



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES

**DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD CALÓRICA DE LA
LEHE HUMANA DONADA MEDIANTE LA DETERMINACIÓN
DEL CREMATOCRITO Y ANALISIS MICROBIOLÓGICO.
EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA.**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN :
NEONATOLOGIA**

PRESENTA:

DRA. SANDRA LUZ ALBARRÁN JUÁRE

PROFESOR TITULAR:

DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO

México DF. Julio. 2016





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACION DE TESIS:

TITULO: DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE MACROMOLECULAS,
CREMATOCRITO Y ANALISIS MICROBIOLÓGICO EN LECHE HUMANA DONADA
EN EL BANCO DE LECHE DEL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA.



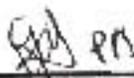
DR. ENRIQUE ALFONSO GOMEZ SANCHEZ
DIRECTOR DE EDUCACION EN CIENCIAS DE LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES



DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO
PROFESORA TITULAR CURSO NEONATOLOGIA
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES



DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO
DIRECTORA DE TESIS



DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO
ASESORA METODOLÓGICA

INDICE

INTRODUCCION	4
MARCO TEORICO	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	19
JUSTIFICACION	20
OBJETIVOS	21
METODOS	22
PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO	33
RESULTADOS DEL ESTUDIO	33
DISCUSION.....	37
CONCLUSION	39
LIMITACION DEL ESTUDIO	40
CRONOGRAMA	41
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	42
ANEXOS	44

INTRODUCCION

La leche humana donada de banco constituye un elemento crítico y como tal debe poderse ofrecer en condiciones óptimas de calidad nutricional e inmunológica y de seguridad e higiene; aun más importante se torna el hecho de garantizar la calidad, cuando que, los receptores de la leche serán neonatos de bajo peso (de 1 a 1,6 Kg de peso en su mayoría prematuros o neonatos enfermos, pero también lactantes mayores con procesos quirúrgicos) internados en la unidad de terapia intensiva

¹

Así los sistemas de aseguramiento de calidad en el banco de leche humana deben seguir los 7 principios de la producción y distribución de alimentos pero requieren cuidados específicos.²

Desde el punto de vista fisicoquímico se consideraron la acidez titulable y contenido energético de las muestras de leche. La acidez titulable es importante al momento de aceptar o rechazar una muestra, en la etapa de control de calidad del producto donado.

El contenido energético es elemental al momento de establecer que tipo de leche será la adecuada, a la hora de suministrar al receptor que la está necesitando; pues para cada caso se solicitará una leche con contenido energético acorde a las necesidades nutricionales presentes en el neonato³

En los BLH, además de las pruebas fisicoquímicas, se realizan determinaciones microbiológicas post-pasteurización, éstas son de suma importancia, pues por más que el proceso de pasteurización asegura la eliminación de bacterias y la erradicación de los virus HIV, CMV así como la mayoría de los demás virus; existen riesgos relacionados al manipuleo pre y post-pasteurización y como consecuencia se producen contaminaciones con bacterias no patógenas y otras potencialmente patógenas procedentes de la piel, las manos o la nariz y boca de la madre y/o del personal técnico (como *K. Pneumoniae* o *S. Aureus*) y otras indicativas de contaminación fecal (como *E. Coli*). La presencia de estos últimos en la leche humana es indicativa de pobre higiene personal de la donante, malas prácticas durante la extracción o fallo en la cadena de frío durante el almacenaje en casa o el transporte hasta el banco.

La presente investigación consistió en la evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche colectada por el banco de Leche humana del Instituto Nacional de Perinatología.

MARCO TEORICO

COMPOSICION DE LA LECHE HUMANA

Solo hablaremos de las características principales de la leche materna que la hacen el alimento idóneo para el recién nacido, tanto enfermo como sano y en especial para el prematuro.

La leche humana es el alimento que por sus componentes nutricionales y en los factores bioactivos no nutritivos promueve la supervivencia y el sano desarrollo.⁴

El Calostro es el primer fluido producido por las madres después del parto, este es producido en bajas cantidades en los primeros días después del parto, es rico en componentes inmunológicos tales como la inmunoglobulina A secretora (Ig A), lactoferrina, leucocitos, y factores de desarrollo tales como el factor de crecimiento epidérmico (EGF). El calostro también contiene concentraciones relativamente bajas de lactosa, lo que nos hace suponer que sus funciones primarias lo constituyen mas las inmunológicas y tróficas más que la nutricional.

Los niveles de sodio, cloruro, y magnesio son más altos y los niveles de potasio y de calcio son más bajos en el calostro que en la leche madura. Conforme ocurre la formación de la leche de transición las concentraciones de sodio comienzan a descender por el cierre de las uniones estrechas y a aumentar la concentración de lactosa, etapa conocida como lactogenesis II) este periodo se produce a partir de los días 5 a 2 semanas después del parto, y posteriormente a las 4 a 6 semanas la leche materna es considerada como leche madura

Componentes nutricionales de la leche humana

Los componentes nutricionales de la leche humana se derivan de 3 fuentes:

- por síntesis en el lactocito
- la dieta materna
- reservas maternas de nutrientes

En general, la calidad nutricional de la leche humana es altamente conservada, pero centrándonos en la dieta materna de acuerdo a las características de esta pueden variar las concentraciones de vitaminas y ácidos grasos.

La gestación y la lactancia son procesos anabólicos controlados por hormonas en los que se dirigen los nutrientes a través de tejidos especializados como la placenta y la glándula mamaria, promoviendo la transferencia de estos al feto y neonato en desarrollo. Las madres adolescentes requieren para ellas mismas estos nutrientes para su propio desarrollo. para la determinación de la composición de la leche materna en madres adolescentes se llevó a cabo un estudio en 2011 en Rio de Janeiro donde se analizaron muestras de 51 madre

menores de 18 años a las cuales se les estandarizo de acuerdo a su índice de masa corporal para conocer su estado nutricional y se obtuvieron muestras en diferentes semanas de la lactancia. En este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de macronutrientes en la leche de adolescentes comparada con madres adultas. En cuestión de micronutrientes se encontró únicamente concentraciones de zinc más bajas a los valores considerados normales.⁵

MACRONUTRIENTES

La composición de macronutrientes de la leche materna varía dentro de la población materna en general y a lo largo de las etapas de la lactancia pero se conserva notablemente a pesar de las variaciones en el estado nutricional materno. La composición de macronutrientes promedio de la leche madura se estima en aproximadamente 0,9 a 1,2 g / dl para las proteínas, 3.2 a 3.6 g / dL para la grasa, y 6.7 a 7.8 g / dL para la lactosa.

Estimaciones de energía varían entre 65 y 70 kcal / dl, y están altamente correlacionadas con el contenido de grasa de la leche humana.

La Composición de macronutrientes difiere entre prematuros y de término, con leche de los pretérmino que tiende a ser más alta en proteínas y grasas. Un estudio realizado en Davis, California examinó la asociación entre las características maternas y la composición de macronutrientes de leche humana y encontró que después de 4 meses después del parto, las concentraciones de macronutrientes de la leche humana se asocian con 1 o más de los siguientes factores: peso materno para la talla, la ingesta de proteínas, la paridad, el retorno de la menstruación. Este estudio también encontró que las madres que producen mayores cantidades de leche tienden a tener concentraciones grasa y proteínas más bajas, pero mayores concentraciones de lactosa.

Las proteínas de la leche humana se dividen en las fracciones de suero y los complejos de caseína, comprendiendo cada uno una notable variedad de proteínas y péptidos específicos.

Las proteínas más abundantes son caseína, a-lactoalbúmina, lactoferrina, IgA secretora (sIgA), lisozima, y albúmina de suero. El nitrógeno no proteico está contenido en compuestos como urea, ácido úrico, creatina, creatinina, aminoácidos, nucleótidos, y comprenden aproximadamente el 25% de nitrógeno leche humana.

El contenido de proteína de la leche obtenida de las madres que dan a luz un prematuro es significativamente mayor que la de las madres que dan a luz a término según algunos autores. Los niveles de proteína disminuyen en la leche humana durante las primeras 4 a 6 semanas o más de la vida. La concentración de proteína de la leche humana no se ve afectada por la dieta materna, pero aumenta conforme se incrementa el índice de masa corporal y disminuye en las madres que producen mayores cantidades de leche.

La grasa de la leche humana se caracteriza por un alto contenido de ácidos palmítico y oleico. La grasa es el macronutriente más altamente variable de la leche. La leche final, definida como la última leche de una tetada, puede contener de 2 a 3 veces la concentración de grasa de la leche que se encuentra en la leche inicial, definida como la leche inicial de una tetada. En un estudio donde se analizó la leche de 71 madres recolectada durante un período de 24 horas encontró que el contenido de grasa de la leche fue significativamente menor en la noche y por la mañana; en comparación con aquella obtenida por la tarde. Otro estudio encontró que aproximadamente el 25% de la variación en la concentración de lípidos en la leche materna puede ser atribuido a la la ingesta materna de proteínas.⁶

El perfil de ácidos grasos de la leche humana varía en relación a la dieta materna, en particular en los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL). Ingesta AGPICL en el mundo occidental está sesgada hacia los ácidos grasos ω -6, con la ingesta subóptima de ácidos grasos ω -3 grasos. La concentración de ácido docosahexaenoico (DHA) en Norte América por lo que su suplementación debe ser considerada en las mujeres que amamantan.

