, y a los restantes tiempos: $\leq 10^3$ UFC/ml de Me; < 10 UFC/ml de CT y ausencia de CF. **Resultados:** Los porcentajes de cumplimiento de los ECM de ADN®-P para Me fueron: 42%, 75%, 50%, 33% y 25%, y para CT fueron: 83%, 91,5%, 83%, 75% y 42% al tiempo 0, 2, 4, 6 y 10 horas respectivamente. El cumplimiento de los ECM de ADN®-L para Me fue 100% al tiempo 0, 2, 4 y 6 horas, 92% a las 10 horas; para CT fue de 100% en todos los tiempos evaluados. El recuento de CT fue significativamente superior en las muestras de ADN®-P desde las cuatro horas en adelante. El ADN® -L abierto y refrigerado a 4°C cumplió con los ECM hasta las 48 horas de estudio. **Conclusiones:** La mayor adhesión de las FE de ADN®-L a los ECM sugieren privilegiar su uso. Las FE de ADN®-P y de ADN®-L pueden estar colgadas a temperatura ambiente hasta por 4 y 10 horas respectivamente. La conservación de cajas Tetra Pak de ADN®-L abiertas y refrigeradas a 4°C permite su uso hasta las 48 horas.

(Palabras Clave: Contaminación Microbiana, Nutrición Enteral.)

Microbiological contamination of enteral formulas used in hospitals

Objective: to determine the microbiological quality of 2 ready to use enteral formulas ADN powder (P) and ADN liquid (L). **Methods:** the study was carried out in 4 hospitals

1. Médico. Hospital San Juan de Dios, Hospital Mutual de Seguridad, Hospital DIPRECA, Hospital Pontificia Universidad Católica y Escuela de Salud Pública Universidad de Chile.
2. Nutricionista. Hospital San Juan de Dios, Hospital Mutual de Seguridad, Hospital DIPRECA, Hospital Pontificia Universidad Católica y Escuela de Salud Pública Universidad de Chile.
3. Bioestadístico. Hospital San Juan de Dios, Hospital Mutual de Seguridad, Hospital DIPRECA, Hospital Pontificia Universidad Católica y Escuela de Salud Pública Universidad de Chile.

e-mail: achilenu@entelchile.net

Financiamiento: B. Braun Medical S.A., Tetra Pak, Loncoleche (Proyecto 421)

Trabajo recibido el 4 de septiembre de 2001, devuelto para corregir el 7 de marzo de 2002, segunda versión el 22 de abril de 2002, aceptado para publicación el 5 de junio de 2002.

in Santiago. 144 samples were cultured at time 0 preparation), 2, 4, 6, 8 and 10 hours after preparation. At 24 and 48 hours samples were taken from L kept at 4° C. Counts of mesophils (Me), total coliforms (TC) and faecal coliforms (FC) were measured. The microbial quality standards (MQS) were at time 0 $< 1 \times 10^2$ UFC/ml of Me and no TC, at time 2,4,6,8 and 10 hours, $< 1 \times 10^3$ UFC/ml of Me, < 10 UFC/ml TC and no FC. **Results:** the average that fulfilled MQS criteria for P at times 0, 2, 4, 6, 8, 10 hours were; Me: 42%, 75%, 50%, 33% and 25%. For CT 83%, 91.5%, 83%, 75% and 42%. For L at times 0,2,4,6 and 8 hours 100% and at 10 hours 92% for Me, for TC 100% at any time. After 4 hours the difference between the TC of P and L was significant ($p < 0.05$). **Conclusions:** L fulfills the MQS criteria better than P. Ready to use formulas should be used as a first option. The maximum storage time for L is 10 hours at room temperature, whereas this is 4 hours for Tetra Pak P. L can be opened and stored at 4° C and used during the first 48 hours.

(Key words: microbiological contamination, enteral feeds.)

INTRODUCCIÓN

La nutrición enteral (NE) es una técnica terapéutica ampliamente utilizada para aportar nutrientes de forma efectiva a pacientes incapaces de recibir sus requerimientos nutricionales por la vía oral y constituye una buena alternativa a la nutrición parenteral, en pacientes con tubo digestivo funcional. En general, la NE es una técnica segura y de alto rendimiento, pero puede asociarse a complicaciones infecciosas relacionadas con la contaminación microbiana de las fórmulas enterales (FE). La administración de FE contaminadas determina un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que van desde la colonización microbiana asintomática del tubo gastrointestinal^{1,2}, pasando por un cuadro de gastroenteritis aguda³⁻⁶ hasta la septicemia y shock séptico^{1,5,7,8}, dependiendo de la cuantía de la contaminación microbiana, tipo de microorganismo involucrado y del estado inmunitario del huésped. Por otro lado, tanto la colonización como la infección gastrointestinal asociada a NE, representan un importante factor de riesgo de infección urinaria, neumonía y estada hospitalaria prolongada^{1,5}. Investigaciones realizadas por el *Center for Disease Control*, Atlanta, USA, a comienzos de la década de los noventa, evidenciaron que la administración de FE con recuentos de mesófilas $\geq 10^4$ unidades formadoras de colonia/ml (UFC/ml) se asociaban con colonización gastrointestinal y $\geq 10^5$ UFC/ml con infección gastrointestinal⁹. En base a lo anterior, la F.D.A. publicó en 1995 como criterio de rechazo de una FE el hallazgo de un re-

cuento de mesófilas $\geq 10^4$ UFC/ml en una muestra aislada. Sin embargo, los estándares de calidad microbiológica más ampliamente utilizados a nivel de la literatura internacional son los propuestos por la *British Dietetic Association* en 1986, los cuales consideran que una FE recién preparada debe tener un recuento de mesófilas $< 10^2$ UFC/ml, ausencia de coliformes totales y coliformes fecales, y que al término de su administración debe tener un recuento de mesófilas $\leq 10^3$ UFC/ml, un recuento de coliformes totales < 10 UFC/ml y ausencia de coliformes fecales¹¹.

La contaminación microbiana de las FE puede producirse en diversas etapas, desde su producción en la fábrica hasta la administración al paciente. Numerosas investigaciones señalan que entre el 14% a 67% de las FE se encuentran contaminadas inmediatamente después de su preparación a nivel de la unidad hospitalaria dispuesta para ello, lo cual indica que una etapa especialmente crítica para la contaminación microbiana de la FE es su manipulación^{12,13-16,17,19}.

El propósito de este estudio fue determinar y comparar la calidad microbiológica de dos FE de similar composición, cuya diferencia fundamental radica en el grado de manipulación a que debe ser sometida antes de su administración al paciente: una en polvo que debe ser reconstituida con agua antes de su administración (ADN® en polvo) y la otra en solución lista para ser administrada al paciente (ADN® líquido). Se analiza además la factibilidad de utilizar cajas de ADN® líquido que han sido abiertas y refrigeradas a 4° C por 48 horas.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se realizó entre marzo y junio de 2000 en cuatro Hospitales de Santiago: San Juan de Dios (Estatual y Universitario), DIPRECA (Delegado), Clínico de la Universidad Católica (Privado y Universitario) y Mutual de Seguridad (Privado).

Las FE evaluadas y comparadas fueron ADN® polvo (P), reconstituido a nivel de cada hospital de acuerdo a su protocolo de preparación y ADN® líquido (L) estéril, listo para usar, envasado en caja Tetra Pak.

Preparación y dispensación de las fórmulas enterales

Esta etapa se realizó en la unidad donde se preparan y dispensan las FE a nivel de cada hospital, usualmente denominada SEDILE, y estuvo a cargo del personal auxiliar que rutinariamente desempeña dicha labor. No se realizaron evaluaciones ni intervenciones respecto de la infraestructura del SEDILE, nivel de capacitación de su personal, vestimenta y técnica utilizada para la preparación de las FE. Las auxiliares participantes estaban en conocimiento que se iba a tomar muestras de la FE para estudio microbiológico. Las FE preparadas para el protocolo no fueron administradas a pacientes. Se solicitó a la auxiliar de cada hospital que reconstituyera 1 litro de ADN-P al 22%, a partir de un tarro recién abierto, y que lo dispensara en dos contenedores plásticos (Enterofix®) de 500 ml cada uno, mediante la utilización de un embudo estéril; que a continuación abriera una caja de ADN® líquido de 1 litro y lo dispensara de la mis-

ma forma, y finalmente, que abriera una segunda caja Tetra Pak de ADN® -L (levantando la tapa plástica y retirando el sello de papel aluminio), que luego la cerrara con su respectiva tapa plástica y refrigerara a 4° C por 48 horas. Los contenedores plásticos (dos de ADN® -P y dos de ADN® -L) se dejaron a temperatura ambiente, $22 \pm 3^\circ \text{C}$, por un tiempo total de 10 horas.

Recolección de las muestras

La recolección de las muestras estuvo a cargo de la nutricionista responsable de la unidad. A partir del litro de ADN® polvo y del litro de ADN® líquido, dispensados en contenedores, se tomaron con técnica aséptica, 5 muestras de 50 ml cada una, en los siguientes tiempos: 0, 2, 4, 6 y 10 horas (las dos primeras se tomaron desde el primer contenedor y las tres restantes desde el segundo). A continuación, desde la caja de ADN® líquido, que fue abierta y refrigerada a 4° C se recolectaron dos muestras de 50 ml cada una, a las 24 y 48 horas respectivamente. Las muestras se recolectaron en frascos de vidrio estériles, con tapa de rosca y fueron congeladas a -70° C inmediatamente después de su recolección. Cada unidad SEDILE generó 12 muestras: 5 de la fórmula en polvo, 5 de la fórmula líquida y 2 que se obtuvieron desde el interior de la caja abierta y refrigerada a 4° C. Cada hospital participante realizó el mismo protocolo en 3 días alternos, por lo que cada uno generó un total de 36 muestras. El número total de muestras recolectadas entre los 4 hospitales fue de 144 y su distribución se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Número total de muestras tomadas de fórmulas enterales en polvo y líquidas, en 4 hospitales