La lactosa es el disacárido principal en la leche humana. su concentración es la menos variable dentro de los macronutrientes pero esta se encuentra en mayores concentraciones en aquellas madres que producen mayores cantidades de leche. Las muestras individuales de leche de donantes de madres de término van al menos 0,6 a 1,4 g / dl de proteína total, 1.8 a 8.9 g / dL para la grasa, 6.4 a 7.6 g / dL para la lactosa, y 50 a 115 kcal / dl para la energía. 1

Los ácidos grasos de cadena larga (LCPUFA) en especial el ácido araquidónico (ARA) y ácido decosahexanoico(DHA) son componentes presentes en el desarrollo del cerebro y de la membrana fosfolipídica de la retina, y por lo tanto importantes para la maduración neurológica y la función de la retina en la infancia. Estos ácidos en especial el DHA son transportados a través de la placenta al feto en desarrollo y acumulados en el cerebro del feto en el último trimestre de la gestación, por lo tanto en los recién nacidos prematuros tendrán reservas disminuidas de LCPUFA. Al nacer la síntesis de los mismos es relativamente baja por lo tanto el suministro de estos ácidos grasos depende de las cantidades de estos en la leche humana. La cantidad de LCPUFA en la leche materna depende del número de gestaciones, la dieta materna, el estadio de la lactancia, con el objetivo de comprobar si la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga contenidos en la leche materna se ve influenciada por la duración de la gestación.

se realizó un estudio en el centro médico de Kaplan en Israel donde se analizaron las muestras de leche humana obtenidas de 41 madre (20 de bebes de termino, 21 de bebes pretermino) entre el 4-5 día, 10-11 días y 14-15 días todas obtenidas posterior a la primera toma del día. el contenido de grasa fue analizado por la técnica del crematocrito medico por un tubo capilar centrifugado a 8000 rpm por 5 minutos posteriormente el contenido de grasas fue analizado y tipificado a través de cromatografía. las madres fueron interrogadas con respecto

al tipo de aceite consumido y la cantidad de pescado ingerido. Encontrando en este estudio que no había diferencias significativas en el contenido de grasas con respecto a gestaciones de término y pretermino, se encontraron mayores cantidades de ácidos grasos de cadena media específicamente ácido laurico y ácido mirístico suponiendo entonces que estos son de más fácil y rápida absorción que los ácidos grasos de cadena larga para los prematuros. Principalmente en los primeros días de vida se encontró este predominio de ácidos grasos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a ácidos grasos esenciales (ácido linoleico, alfa linoleico. con respecto a LCPUFA en específico DHA y ARA cuando se comparó la leche materna de nacimientos de término vs pretermino no se encontraron diferencias estadísticamente significativas incluso cuando se comparó con los nacimientos de preterminos extremos. ARA término $0.97 \pm 0.2\%$ versus pretermino $1.15 \pm 0.28\%$ y DHA término 0.68 ± 0.36 versus $1.06 \pm 0.49\%$ concordando con otros estudios similares Genzel Boroviczeny y cols 2-4 y Luukkainen, en este último estudio se encontró también que los niveles de DHA y ARA presentan un descenso marcado en las muestras de leche a los 6 meses de lactancia. En contraste con estos resultados en el estudio de Bitman y cols. 5 Se observó que los niveles de ARA y DHA son mayores en la leche de madre que dan a luz a bebés de término comparada con muestras de madre de bebés prematuros (26-31 SDG). Concluyéndose con estos estudios que la cantidad de LCPUFA en la leche materna no compensa los requerimientos en los recién nacidos pretérminos. 6

MICRONUTRIENTES

Las vitaminas A, B1, B2, B6, B12, D y yodo varían en su concentración en la leche humana de acuerdo a las características de la dieta materna; por lo que se recomienda la ingesta de multivitamínicos durante la lactancia. Independientemente de la dieta materna, la vitamina K es extremadamente baja en la leche humana y, por tanto, la Academia Americana de Pediatría recomienda una inyección de esta vitamina para evitar la enfermedad hemorrágica del recién nacido. La vitamina D también se produce en poca cantidad en la leche humana, en particular cuando la exposición materna a la luz solar es limitada. 4

COMPONENTES BIOACTIVOS

Son definidos como aquellos elementos que afectan los procesos biológicos o sustratos y por lo tanto tienen un impacto en la función, y la condición corporal y por ende en la salud del organismo.

Los Componentes bioactivos en la leche humana provienen de múltiples fuentes; algunos son producidas y secretadas por el epitelio mamario, algunos son producidas por las células contenidas dentro de la leche, mientras que otros se han extraído de suero materno y transportado a través del epitelio mamario a través de receptores en su superficie. Además, la secreción del glóbulo de grasa

de leche (MFG) en la leche por el epitelio mamario lleva consigo una colección diversa de proteínas y lípidos de membrana en la leche. Juntos, estos conforman los componentes bioactivos en la leche humana.

DETERMINACION DEL CREMATOCRITO

Como ya se ha mencionado la concentración de diversos componentes de la leche humana varia a lo largo de la lactancia . las proteínas son uno de los componentes mas constantes en los distintos meses de la lactancia salvo en la leche temprana donde su composición es mayor debido seguramente al mayor contenido de IgA secretoria y proteínas plasmáticas. otro componente constante es la lactosa; mientras que los lípidos son los componentes que presentan mas variaciones obteniéndose los valores mas bajos de la leche temprana aumentando progresivamente durante la lactancia para proporcionar asi del 50-60% del valor calórico de la leche. dado que la grasa es el componente mas importante se han realizado diversos estudios para realizar su determinación de manera directa. En 1963 Fleet y Linzel encontraron un micrometodo para valorar en forma aproximada la concentración de lípidos de la leche . Inicialmente fue descrito para leche de ratas . consistía este método en la centrifugación de la leche en tubos capilares leyendo el sobrenadante (fracción de crema= crematocrito) expresándola en porcentaje. En 1978 Lucas y colaboradores ^{7 8 9} aplicaron el mismo método para la determinación del contenido calórico y lipídico de la leche humana un método barato y sencillo es realizar la determinación del crematocrito que consiste en un micro método simple para realizar la estimación del contenido de grasa y energía en la leche humana basado en la centrifugación ¹⁰; se expresa como el porcentaje de crema con respecto al total de la columna (tubo capilar). Se calculó mediante la siguiente formula:

$$\text{crematocrito} = \left(\frac{a}{a+b} \right) * 100$$

$$\text{valor calórico } y = 38.9 \times \text{valor del crematocrito} + 3.4 = \text{Kcal/100ml de leche}$$

En un estudio realizado por Vazquez –roman y cols. Se buscaron las diferencias en el contenido graso de la leche materna cruda y pasteurizada a lo largo de 3 meses de congelación. Encontrando mediante el uso del crematocrito. Encontrándose una disminución en el contenido graso y calórico en la leche cruda y pasteurizada tras la congelación a -20grados. ¹¹ Manteniéndose constante esta reducción en la leche cruda en comparación con la leche pasteurizada en donde la reducción solo se apreció hasta el primer mes. Esto se puede considerar secundario a un aumento en la actividad de la lipasa de la leche durante la congelación a -20°C produciéndose hidrolisis de los triglicéridos de tal forma que aumentan los ácidos grasos libres en la leche y se reduce la columna de crema en la columna. Describiéndose también en otros estudios que la pasteurización disminuye la actividad de las lipasas ^{12 13} por lo que la menor hidrolizacion explicaría que la medida del crematocrito sea menor en la leche pasteurizada que en la leche cruda. Lucas y cols ¹⁴ describieron que esta ruptura del glóbulo de grasa prodria provocar una falsa disminución del crematocrito. por lo que se genera la propuesta de realizar una fórmula de

crematocrito ajustada a esta variación para tener poder determinar valores con más confiabilidad.

Mayans y cols encontraron en un estudio de 80 muestras de leche encontrando que los valores de crematorito variaban de acuerdo al método de centrifugación utilizado (1200g por 15 minutos versus 3000g por 3 minutos) encontrando mayores valores de grasa para el mismo valor de hematocrito cuando se utilizaba el primer método de centrifugación ($r=0.91$) sin embargo se puede considerar una maniobra adecuada para calcular el aporte calórico que está recibiendo un lactante.¹⁵

Los lípidos son el componente más variable de la leche humana constituyendo un pequeño porcentaje de esta (aproximadamente 3.8 a 4.2 % y proveen la mayoría de las calorías contenidas en la leche humana. el contenido lipídico es uno de los factores mas importantes que determinan el crecimiento en los niños por lo tanto juega un rol importante la absorción de los lípidos y las vitaminas liposolubles. EL más conocido de los ácidos grasos es el ácido decosaheptaenoico (DHA) que es necesario para el neurodesarrollo, el colesterol al igual que este último es otro importante cofactor para la producción de mielina. Enfatizando que este no se encuentra contenido en la formulas infantiles. la composición de la leche humana depende de varios factores predominantemente. la edad gestacional al momento del nacimiento, tiempo de labor, y la fase de la lactancia. Se ha visto que la variación de la cantidad de lípidos varía de día a día en 2g/L sin embargo en el trabajo de Bozema y cols revelo que las variaciones de los lípidos son mayores a las referidas encontrando para recién nacidos de término: 5.5g/L para el calostro y para leche de transición; y para la leche madura 6.8g/L. estas variaciones difirieron en prematuros en los que se encontró: 2.0 g/L, 0.8 g/L y 10g/L para calostro, leche de transición y madura respectivamente.