Tiempo	ADN® polvo (Enterofix®)	ADN® líquido (Enterofix®)	ADN® líquido (Caja Tetra Pak)	Total
0	12	12	—	24
2	12	12	—	24
4	12	12	—	24
6	12	12	—	24
10	12	12	—	24
24	—	—	12	12
48	—	—	12	12
Total	60	60	24	144

Transporte de las muestras

Las muestras fueron sacadas del freezer (-70°C) al momento de su traslado, almacenadas en cajas térmicas provistas de unidades refrigerantes y enviadas en radiotaxi desde cada hospital al laboratorio donde se centralizó el estudio microbiológico.

Estudio microbiológico

Las 144 muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Estudios, Medición y Certificación de Calidad (CESMEC). Se realizaron los siguientes estudios:

- a) Recuento de Bacterias Mesófilas (Me): Se realizó mediante técnica de recuento en placa de agar, en duplicado. Los resultados fueron expresados en UFC/ml.
- b) Recuento de Coliformes Totales (CT) y Recuento de Coliformes Fecales (CF): Se realizó por la técnica de dilución en caldo (3 diluciones), en triplicado. Los resultados fueron expresados como el número más probable/ ml (NMP/ml). Debido a que los estándares de calidad para los coliformes se expresan en UFC/ml y que el estudio se realizó mediante una técnica de mayor sensibilidad, cuyos resultados se expresan como el NMP/ml, se efectuó la siguiente equivalencia: $< 0,9$ NMP/ml = ausencia UFC/ml; 1 a 9 NMP/ml = ≤ 10 UFC/ml y > 10 NMP/ml = > 10 UFC/ml.

Estándares de calidad microbiológicos utilizados (ECM)

- a) Al Inicio del Tiempo de Colgado (Tiempo Cero): Recuento de Me $< 10^2$ UFC/ml y ausencia de CT y CF.
- b) Al Final del Tiempo de Colgado (dos, cuatro, seis y diez horas): Recuento de Me $\leq 10^3$ UFC/ml, recuento de CT $< 10^1$ UFC/ml y ausencia de CF.
- c) El hallazgo de recuentos $\geq 10^4$ UFC/ml en cualquier momento fue considerado como inaceptable.

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado en la Escuela de Salud Pública de la Universi-

dad de Chile. Los resultados fueron almacenados en el Programa Stata y analizados mediante la Prueba de Wilcoxon. Se trabajó con un nivel de significancia $p < 0,05$.

RESULTADOS

Cumplimiento de ECM para Me

Al inicio del Tiempo de Colgado 42% y 100% de las muestras de FE polvo y FE líquida respectivamente, cumplieron con el ECM ($< 10^2$ UFC/ml). El 16% de las muestras de FE polvo presentó recuentos $> 10^4$ UFC/ml, considerado recuento inaceptable (figura 1).

El cumplimiento del ECM para Me al final del Tiempo de Colgado, se muestra en la figura 2. A las dos, cuatro y seis horas 100% de las FE líquidas cumplía con el ECM de $\leq 10^3$ UFC/ml; y a las 10 horas 92% de estas cumplía con dicho estándar y 8% tenía $> 10^4$ UFC/ml (recuento inaceptable).

A medida que aumentó el tiempo de colgado disminuyó el porcentaje de muestras de ADN® polvo que cumplió con el ECM para Me: 75%, 50%, 33% y 25% a las dos, cuatro, seis y diez horas respectivamente. A su vez, conforme aumentó el tiempo de colgado se incrementó el porcentaje de muestras con recuentos inaceptables para Me ($> 10^4$ UFC/ml), a saber: 16%, 25%, 34% y 42% a las dos, cuatro, seis y diez horas respectivamente.

Cumplimiento del ECM para CT

Al Inicio del Tiempo de Colgado, 83% y 100% de las muestras de FE polvo y FE líquida respectivamente, cumplieron con el ECM (ausencia de CT) y 17% de las FE polvo presentó recuento de entre 1 a < 10 UFC/ml (figura 3).

Al término del tiempo de colgado (figura 4) cumplieron con el ECM para CT 91%, 83,4%, 75% y 42% de las muestras de FE polvo, a las dos, cuatro, seis y diez horas respectivamente. En cambio 100% de las muestras de FE líquida cumplió con dicho estándar, en cada uno de los tiempos señalados. A medida que aumentó el tiempo de colgado, aumentó el porcentaje de muestras de ADN® polvo que no cumplió con el ECM para CT, a saber: 8,5%, 16,6%, 25% y 58% a las dos, cuatro, seis y diez horas respectivamente.

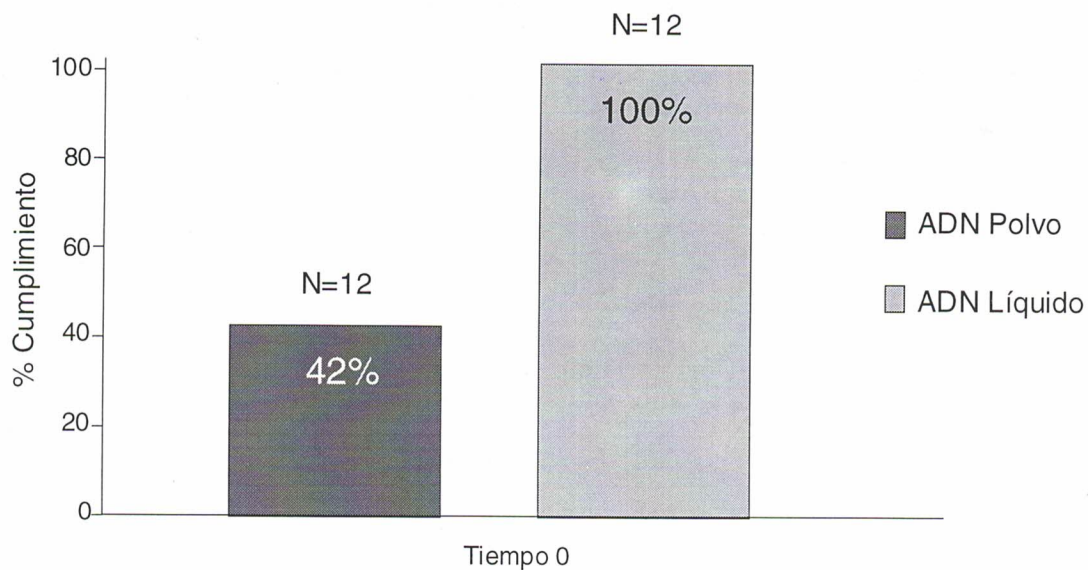


Figura 1. Cumplimiento del estándar para bacterias Mesófilas, al inicio del tiempo de colgado ($< 10^2$ UFC/ml). ADN polvo vs ADN líquido.

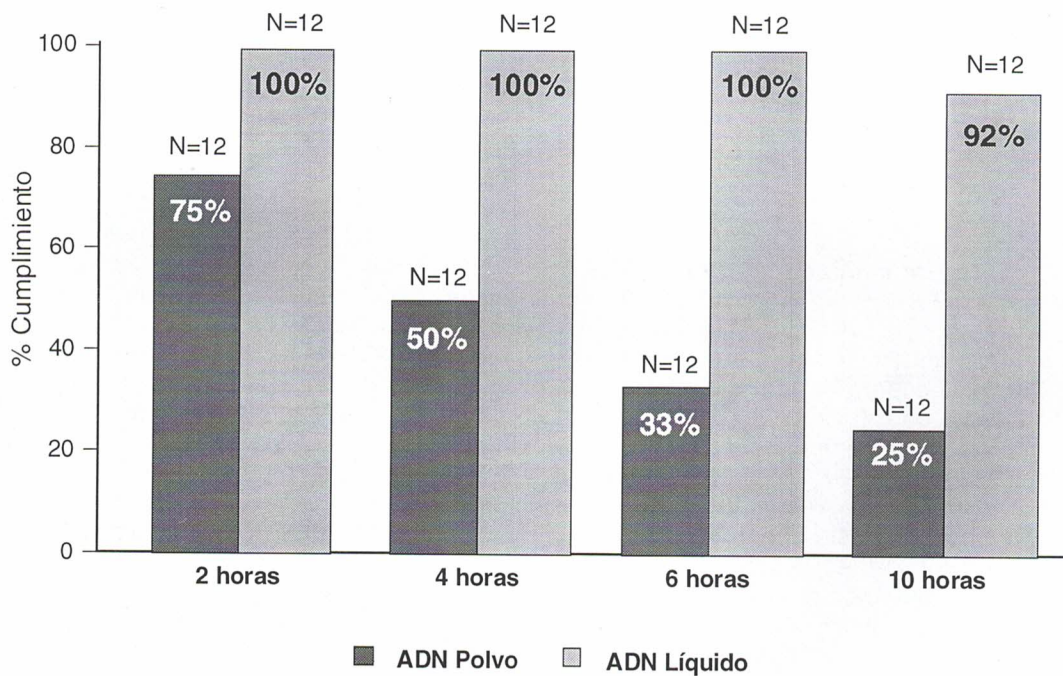


Figura 2. Cumplimiento del estándar para bacterias Mesófilas, al término del tiempo de colgado ($\leq 10^3$ UFC/ml). ADN polvo vs ADN líquido.