La variación en cuanto a los componentes de la leche varía de acuerdo a las necesidades del neonato en desarrollo, en cuanto a la composición de proteínas e inmunoglobulinas. el calostro contiene una alta proporción de estas contenido 2.9g de lípidos y 580 kcal/L ; Heir and Lapillonne en su estudio estimaron concentraciones mas altas 5.39%, 37.55 g/L y 680.75 kcal/l para crematocrito, grasa y energía respectivamente. Sin embargo poco se conoce aun sobre la variación de los contenidos de lípidos y calorías en el calostro ya que la mayoría de estudios publicados lo evalúan en la leche madura . En algunos estudios se ha encontrado que el contenido de lípidos es mayor en la tarde-noche que en la mañana y menor en muestras obtenidas de madres de recién nacidos pretermino que en madre de recién nacidos de término^{16 17}. las concentraciones mayores de grasa y otros componentes fue el las muestras obtenidas por la noche en todos los tipos de leche.

La composición varía enormemente durante la primera semana . el calostro cambia a leche de transición producida entre el día 6 y 14 después del nacimiento, la concentración de proteínas e inmunoglobulinas disminuye mientras que se incrementan la concentración de lactosa, lípidos y energía . después de 2 semanas de lactancia la leche madura se torna mas alta en calorías con concentraciones mayores de lactosa y contenido de lípidos, y niveles de proteínas disminuidos. la cantidad de lípidos estimado en la leche madura es estimado en 38-50 g/L y el promedio de calorías de 700Kcal/L .

Variando con respecto a la población estudiada; por ejemplo en Inglaterra se estima 4.2 g/100ml , mientras que en la india 3.4g/100ml. en la mayoría de los estudios contenidos en la literatura se presentan un mayor contenido de calorías y lípidos en la leche de recién nacidos de término versus leche de recién nacidos prematuros la evaluación de la variabilidad del contenido de lípidos y calorías juega un rol importante ya que el principal objetivo en la nutrición de los recién nacidos pretermino es satisfacer una velocidad de crecimiento garantizando un apropiada cantidad de energía que se estima en 100-120 kcal/kg/ 24 horas por lo que la leche humana debe ser fortificada 6-12 para garantizar una adecuado crecimiento en especial en los recién nacidos de muy bajo peso al nacer.

IMPACTO DE ALMACENAMIENTO EN BANCOS DE LECHE HUMANA

BANCOS DE LECHE

El banco de leche es un centro generalmente vinculado a un hospital de maternidad especializado para el procesamiento de la leche humana , su finalidad es establecer una reserva de la leche humana pasteurizada para asegurar el derecho de los recién nacidos a una alimentación segura y oportuna ; siendo el servicio de bancos de leche el responsable de promover, proteger y fomentar la lactancia materna, realizando actividades de recolección , procesamiento, control de calidad y distribución de la leche humana todos los tratamientos aplicables en el banco a las muestras donadas pueden ser eficaces para el mantenimiento de su calidad .

En la actualidad la mayoría de las mujeres en período de lactancia en Norteamérica ahora expresan y almacenan su leche en cualquier momento. A pesar de la insuficiencia demostrada de algunos nutrientes como las proteínas , calcio , fosforo, zinc, hierro, sodio y algunas vitaminas , la leche materna es el alimento que se prefiere para lactantes en extremo prematuros y para el prematuro en general, a causa de su composición, biodisponibilidad aumentada de nutrimentos, propiedades inmunitarias y la presencia de hormonas, enzimas y factores de crecimiento.¹⁸ La magia esta en forma de extraerla, conservarla , manipularla y administrarla en el recién nacido, como complementarla con los nutrientes deficitarios y determinar hasta cuando es necesaria esa suplementación.¹⁹

La leche materna directa tiene ventajas sobre la leche de banco , incluso cuando se logre tener un banco de leche materna del prematuro con similitud de edades gestacionales. La leche materna directa aporta los macronutrientes con las características propias de su edad gestacional. Lo que garantizaría lo ya descrito en la literatura de que la leche de pretermino tiene un mayor tenor de proteínas que la de término y aporta los aminoácidos esenciales como la taurina, carnitina cisteína, y tirosina. Con menor composición de aminoácidos

aromáticos esenciales, y condicionalmente esenciales como taurina, carnitina, cisteína, y tirosina con menor composición de aminoácidos aromáticos; además ofrece la ventaja de mantener intactos los factores inmunológicos celulares. 5

Diversos grados de pérdida de nutrientes se producen con los diferentes métodos de almacenamiento. Dependiendo del nutriente y los métodos de almacenamiento. Para la vitamina C la pérdida se produce rápidamente, incluso durante el proceso de alimentación de leche materna recién extraída a una botella. Para múltiples componentes la degradación significativa puede ocurrir sólo con el almacenamiento a largo plazo y ciclos hielo-deshielo, que tienden a reducir la capacidad bactericida.

El crecimiento de microorganismos en un medio depende de una serie de factores entre los cuales merecen descartar la presencia de barreras físicas y químicas, la concentración de nutrientes, la temperatura, la actividad del agua; siguiendo una progresión geométrica de razón de 2; cuanto más favorables estuvieran las condiciones del medio en el cual se encuentran menor será el tiempo de generación y consecuentemente mayor la velocidad de crecimiento. uno de los mecanismos iniciales para reducir la producción bacteriana es a través de la disminución de la temperatura de esta manera las reacciones enzimáticas van tornándose progresivamente más lentas, reduciéndose consecuentemente el crecimiento bacteriano. se puede decir por tanto que la temperatura de 7°C es considerada límite para el crecimiento de microorganismos patógenos en la leche ordeñada.

La Academia de Medicina de Lactancia protocolo de almacenamiento en el hogar de la leche humana se puede utilizar para guiar a las madres en estas actividades para optimizar la integridad de la leche extraída y almacenada. Otro movimiento importante ha sido el desarrollo de la distribución de la leche a través de donantes bancos de leche humana o, alternativamente, a través de compartir la leche por Internet. Debido a la percepción del riesgo de transmisión de agentes patógenos a través de la leche materna, una variedad de protocolos se han desarrollado para la pasteurización de la leche de donantes, incluyendo: (HTST) calefacción de alta temperatura en tiempo corto (72°C durante 15 segundos); Pasteurización Holder (62.5°C durante 30 minutos); y calefacción flash (un método HTST de baja tecnología que consiste en calentar una jarra de leche en un baño de agua, que se pone rápidamente a un punto de ebullición, y posterior enfriar rápidamente). Calefacción flash fue desarrollado con el objetivo de lograr la pasteurización eficaz en directamente en el hogar en zonas de escasos recursos alrededor del mundo para prevenir la transmisión del VIH. La leche pasteurizada a 62.5°C durante 30 minutos presenta una reducción parcial del contenido de lactoferrina, lisozima e IgA, con pérdida de algunas células de defensa y preservando los demás factores. A pesar de la reducción del 30% de la cantidad total de IgA, su valor biológico permanece inalterado²⁰

Cada método de pasteurización se ha investigado por su capacidad para eliminar los patógenos preservando al mismo tiempo la mayor cantidad de componentes

bioactivos y nutrientes como sea posible. Desafortunadamente, el tratamiento térmico de la leche humana reduce la concentración y la funcionalidad de sus componentes bioactivos, en particular en la composición y función de la proteína. Las reducciones significativas se han demostrado después de la pasteurización en IgA, lisozima, BSSL, citoquinas, lipasas, TGF- β , y adiponectina, entre otras proteínas. Las alteraciones en la composición de la leche se observan con todos los métodos de pasteurización pero en general estas se altera en mayor cantidad cuando se combina con los ciclos de congelación-descongelación que pueden ocurrir con leche donada. El grado de impacto parece variar según el método de pasteurización. Hervir el agua es probablemente la más perjudicial, mientras que la pasteurización Holder, el método utilizado por los bancos de leche asociados con la leche Asociación Bancaria Humana de América del Norte, puede ser más destructivo que HTST. Aunque un método de baja tecnología, el tratamiento de flash-calor parece preservar la actividad bacteriostática de la leche humana. Queda mucho trabajo por hacer en cuanto a la bioactividad de los componentes de la leche materna después del tratamiento de la leche.