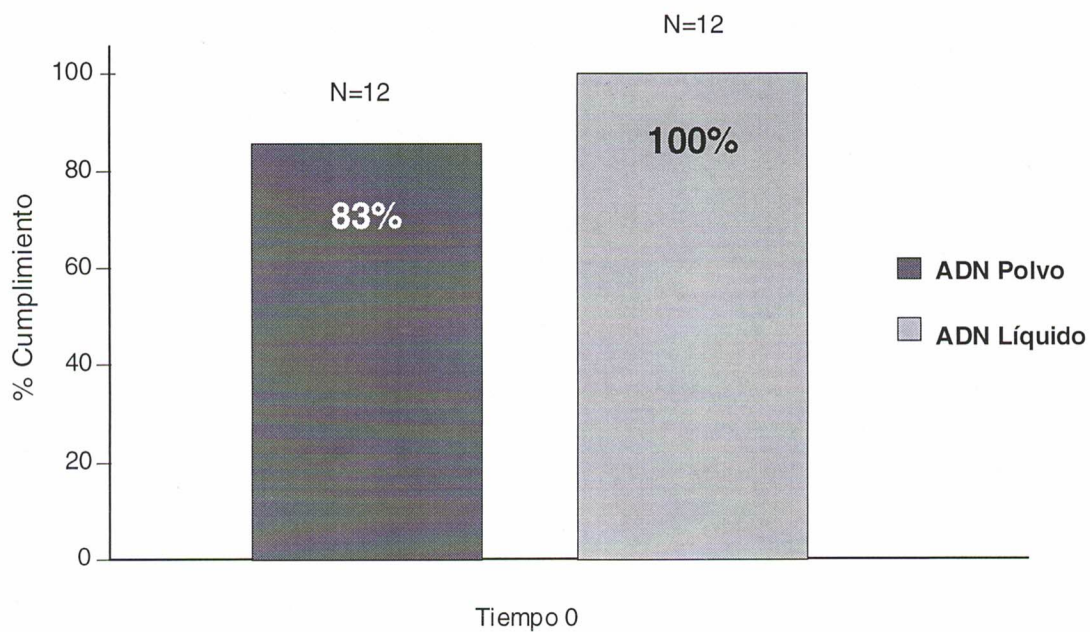


Figura 3. Cumplimiento del estándar para Coliformes Totales, al inicio del tiempo de colgado ($\leq 0,9$ NMP/ml). ADN polvo vs ADN líquido.

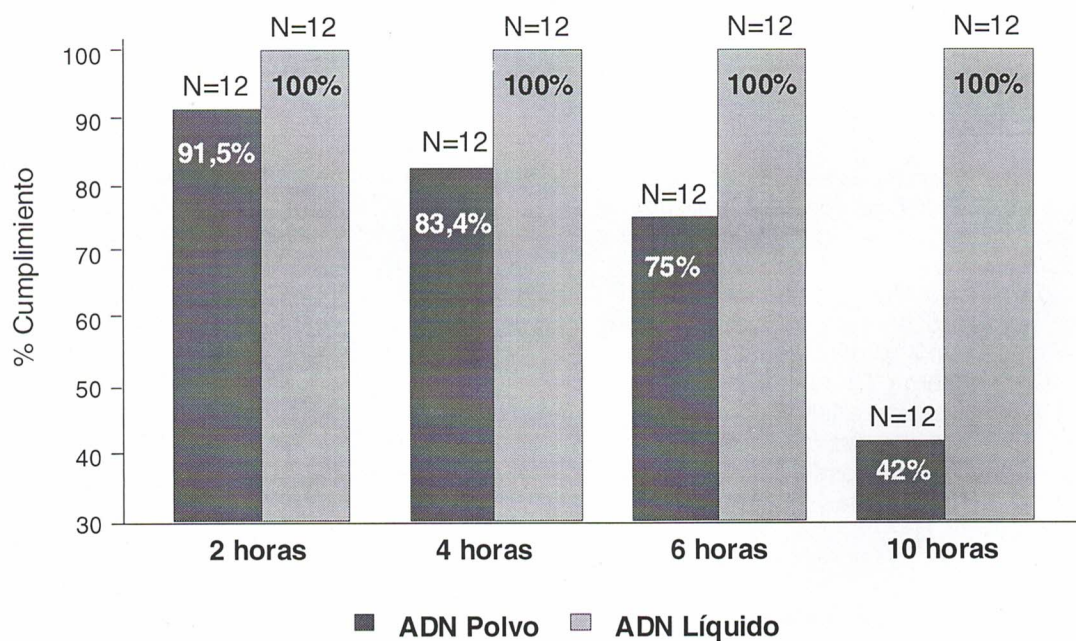


Figura 4. Cumplimiento del estándar para Coliformes Totales, al término del tiempo de colgado (< 10 UFC/ml), ADN polvo vs AN líquido.