La leche donada es una de las principales alternativas cuando la leche materna no está disponible especialmente para recién nacidos prematuros, acompañándose esta elección de leche con el amplio potencial de beneficios cuando se compara con fórmulas. No existen guías acerca de la selección, procesamiento y almacenamiento de la leche humana completamente estandarizadas a través de los bancos de leche alrededor del mundo. Por lo tanto las técnicas actuales para la verificación de la calidad de la leche humana donada está en constante revisión. Una de las técnicas es la determinación de la acidez. La acidez total de la leche comprende la acidez natural de la leche (provista por la caseína, minerales y ácidos orgánicos) y la acidez desarrollada (relacionada al ácido láctico y otros ácidos orgánicos obtenidos de la degradación de la lactosa. La acidificación de la leche materna ha mostrado causar una disminución de las células blancas, reducir la actividad de la lipasa, y conteo reducido de las proteínas totales. la lipoproteinlipasa no es estable a PH menor de 5 y las sales biliares estimulan la lipasa, para neutralizar a el PH a un valor óptimo. (PH 7.3- 8.6). Por otro lado es conocido que en un ambiente ácido, la fracción de la caseína se desnaturaliza y se precipita resultando una leche inestable al calor. la pasteurización de Holder (62.5°C por 30 minutos) es el método más ampliamente usado para alcanzar la seguridad microbiológica en la leche donada. Actualmente los bancos de leche utilizan el método de Dornic para determinar la acidez aceptando que la leche donada es adecuada para su procesamiento cuando la acidez por el método de Dornic es de 8 ° o menos, siendo la acidez de la leche en condiciones normales entre 6.5 y 6.9 de pH. .

En el estudio realizado por Escudero y cols. Encontró que la leche donada con 8°D de acidez tenían un PH de 6.57. Un límite debajo del cual no es ideal la pasteurización de la leche donada. Mientras que un Ph de 7.12 indica una acidez y un valor de 4°D. Como resultado la leche donada con un PH de 7.12 o arriba puede ser considerada como de alta calidad. Encontrando en este estudio

que la leche donada con un pH por arriba de 6.57 puede ser aceptada para su procesamiento en banco de leche.²¹

COMPONENTES DE LA LECHE HUMANA EN RELACIÓN CON LA SALUD INFANTIL.

El reconocimiento de la variabilidad dinámica de la leche humana es importante para la gestión de la alimentación con leche humana. Por ejemplo, las madres de los recién nacidos a término se les aconseja habitualmente para vaciar toda una mama antes de la alimentación de la otra mama. Como la leche del final es más densa en energía debido a su mayor contenido de lípidos, esta recomendación se asegura que las necesidades de saciedad y energía infantiles necesarias para el crecimiento están bien atendidas. La leche del final se ha utilizado con éxito para mejorar el crecimiento de los bebés muy prematuros, y se recomienda para su manejo nutricional.

Algunos factores de leche pueden ser modificados a través de la ingesta alimentaria o exposiciones para optimizar el crecimiento y la salud infantil. Por ejemplo, la dieta materna influye en el contenido de DHA de la leche, que está por debajo de los niveles recomendados en muchas poblaciones. Valentine y cols ha demostrado que la suplementación materna con 1 g de DHA preformado diaria aumenta significativamente los niveles de DHA de la leche, que por lo tanto mejora la DHA en la dieta de los bebés alimentados con leche materna. Otro enfoque a la modificación de la leche humana es a través de la inmunización materna, que está siendo perseguido activamente como una estrategia de salud pública. Los ensayos de inmunización materna han demostrado un aumento significativo en el nivel de inmunoglobulinas protectoras de la leche y han reducido drásticamente la gripe en las madres y los recién nacidos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La lactancia materna según cita la UNICEF en los lactantes menores de los 2 años de edad tiene una repercusión importante en la supervivencia más que cualquier otra intervención preventiva ya que puede evitar 1.4 millones de muertes en los menores de 5 años en el mundo en desarrollo. Las tasas de lactancia materna en muchos países han aumentado significativamente en la última década encontrando que el 38% de los niños de menos de seis meses de edad en el mundo en desarrollo reciben leche materna exclusiva. La leche materna proporciona todos los nutrientes, vitaminas y minerales que un bebé necesita para el crecimiento durante los primeros 6 meses de vida; de especial importancia radica el hecho de que en México cerca de 1 millón de recién nacidos por año están en riesgo de presentar algún defecto de nacimiento al nacimiento o padecer alguna de sus secuelas vinculadas a asfixia, prematuridad, bajo peso, genopatías por lo que serían candidatos a leche donada por diversas circunstancias como su condición física, duelo materno por defecto, separación o enfermedad.

Los recién nacidos prematuros y de bajo peso además de la inmadurez de sus funciones digestivas e inmunológicas presentan necesidades nutricionales y tienen poca capacidad para tolerar el ayuno. En ellos se inicia la introducción precoz de la vía oral conocida como estimulación trófica (en muchos casos gracias a la donación en los bancos de leche humana) la cual tiene como función además de su efecto trófico sobre la mucosa a causa de factores como la insulina, gastrina, colecistoquinina, acelera también la maduración intestinal con elementos como la taurina, glutamina, y los nucleótidos. En los países en desarrollo ya sea por el riesgo biológico asociado a la utilización de fórmulas o por el elevado costo de los productos disponibles en el mercado, otorgar leche humana es garantizar el alimento y la nutrición adecuada y la disminución de la morbi-mortalidad neonatal; este acceso a la leche humana debe ser planeado estratégicamente por los bancos de leche humana, para garantizar que el producto ofertado presente inocuidad sin perder su alto valor biológico. Por lo tanto se han planteado las siguientes preguntas.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

1. ¿La congelación de la leche humana, modifica el contenido energético, medido mediante la determinación de crematocrito?
2. ¿La Pasteurización de la leche humana donada durante media hora a 62.5 grados, garantiza la inocuidad biológica de éste, entregando un producto estéril?

JUSTIFICACION

En la actualidad gracias a los bancos de leche humana los recién nacidos en terapias intensivas neonatales cuyas madres se ven imposibilitadas de brindar lactancia materna se ven beneficiados de la leche humana. Por lo tanto resulta importante el conocer con exactitud la cantidad de los componentes contenidos en la leche humana donada que se les proporciona a nuestros recién nacidos en la terapia neonatales del Instituto Nacional de Perinatología con el objetivo de conocer si cumple con los estándares nutricionales requeridos, así como si los métodos empleados para su procesamiento no reducen la concentración de estos.

La composición de la leche humana está sujeta a una serie de variaciones que pueden ser ocasionadas por factores inherentes a la propia fisiología de la lactación o derivados de la acción de agentes externos, estos cambios en la composición de la leche implican modificaciones en sus propiedades fisicoquímicas. por lo tanto es preciso que se tengan medios capaces de detectar tales modificaciones en el momento en que el producto es sometido a selección y clasificación. De manera ideal se debe contar por lo tanto con la historia de la leche donada conteniendo la identidad de la donante, la localización de la donación, la fecha de recolección, las condiciones pre y postalmacenamiento. así como datos del transporte . etc. Con el objetivo de garantizar con esto una alta calidad del producto distribuido.

OBJETIVOS

1. Determinar la densidad calórica de la leche humana donado posterior a la congelación mediante la fórmula estandarizada para determinación del crematocrito.
2. Determinar la eficacia de la pasteurización en la inocuidad de la leche, mediante el cultivo postpasteurización.

METODOS

TIPO DE DISEÑO

Longitudinal
Comparativo: parte microbiológica

POBLACIÓN BLANCO:

Leche humana donada al banco de leche humana del instituto nacional de Perinatología de febrero 2015- julio 2015.

CRITERIOS DE INCLUSION:

- 1.- Leche de madres donadoras
2. Que se realicen todas las pruebas incluidas en este estudio a las leche donada
3. Consentimiento de donación de la donadora
4. Leche pasteurizada donada

CRITERIOS DE EXCLUSION

1. se eliminara aquella muestra que por algún motivo no se realizaron las pruebas
2. Se descarta aquellas muestras de leche que no cuenten con el embalaje color, olor, off flavor adecuados al momento de la recepción por el Banco de Leche.
3. pruebas positivas de VDRL, Hepatitis, sífilis, VIH.
4. presencia de transfusiones sanguíneas en los últimos 5 años.
5. toxicomanías positivas: tabaquismo, alcoholismo, drogas.

METODOLOGIA

RECOLECCION DE DATOS DE LA LECHE HUMANA DONADA

La recolección de la leche humana podrá ser realizada a través de extracción manual o por bombas de succión manual o eléctrica, por estas últimas se recomienda que el artefacto que entre en contacto directo con la mama sea esterilizado antes de cada recolección y una vez que el receptáculo este lleno verter la leche para el frasco presionando la pera de goma, para evitar el contacto directo de la leche con esta. Los primeros chorros de leche deberán de ser descartados. emplear para la recolección un vaso de vidrio previamente sumergido en agua hirviendo por 15 minutos y enfriado para extracción manual seguir la técnica descrita a continuación:

- hacer asepsia y antisepsia con agua y jabón de las manos intentando al máximo que la leche pueda ser contaminada
- secar las manos con una toalla limpia
- hacer masaje circular de la base de la mama en dirección al pezón
- estimular suavemente los pezones estirándolos o rodeándolos entre los dedos
- colocar el pulgar sobre la mama, donde termina la areola y los otros dedos abajo en el borde de la areola.
- comprimir la areola y mama subyacente contra las costillas; a través de los dedos pulgar e índice.
- extraer la leche y descartar los primeros chorros de cada lado

- repetir el movimiento en forma rítmica , rodando a posición de los dedos alrededor de la areola para vaciar todas la áreas
- alternar las mamas a cada 5 minutos o cuando disminuya el flujo de leche . repetir el masaje y ciclo tantas veces como sea necesario.
- después del ordeño pasar un poco de leche por los pezones.

Una vez inmediatamente después de la extracción el producto debe ser sometido a un enfriamiento rápido con el fin de obtener una temperatura igual o inferior a 5°C con el fin de garantizar la disminución de la velocidad de la ruta metabólica de los microorganismos contaminantes.

TRANSPORTE DE LECHE DONADA DE MANERA EXTERNA(EXTRAHOSPITALARIA)

Transportar la leche acumulada posterior a la extracción mediante la utilización de cajas isotérmicas (elaboradas de material que presente baja conductibilidad térmica como telgopor y corcho,; revestidas de material impermeable como PVC de modo que se garantice su limpieza y sanidad. Dado que las cajas disponibles en el mercado presentan baja eficiencia térmica en el criterio de aislamiento la leche debe ser almacenada en estas por un periodo máximo de 6 horas y es necesario utilizar una masa de frio(hielo) con el objetivo de garantizar o similar la cantidad de calor provista por el ambiente. se empleara una masa de hielo equivalente a tres veces la masa de leche ordeñada. Garantizando que las temperaturas limítrofes para transporte sean:
productos refrigerados – máxima de 5°C

productos de congelados -- temperatura de -3°C o inferior.

RECEPCION DE LA LECHE HUMANA CRUDA EN LOS BANCOS DE LECHE

Al momento de la recepción del producto por el banco de leche se debe verificar:

- Que la leche fue transportada dentro de las condiciones ideales de temperatura
- que el embalaje contenga la identificación de la donante así como la fecha de inicio de la recolección del producto
- presencia de alteraciones, suciedades, estado físico de la leche y sellado del frasco o bolsa.
- los frascos que contienen producto deben de ser limpiados con un paño humedecido con alcohol al 70°GÑ que debe ser friccionado por 15 minutos en toda la superficie del embalaje.

- proceder al procesamiento del producto de manera inmediata:
- el tiempo de pre-almacenamiento de la leche cruda debe ser el menor posible

Se permite el pre-almacenamiento del producto crudo apenas bajo congelamiento, por el plazo máximo de 15 días ; hasta que se realice su procesamiento esta deberá ser conservada a temperatura de -3°C inferior.

DESHIELO DE LA LECHE HUMANA ORDEÑADA CRUDA

La leche humana cruda deberá ser sometida al proceso de descongelación (deshielo) que consistirá:

PRIMERA FASE: implica la utilización de calor para realizar la elevación de la temperatura del producto hasta su punto de congelamiento de -0.55°C en el cual ocurre el cambio de la fase solida a la liquida

FASE SUBSECUENTE: Una vez descongelado el producto si continua el proceso de calentamiento , todo el calor cedido será sensible y provocara la elevación de la temperatura

Se realizará el análisis de la leche humana donada de la siguiente manera para su procesamiento:

VERIFICACION DEL EMABALAJE

La verificación del embalaje de la leche humana deberá ser realizada en el momento de la recepción por el banco de leche deberán ser desechados aquellos embalajes que contengan algún daño en su superficie , del tipo de quebraduras, ralladuras.

también se descartaran los embalajes que no estén cerrados en forma inadecuada, o que posibilite el contacto con el medio exterior.

se descartaran de igual manera los embalajes que no presenten el rotulado correcto.

COLOR

DEFINICIONES DE NORMALIDAD		
TIPO DE LECHE	COLOR	CONSIDERACIONES
CALOSTRO	Amarillo-anaranjado	
LECHE DE TRANCION	Blanco azulado	
LECHE MADURA		ALTERADO POR:

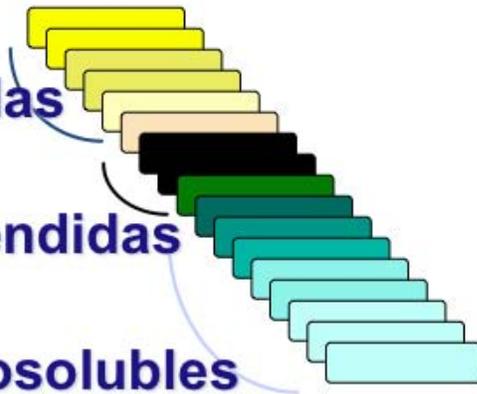
	rosa-rojo-naranja	Dieta materna (colorantes de gaseosas, jugos, gelatinas)
	verde	Grandes cantidades de vegetales (rivotravina). bebidas deportivas (verdes) ingestión de algas marinas.
	amarillenta	Leche congelada
	Rosado- rojizo	Contaminación por sangre

Color

Partículas Emulsificadas

Partículas Suspendidas

Partículas Hidrosolubles



Colores anormales :



La evaluación del color deberá ser realizada de preferencia por 2 analistas habilitados con el objetivo de determinar probables alteraciones que caracterizan la leche humana como impropia para consumo humano. el resultado final deberá reflejar el consenso de las evaluaciones individuales

CLASIFICACION SEGÚN COLOR.-

COLORACION NORMAL.- el color blanco de la leche resulta de la dispersión de la luz reflejada por los glóbulos de grasa, por las partículas coloidales de caseína y por el fosfato de calcio. La homogenización torna la leche más blanca, por la mayor dispersión de la luz. El color amarillento proviene del caroteno, que es liposoluble.

COLORACION ANORMAL.- los colores anormales pueden resultar del crecimiento microbiano como el color rojo causado por la bacteria *Serratia marcescens* y el verde por la bacteria *Pseudomonas*. para el producto sea considerado válido para el consumo debe conocerse la dieta de la donante. de lo contrario y si se tiene dudas acerca de la causa de la coloración esta debe ser desechada.

DETERMINACION DE OFF-FLAVOR

La leche humana es un fluido de reacción levemente alcalina o próxima a la neutralidad, cuyo sabor se muestra suavemente endulzado durante los primeros 30 días de lactancia; a consecuencia de la relación clorato/lactosa. estos dos componentes son los responsables de mantener la presión osmótica de la leche

FLAVOR PRIMARIO.- al inicio de la lactancia se observa una tendencia a la elevación de los cloratos con disminución proporcional de la lactosa lo que determina el favor primario (dulce) y posterior tiende a un patrón ligeramente salado a partir del 5to mes de lactancia.

FLAVOR SECUNDARIO.- aparece en la leche humana derivado de alteraciones en su composición o debido a la incorporación de sustancias volátiles(perfumes cosméticos), provenientes del medio ambiente resultantes del crecimiento bacteriano. en estos dos últimos casos el flavor secundario pasa a ser denominado OFF FLAVOR y su presencia descalifica la leche para su consumo.

TIPOS DE OFF-FLAVOR	
POR QUIMICOS	Absorbe aroma de productos como perfumes o cosméticos. u otros productos como olor a cloro, plástico.
MICROORGANISMOS	
Microorganismos lipoliticos	Rancio hidroelectrolítico—olor a agua de coco
Microorganismos proteoliticos	Olor semejante a pez y/o huevo en fase de descomposición

La determinación del OFF-FLAVOR debe ser realizada de preferencia por 2 analistas habilitados en sentir el olor de la leche ordeñada, el resultado final debe de reflejar el consenso de las percepciones individuales

DETERMINACION DE LA ACIDEZ TITULABLE- METODO DORNIC

La acidez original de la leche humana resulta de la presencia de sus constituyentes (tales como caseína, sales minerales, proteínas del suero). Mientras que la acidez desarrollada deriva del ácido láctico producido a partir del crecimiento bacteriano (las bacterias fermentan la lactosa produciendo ácido láctico; cada molécula de lactosa produce 4 moléculas de ácido láctico). Cuanto mayor es la cantidad de ácido láctico producido disminuye la biodisponibilidad de calcio y de fosforo en la leche humana ordeñada.

DETERMINACION DEL CREMATOCRITO

La leche humana reúne una composición de más de 250 sustancias diferentes distribuidas en forma jerárquica y compartimentada; integrando tres subsistemas o fracciones: emulsión, suspensión y solución.

FRACCION DE EMULSION.- congrega los componentes liposolubles grasa , aceites, vitaminas, pigmentos y algunos ácidos grasos libres.