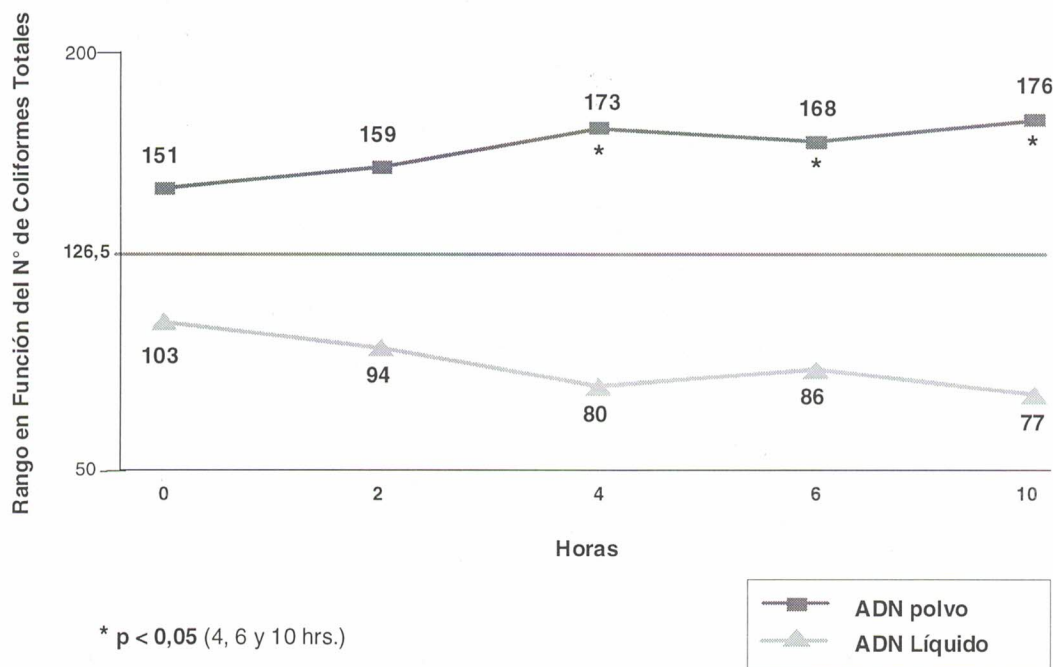


Figura 5. Recuento de Coliformes Totales en ADN polvo vs ADN líquido.

La figura 5 muestra el recuento de CT en las muestras de ADN® líquido y ADN® polvo durante el período de estudio. Hubo diferencia significativa entre los recuentos de CT de ADN® polvo y ADN® líquido desde las cuatro horas en adelante ($p < 0,05$).

En ninguna muestra se detectó presencia de CF.

Cumplimiento de los ECM de las muestras de ADN® líquido obtenidas desde la Caja Tetra Pak abierta y refrigerada por 48 horas

De un total de 12 cajas de ADN® líquido, envasado en caja tetrapak, abiertas y refrigeradas a 4°C al inicio de cada protocolo, se obtuvieron 12 muestras a las 24 horas y 12 muestras a las 48 horas.

El 100% de las muestras de ADN® líquido obtenidas desde la caja tetrapak a las 24 horas y a las 48 horas, presentó ausencia de Me y de CT.

DISCUSIÓN

La nutrición enteral (NE) es una técnica terapéutica ampliamente utilizada para pro-

porcionar soporte nutricional efectivo a pacientes incapaces de recibir sus requerimientos nutricionales por vía oral. La obtención de un adecuado estado nutricional acelera la totalidad de los procesos reparativos del organismo y permite la recuperación del paciente en plazos más breves.

Algunas de las complicaciones de la NE se relacionan con la posibilidad de contaminación microbiana de las fórmulas enterales (FE) que son administradas. El grado de contaminación microbiana que alcance una FE depende de factores propios de la fórmula, tales como composición, Ph y densidad; del tipo y número de manipulaciones que sufre la FE antes de ser administrada, y finalmente, del sistema utilizado para su administración. Las FE en solución, listas para su uso y que son administradas por un sistema cerrado, son las menos afectadas por problemas de contaminación microbiana y pueden ser administradas en plazos de 24 horas o más. Por el contrario, las FE en polvo, las cuales requieren de manipulación previa a su administración y que son administradas por sistemas abiertos, son las que ofrecen mayor riesgo de contaminación microbiana, por lo que su administración no

debiera prolongarse por más allá de 4 horas desde el momento de su preparación^{1,5,13,14}. Algunos autores recomiendan períodos de hasta 8 horas^{16,20}. Si bien es cierto, la práctica de esterilizar las fórmulas de NE reduce el nivel de contaminación microbiana, es preciso recordar que ningún método de esterilización logra suprimir una carga microbiana demasiado alta y por otro lado, cualquier proceso de esterilización produce pérdida de vitaminas y nutrientes, reduciéndose los efectos beneficiosos de la NE. En este estudio determinamos y comparamos el nivel de contaminación microbiana de dos fórmulas enterales de composición similar y cuya diferencia fundamental radica en que una es manipulada, previo a la administración al paciente (ADN® polvo) y la otra viene en solución, lista para ser usada (ADN® líquido). Ambas FE fueron conservadas y muestreadas a temperatura ambiente hasta las 10 horas, de forma tal de poder evidenciar el impacto que reviste el proceso de manipulación de la FE en la contaminación microbiana de la misma. Además se determinó la factibilidad de refrigerar a 4° C, por 48 horas, cajas Tetra Pak de ADN® líquido previamente abiertas.

Los ECM utilizados en el análisis son los propuestos por la *British Dietetic Association* (1986) para Me y CT.¹¹ En este estudio encontramos que el 58% de las FE elaboradas a partir de polvo no cumplieron con el ECM para Me al tiempo cero, lo cual se interpreta como la existencia de un mayor grado de contaminación bacteriana que el esperado durante su proceso de manipulación. Por otra parte, el 17% de las muestras no cumplió con el ECM para CT, lo cual apunta a condiciones higiénicas deficitarias durante el mismo proceso, probablemente inadecuada limpieza y desinfección de la juguera y/o restantes utensilios que se ocupan para la elaboración, o bien, falta del cumplimiento de la técnica requerida.

En general, la composición de las FE determina que incluso una leve contaminación microbiana inicial, se transforme a las pocas horas en abundante crecimiento bacteriano, de allí que cuando las FE fueron dejadas a temperatura ambiente, se observó un incremento sostenido del porcentaje de FE en polvo que no cumplían con los ECM para Me y CT entre las 2 y 10 horas de observación. El porcentaje de FE que no cumplió con los ECM para Me al

inicio del tiempo de colgado, se encuentra dentro del rango de 16-62% publicado por la literatura internacional^{12,13-16}.

Con respecto a la FE líquida, lista para usar, el cumplimiento de los ECM para Me y CT fue de 100% al inicio del tiempo de colgado. Cuando estas FE fueron dejadas a temperatura ambiente, el ECM para Me fue de 100% hasta las 6 horas de observación y de 92% a las 10 horas. Esto último pudiese ser consecuencia de una contaminación al momento de tomar alguna de las muestras ya que es poco probable que ésta se haya producido al tiempo cero dado su bajo recuento. El cumplimiento del ECM para CT fue de 100% hasta las 10 horas de observación. La literatura internacional señala que el porcentaje de FE listas para ser usadas, que no cumple con los ECM para Me al tiempo cero, fluctúa entre 0-7%^{13-16,21-23}, por lo que en nuestro estudio el porcentaje de no cumplimiento coincide con el límite inferior de este rango.

A pesar de las importantes diferencias de los recuentos de Me entre ADN® polvo y ADN® líquido detectadas en este estudio, ésta no fue estadísticamente significativa. En lo que a recuento de bacterias CT se refiere, si hubo diferencia estadísticamente significativa entre ADN® polvo y ADN® líquido desde las 4 horas de observación en adelante. Estos resultados corroboran la recomendación internacional respecto de que las FE que son reconstituidas con agua deben administrarse en menos de 4 horas, en atención a que han sufrido un proceso de elaboración que ofrece alto riesgo de contaminación^{1,5,13,14}. En relación con las FE de ADN® líquido, de acuerdo a nuestros resultados, éstas podrían permanecer colgadas hasta por 10 horas, puesto que el ECM para CT se cumplió en un 100% y no se detectaron muestras con recuentos inaceptables para Me. En próximas investigaciones será necesario determinar que sucede con las FE de ADN® líquido entre las 10 y 24 horas de colgado.

El análisis microbiológico del contenido de cajas Tetra Pak de ADN® líquido abiertas y luego guardadas a 4° C por 48 horas determinó que las 12 muestras tomadas a las 24 horas y las 12 muestras tomadas a las 48 horas cumplieron con los ECM para Me y CT, lo cual permitiría utilizar esta fórmula hasta por 48 horas luego de abierta la caja, siempre y cuando se cumpla con la condi-

ción de refrigerar a 4° C. Esto representa un ahorro para pacientes que reciben pequeños volúmenes. Serán necesarios futuros estudios para determinar si es posible mantener estas fórmulas por más tiempo.

CONCLUSIONES

La mayor adhesión de ADN® líquido a los ECM internacionales y la mayor contaminación microbiana detectada en las fórmulas de ADN® polvo sugieren privilegiar el uso de las fórmulas de ADN® líquido.