LA FRACCION DE SUSPENSION.- Esta constituida por micelas de caseína formadas por subfracciones como la K caseína , B caseína. la fracción caseína forma una suspensión coloidal tipo gel , cuya estabilidad es dada por la fracción K caseína que envuelve a la micela.

FRACCION SOLUCION.- reúne al agua principal constituyente de la leche humana, que presenta concentración de 87% p/v las tres fracciones representan una relación de proporcionalidad entre si;. Sin embargo se conoce que al haber mayor contenido de grasa mayor será el aporte energético y menor será la concentración de inmunobiologicos.

METODO DE DETERMINACION DE CREMATOCRITO.

Tras la homogenización del frasco de leche humana se debe extraer aproximadamente 1 ml del mismo con una pipeta y se trasfiere el contenido a un frasco de PVC con tapa.

calentar las muestras obtenidas en baño María a 40°C durante 10 minutos

una vez transcurrido el tiempo preestablecido extraer de forma independiente 3 alícuotas de 75 microlitros en un tubo capilar

cerrar uno de los extremos con plastilina

disponer los capilares en la centrifuga , posicionando las extremidades cerradas en la dirección de la centrifuga (hacia afuera)

posicionar los capilares siempre de 2 en 2 , en diagonal de modo de equilibrar el plato de la centrifuga.

centrifugar por 15 minutos

proceder a la lectura tras la centrifugación con la siguiente formula

RESULTADOS

TENOR DE CREMA

columna de crema (mm) x 100/ columna total mm= % de crema

TENOR DE GORDURA

(% de crema-0.59) / 1.46= % de grasa

CONTENIDO ENERGETICO TOTAL

(% de crema x66.8 + 290) = kcal/ litro

Dado que de cada frasco se recogieron 3 capilares el valor final corresponde a la media aritmética encontrada.

ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Evaluación de la presencia o ausencia de microorganismos contaminantes, con el objetivo de garantizar la calidad de un producto, En el caso de la leche humana, este análisis es hecho a través de la investigación de coliformes totales. El control de la muestra es variable en distintos bancos, sin embargo en la mayoría de los bancos se realiza un control postpasteurización y se rechazan aquellas muestras que demuestren contaminación.

PASTEURIZACION DE LA LECHE HUMANA ORDEÑADA

TÉCNICA

El equipamiento es considerado estable y listo para entrar en operación cuando la luz piloto se enciende y apaga 3 veces consecutivas y la temperatura de la operación se mantiene estable.

cargar la pasteurizadora con los frascos con la leche a ser pasteurizada.

frascos estandarizados con 100 ml totales de contenido.

en función del desprendimiento de aire disuelto en la leche humana durante el proceso de calentamiento, se recomienda que las tapas estén a $\frac{1}{4}$ de vuelta del cierre total. (embalaje semicerrado)

iniciar la marcación del tiempo de letalidad térmica(30 minutos) a partir del momento en el que la temperatura de la leche humana alcanza la marca de 62.5°C.

el tiempo de procesamiento dependerá del tipo, volumen, y del número de frascos utilizados durante la pasteurización.

transcurridos los 30 minutos de letalidad térmica, promover el enfriamiento de los frascos hasta que la leche humana alcance una temperatura igual o inferior a 5°C. (a través del enfriador automático.)

Posteriormente se realiza el control bacteriológico, pospasteurización

PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO

Se realizaron porcentajes y medidas de tendencia central y de dispersión para el análisis descriptivo y en caso de ser posible para la comparación entre los cultivos pre y postpasteurización, chi cuadrada.

RESULTADOS

Se analizaron 455 muestras, durante el periodo de tiempo de febrero 2015 a junio 2015 en el banco de leche humana del instituto nacional de se obtuvieron en total 67.130 litros de leche humana de 30 donadoras.

De las cuales solamente se analizaron las muestras de 17 donadoras. Correspondiente a 32.130 litros de leche humana donada.

Se obtuvo como ya se mencionó 2 ml de cada frasco de 100ml que se sometió posterior a pasteurización para su distribución y de esos 2 ml se obtuvo la detección del crematocrito con el método anteriormente descrito. 1.9 litros muestras se descartaron por no contar con un adecuado embalaje. Resultando un total de 348 muestras para el análisis

Se obtuvo de manera inicial el contenido de crematocrito de todas las muestras encontrando lo siguiente: GRAFICA 1

30% de la muestra presento un valor oscilante entre 400-500 mm.

27% valores menores de 500mm

25% valores entre 600-700mm

8% valores entre 700-800mm

Posteriormente se obtuvo mediante la formula de Lucas para el crematocrito para el contenido de grasa y calórico con respecto a las muestras obtenidas encontrándose que una media para aporte calórico de la leche humana donada de 515.9 kcal/L una mediana de 572.2 kcal/L. TABLA 1

Con unos valores de percentiles de 486.4 kcal/L, 572.2 kcal/L y 613.2kcal/L para los percentiles 25, 50 y 75 respectivamente.

mientras que para el aporte lipídico se encontró una media de 3.4gr/dl , mediana 3.8gr/dl, con una distribución de percentiles de 2.5 gr/dl, 3.8 gr/dl, 4.4 gr/dl para los percentiles 25, 50 y 75 respectivamente.

Se procedió a comparar posteriormente el mes de recolección de las muestras con el contenido de grasas y de lípidos. ver GRAFICAS 2 y 3 . Para el contenido de lípidos la media fue de 5.21g/dl, 4.26g/dl, 3.16g/dl, 3.42g/dl, 3.33g/dl, 3.88g/dl para los meses de febrero a julio respectivamente. Mientras que para el contenido de calorías los valores fueron de 700kcal/L, 580kcal/L, 450kcal/L, 520kcal/L, 510 kcal/L/ 580kcal/L.

Se tomaron muestras para la realización de cultivos encontrando que 81 muestra de 1 sola donadora resultaron positivas para Enterobacter cloacae/ Klebsiella oxytoca: este lote fue pasteurizado posterior a lo cual el cultivo resulto negativo, brindándose de esta manera una vez confirmada su inocuidad biológica seguro para su distribución. TABLA 2

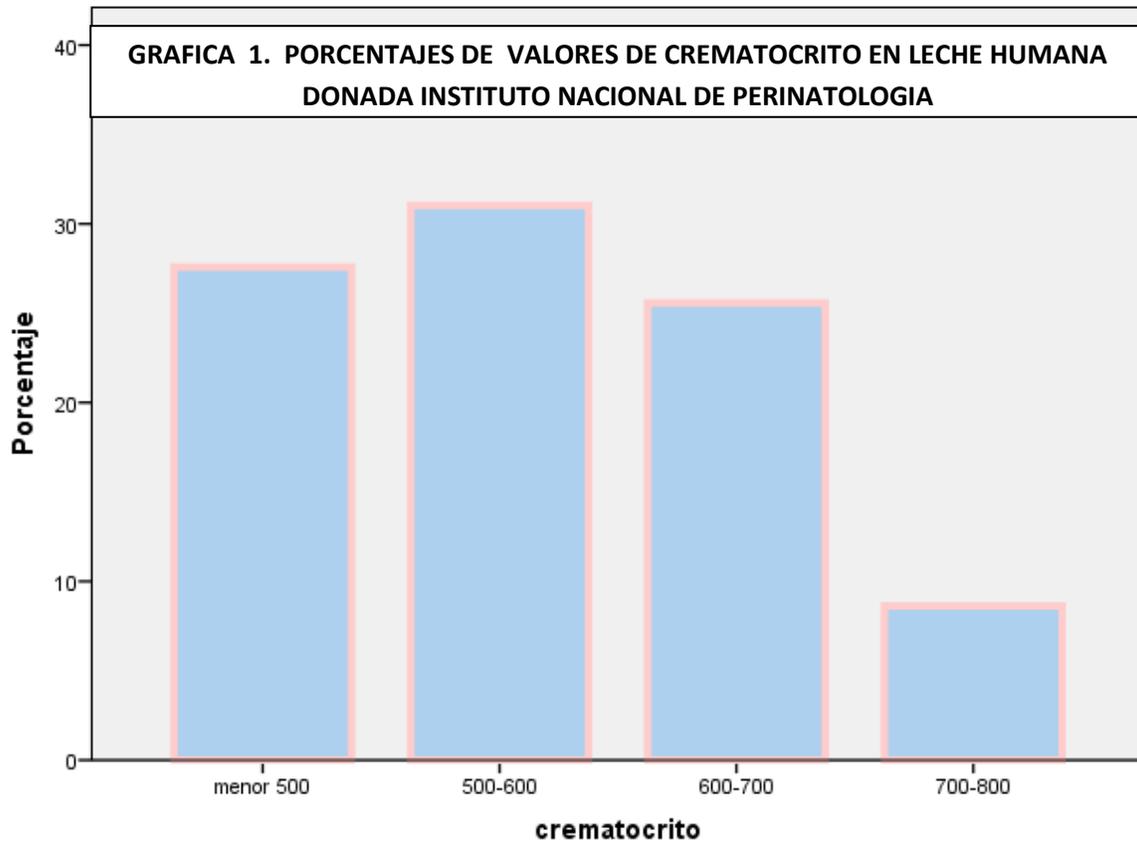
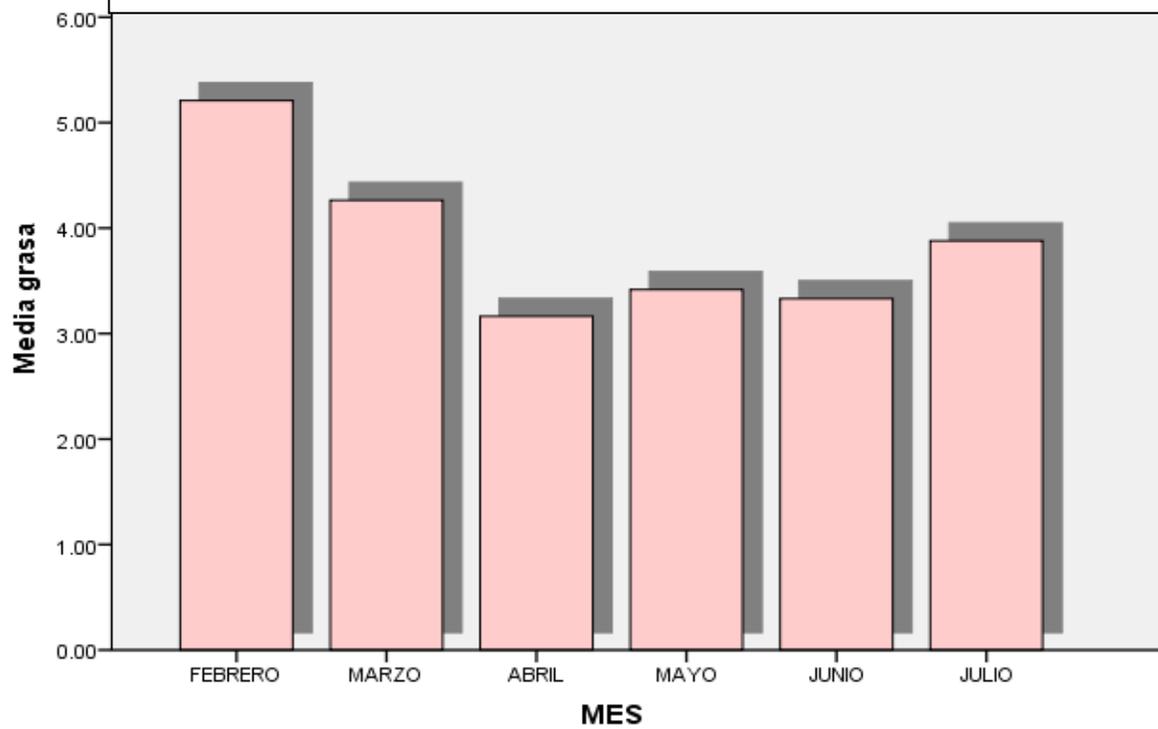