Las fórmulas enterales de ADN® líquido pueden estar colgadas hasta por 10 horas a temperatura ambiente y las fórmulas enterales de ADN® polvo hasta por 4 horas.

Las fórmulas enterales de ADN® líquido conservadas en cajas Tetra Pak abiertas y refrigeradas a 4° C no evidenciaron contaminación microbiana hasta las 48 horas de estudio.

REFERENCIAS

1. Thurn J, Crossley K, Gerdts A, et al: Enteral hyperalimentation as a source of nosocomial infection. *J Hosp Infect* 1990; 15(3): 302-17.
2. Schreiner RL, Eitzen H, Gfell MA, et al: Environmental contamination of continuous drip feeding. *Pediatrics* 1979; 63(2): 232-7.
3. Anderson KR, Norris DJ, Godfrey LB, et al: Bacterial contamination of tube-feeding formulas. *JPEN* 1984; 8(6): 673-8.
4. Fernandez-Crehuet NM, Jurado CD, Guillen SJF, et al: Bacterial contamination of enteral feeds as a possible risk of nosocomial infection. *J Hosp Infect* 1992; 21(2): 111-20.
6. Freedland CP, Roller RD, Wolfe BM, et al: Microbial contamination of continuous drip feedings. *JPEN* 1989; 13(1): 8-22.
7. Mickschl DB, Davidson LJ, Fluornoy DJ, et al: Contamination of enteral feedings and diarrhea in patients in intensive care units. *Heart Lung* 1990; 19(4): 362-70.
8. Levy J, Laethem YV, Verhaegen G, et al: Contaminated enteral nutrition solutions as a cause of nosocomial bloodstream infection: a study using plasmid fingerprinting. *JPEN* 1989; 13(3): 228-34.
9. Casewell MW, Cooper JE, Webster M: Enteral feeds contaminated with *Enterobacter cloacae* as a cause of septicaemia. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1981; 282(6268): 973.
10. Centers for Disease Control: Foodborne Disease Outbreaks Annual Summary. 1978 (revised and reissued 1981). Atlanta: US Centers for Disease Control, 1981.
11. Food and Drug Administration: Compliance Program Guidance Manual CPGM 7321.002, Chapter 21, 1995.
12. Anderton A, Howard JP, Scott DW: Microbiological Control in Enteral Feeding: A Guidance Document. Birmingham, England: The Parenteral and Enteral Nutrition Group, The British Dietetic Association. Human Nutrition: Applied Nutrition (1986) 40A; 163-7.
13. Pérez SK, Brandt K: Enteral feeding contamination comparison of diluents and feeding bag usage. *JPEN* 1989; 13(3): 306-8.
14. Bussy V, Marechal F, Nasca S: Microbial contamination of enteral feeding tubes occurring during nutritional treatment. *JPEN* 1992; 16(6): 552-7.
15. Patchell CJ, Anderton A, MacDonald A, et al: Bacterial contamination of enteral feeds. *Arch Dis Child* 1994; 70: 327-30.
16. Crocker KS, Krey SH, Markovic M, et al: Microbial growth in clinically used enteral delivery systems. *Am J Infect Control* 1986; 14: 250-6.
17. Wagner DR, Elmore MF, Knoll DM: Evaluation of "closed" vs. "open" systems for the delivery of peptide-based enteral diets. *JPEN* 1994; 18(5): 453-7.
18. Mathus-Vliegen LM, Binnekade JM, de Haan RJ: Bacterial contamination of ready-to-use 1-L feeding bottles and administration sets in severely compromised intensive care patients. *Crit Care Med* 2000; 28(1): 67-73.
19. Vaughan LA, Manore M, Winston DH: Bacterial safety of a closed-administration system for enteral nutrition solutions. *JADA* 1988; 88: 35-7.
20. Curtas S, Forbes B, Meguid V, et al: Bacteriological safety of closed enteral nutrition delivery system. *Nutrition* 1991; 7(5): 340-3.
21. Vanek VW: Closed versus Open Enteral Delivery Systems: A Quality Improvement Study. *NCP* 2000; 15(5): 234-43.
22. Dentinger B, Faucher KJ, Ostrom SM, et al: Controlling bacterial contamination of an enteral formula through the use of a unique closed system: contamination, enteral formulas, closed system. *Nutrition* 1995; 11(6): 747-50.
23. Moffitt SK, Gohman SM, Sass KM, et al: Clinical and Laboratory Evaluation of a closed enteral feeding system under cyclic feeding conditions: a microbial and cost evaluation. *Nutrition* 1997; 13: 622-8.
24. Storm HM, Skipper A: Closed-Systems Enteral Feedings: Point-Counterpoint. *NCP* 2000; 15(4): 193-200.