TABLA 1 . MEDIA Y PERCENTILES DE DISTRIBUCION DE GRASA Y CALORIAS DE LA LECHE HUMANA DONADA

	CALORIAS	GRASA
MEDIA	515.9429	3.4591
MEDIANA	572.2800	3.8200
PERCENTIL 25	486.4700	2.5400
PERCENTIL 50	572.2800	3.8200
PERCENTIL 75	613.2300	4.4300

GRAFICA 2 MEDIA DEL CONTENIDO LIPIDICO DE LA LECHE HUMANA DONADA



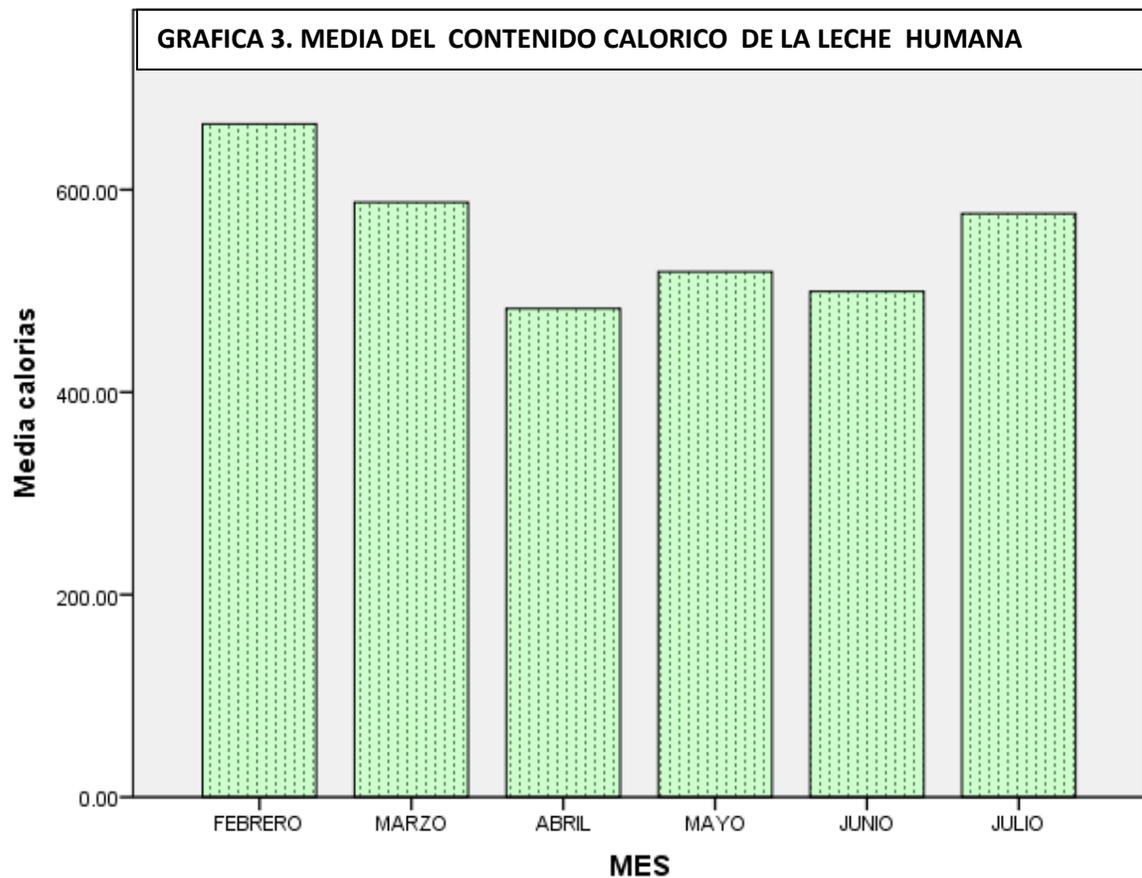


TABLA 2. ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE LA LECHE HUMANA DONADA

CULTIVOS	FRECUENCIA		FRECUENCIA POSPASTEURIZACION
	PREPASTEURIZACION	PORCENTAJE	
POSITIVOS	81	18.2	0
NEGATIVOS	286	64.3	0

DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio que se llevó a cabo en el instituto nacional de perinatología en el servicio de banco de leche humana. se encontró que la media para la concentración de lípidos obtenidos por la técnica del crematocrito fue de 3.4 % para el contenido lípidos con percentiles (25-75%) de 2.5 y 4.4% y para las calorías fue de 515.9 Kcal/dl con percentiles (25%-75%) de 486- 613 kcal/ dl respectivamente.

Con respecto a nuestra revisión bibliográfica Las muestras individuales de leche de donantes de madres de término van al menos 0,6 a 1,4 g / dl de proteína total, 1.8 a 8.9 g / dL para la grasa, y 50 a 115 kcal / dl para la energía. de 65 y 70 kcal / dl según otros autores . 1 por lo que en cuestión del contenido de grasa y calorías de la leche humana donada de nuestro Instituto se puede observar que se encuentra dentro de los valores normales de contenido sin embargo en rangos medios lo que nos podría confirmar como se ha citado en otros textos un aumento en la actividad de la lipasa con la congelación a -20°C lo que como se citó previamente produce hidrólisis de los triglicéridos de tal forma que aumentan los ácidos grasos libres en la leche y se reduce la columna de crema en la columna. Se comparó posteriormente el contenido de calorías y grasas en relación a la fecha de recolección de la muestra con el fin de determinar si el tiempo de almacenamiento condicionaba mayor reducción del contenido calórico y lipídico pero no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los 2 casos .

Es importante mencionar que de todas las muestras recibidas se descartaron para su procesamiento un total de 1980 ml que correspondían a muestras con mal embalaje (la bolsa estaba rota). sin embargo la leche tenía una coloración adecuada y un sabor adecuado de resultar negativo el off-flavor.

Según lo reportado en la literatura la leche humana contiene bacterias propias de la flora de la piel , en un estudio publicado por Landers se identificaron microorganismos tales como Streptococcus del grupo B, S. aureus, Enterococcus, y Bacilos en leche humana recién extraída y /o de reciente almacenaje. mientras que en aquella congelada se aislaron; bacterias anaerobias, coliformes, especies de Staphylococcus y Streptococcus, así como Klebsiella, E. coli y Salmonella. El potencial patógeno de estas bacterias en general es moderado y son consideradas estas como flora normal y benéfica para el desarrollo del sistema inmune. la congelación tiene un efecto de disminución en la actividad bactericida en este estudio se tomaron controles pre y postpasteurización encontrando en 81 de estos (1 lote, de 1 sola paciente) Enterobacter cloacae/ Klebsiella oxytoca en los cultivos prepasteurización: este lote fue pasteurizado posterior a lo cual el cultivo resulto negativo.

CONCLUSIONES

- La leche humana donada al banco de leche del Instituto Nacional de Perinatología cuenta con los requerimientos adecuados de lípidos y calóricos en comparación con lo descrito en la literatura lo que garantizaría un adecuado aporte nutricional a los receptores del insumo que en su mayoría lo son recién nacidos prematuros de pero extremadamente bajo al nacer. De igual manera se garantizó la inocuidad biológica de la leche humana donada. Mediante los cultivos microbiológicos garantizando la seguridad de este producto para su distribución dentro de nuestras terapias neonatales.
- Se tiene que hacer un reforzamiento en cuanto a la capacitación que se les da a las donadoras externas sobre el embalaje del producto ya que se desperdiciaron una cantidad considerable de mililitros por presentar alteraciones en este hecho es decepcionante ya que esta cantidad habría contribuido a la nutrición de una gran cantidad de recién nacidos en el Instituto

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Este estudio constituye un prototipo para estudios subsecuentes en nuestro Instituto donde se compare en esta ocasión el contenido de macromoléculas con el aparato miris (analizador infrarrojo) con la determinación mediante la técnica del crematocrito descrita por Lucas y cols. con el fin de realizar un comparativo entre ambos métodos.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	FECHA PROGRAMADA
RECOLECCION DE MUESTRAS DONADAS	FEBRERO-JUNIO 2015
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	FEBRERO- JUNIO 2015
REALIZACION DE MARCO TEORICO	FEBRERO – MAYO 2015
REALIZACIÓN DE GRAFICOS Y ANÁLISIS ESTADISTICO	JUN0-JULIO 2015
REVISIONES CON TUTOR	JULIO 2015
FINALIZACIÓN DE TESIS	20-JULIO 2015

TABLAS



Banco de Leche Humana
Instituto Nacional de Perinatología
Isidro Espinosa de los Reyes

Historia Clínica

Nombre: _____
 Edad _____ Fecha de Nacimiento _____ Nacionalidad _____
 Dirección _____
 Delegación _____ CP _____
 Teléfono (casa) _____ Teléfono (celular) _____
 Correo electrónico _____
 Profesión _____
 Donante Externa () Si () No
 Responsable de la información: _____
 Fecha de la elaboración: _____

Antecedentes Perinatales de importancia para la donación

Control pre natal durante la gestación: () Si () No
 Institución Pública () _____
 Institución Privada () _____

Peso en la gestación (Kg)		Talla (mts)	Edad gestacional al nacimiento		Fecha del parto o cesárea
Inicial:	Final:		Semanas	Días	

Exámenes con los que cuenta

VDRL	HsbAg	FTAabs	VIH	BH Parcial
() Positivo	() Positivo	() Positivo	() Positivo	I lb:
() Negativo	() Negativo	() Negativo	() Negativo	I llc:
() No realizado				

Otros exámenes: _____

¿Transfusiones de sangre en los últimos 5 años? _____ ¿Algún problema o evento durante la gestación? _____

Historia Actual

Tabaquismo Si () No () Alcoholismo Si () No () Drogas Si () No ()
 Medicamentos Si () No () Otros Si () No ()

Responsable de la información: _____

Laboró: _____

REFERENCIAS

- ¹ . V Congreso Español de lactancia materna. Marzo 2009. http://www.calidadasistencial.es/images/gestion_soc/ongresosanteriores/13.pdf
- ² . Rede de Bancos de Leite Humano, REDEBLH. Normas técnicas para bancos de leite humano. 2005. Serie en línea. Disponible www.redeblh.riocruz.gov.br.
- ³ . Thais Álvarez de Acosta y col. Determinación de las concentraciones de proteínas, hidratos de carbono y grasas en leche de madres en lactancia. 2010.
- ⁴ O. Ballard; Human Milk Composition, nutrients and Bioactive factors; 2013 *pediatr Clin Am* 60, 49-74
- ⁵ K. Bolognini; V. Blondet. 2013 Composition of breast milk of lactating adolescents in function of time of lactation; *Nutr Hosp*. 2013;28:1971-1976
- ⁶ . Granot. Is there a difference in breast milk fatty acid composition of mothers of preterm and term infants? 2015, *J Matern Fetal Neonatal Med*.
- ⁷ G. Boroviczeny . Fatty Acid composition of human milk during the first month after term and preterm delivery. *Eur J Pediatr* 1997;156:142-7
- ⁸ A. Kovac. Fatty acids in early human milk after preterm and term delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005 ;41:459-59.
- ⁹ MH. Kedem. The effect of advanced maternal age upon human milk fat content. *Breastfeed Med* 2012;8: 116-19.
- ¹⁰ Meier PP, Engstrom JL, Murtaugh MA, Vasan U, Meier WA, Schanler RJ. Mothers' milk feedings in the neonatal intensive care unit: accuracy of the creatocrit technique. *J Perinatol* 2002;22:646-649.
- ¹¹ Vázquez S.; C. Alonso. Medida por crematocrito del contenido calórico de la leche materna donada congelada *An Pediatr (Barc)*;81(3) 2014:185---188
- ¹² Clark RM, Fundraiser KH, Ross S, Brown PB. Effect of temperature and length of storage on serum-stimulated and serum-independent biolytic activities in human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1984;3:567---70.
- ¹³ Berkow SE, Freed LM, Hamosh M, Bitman J, Wood DL, Happ B, et al. Lipases and lipids in human milk: Effect of freeze-thawing and storage. *Pediatr Res*. 1984;18:1257---62.

¹⁴ Lucas A, Gibbs JAH, Lyster RLJ, Baum JD. Creamatocrit: Simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br Med J.* 1978;1: 1018---20.

¹⁵ E. Mayans Estimacion del valor caloric de la leche maternal mediante la tecnica del crematocrito; *Rev medica Uruguay* 2004;10:160-164

¹⁶ - Lubetzky R, Littner Y, Mimouni FB, Dollberg S, Mandel D. Circadian variations in fat content of expressed breast milk from mothers of preterm infants. *J Am Coll Nutr* 2006;25:151–154

¹⁷ Weber A, Loui A, Jochum F, Bühner C, Obladen M. Breast milk from mothers of very low birthweight infants: variability in fat and protein content. *Acta Paediatr* 2001;90:772–775.

¹⁸ Thais Alvarez de acosta y col, determinación de las concentraciones de proteínas, hidratos de carbono y grasas en leches de madres en relactancia. 2010.

¹⁹ Rosas V, Duran Z, Guevara A . Calidad Microbiologica de la leche humana procesada en el banco de leche. Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Paez” *Arch Venez Puer Ped* 2008 ;71 (1): 5-12

²⁰ Covas Maria del Carmen y col, Almacenamiento de leche humana: Influencia sobre la composicion quimica y desarrollo bacteriano en 3 momentos de lactancia. 2000

²¹ . Santa de Moraes. Caloric profile of pasturized milk in the human milk bank at a university hospital. *Rev Paul Pediatric* 2013; 31(1) 46-50

22- Lucas A, Gibbs JAH, Lyster RLJ, Baum JD. Creamatocrit: Simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br Med J.* 1978;1: 1018---20.

23-Lemons JA, Schreiner RL, Greshman EL. Simple method for determining the caloric and fat content of human milk. *Pediatrics.* 1980;66:626---8.

24-Wang CD, Chu PS, Mellen BG, Shenai JP. Creamatocrit and the nutrient composition of human milk. *J Perinatolology .* 1999;19:343---6.

25-Clark RM, Fundraiser KH, Ross S, Brown PB. Effect of temperatura and length of storage on serum-stimulated and serum-independent biolytic activities in human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1984;3:567---70.

26-Berkow SE, Freed LM, Hamosh M, Bitman J, Wood DL, Happ B, et al. Lipases and lipids in human milk: Effect of freeze-thawing and storage. *Pediatr Res.* 1984;18:1257---62.

27- Lubetzky R, Littner Y, Mimouni FB, Dollberg S, Mandel D. Circadian variations in fat content of expressed breast milk from mothers of preterm infants. *J Am Coll Nutr* 2006;25:151–154

28- Weber A, Loui A, Jochum F, Bühler C, Obladen M. Breast milk from mothers of very low birthweight infants: variability in fat and protein content. *Acta Paediatr* 2001;90:772–775.

29- P. Santa de Moraes. Caloric profile of pasturized milk in the human milk bank at a university hospital. *Rev Paul Pediatric* 2013; 31(1) 46-50