

4.5
2ej^o



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**ANALISIS MICROBIOLOGICO DE
LECHE MATERNA HUMANA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
SANCHEZ GONZALEZ AMALIA

ASESORES DE TESIS: M.V.Z. GERARDO CRUZ JIMENEZ
DRA. LYDIA MOTA DE LA GARZA O.B.P. LEONEL PORTILLO BURROLA

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN** CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. MEXICO

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo Análisis Microbiológico de Leche Materna Humana

que presenta la pasante: Amalia Sánchez González
con número de cuenta: 7585206-I para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 29 de marzo de 1996

PRESIDENTE M.en C. Clara Iner Alvarez Manriquez *Manuela Alvarez*
VOCAL Q.F.I. Andrea A. Becerril Osneya *Andrea A. Becerril*
SECRETARIO M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez *Gerardo Cruz*
1er. SUPLENTE Q.B.P. Judith Martínez Zentis *Judith Martínez*
2do. SUPLENTE Q.F.P. Marcela Fernández Vargas *Marcela Fernández*

A mis padres Francisco y Ana María

con todo mi amor y cariño, por el apoyo que me brindaron,
con el cual he logrado una de las metas más importantes de
mi vida.

A mi hija Carla Maya

al ser más importante en mi vida,
quien me motivó para la realización de este trabajo.

A Leonel

con amor y admiración,
que siempre me alentó con su cariño y confianza.

Con todo cariño y afecto.

A mis queridos hermanos:

José Antonio

Ernesto Manuel

María Ernestina

Francisco

Fernando

Cuahutémoc

A todos mis familiares.

A la Q.F.B. Beatriz Gutiérrez C.
por el apoyo moral que me brindó.

Mi agradecimiento al M.V.Z. Gerardo Cruz J.
por su apoyo y dirección de la presente tesis.

A la Dra. Lydia Mota G.
por los conocimientos compartidos.

A mis Maestros y Amigos.

INDICE GENERAL

Hoja

1. Índice de figuras, diagramas, cuadros y gráficas.....	1
2. Resumen.....	3
3. Introducción.....	4
4. Justificación.....	23
5. Objetivo.....	24
6. Material y Métodos.....	25
6.1. Selección de las Donadoras de leche materna.....	27
6.2. Características de los Recién Nacidos del cunero patológico.....	27
6.4. Instrucciones de aseo general.....	28
6.5. Instrucciones sobre aseo en la extracción de leche.....	28
6.6. Técnica de extracción de leche materna, manual.....	29
6.7. Almacenamiento de leche materna.....	30
6.8. Análisis microbiológico de leche materna.....	30
7. Procedimiento.....	31
7.1. Preparación del material de trabajo.....	32
7.2. Rotulación de cajas petri.....	33
7.3. Preparación de las diluciones.....	34
7.4. Inoculación de las cajas.....	35
7.5. Recuento de Bacterias Mesofílicas Aerobias.....	35
7.6. Recuento de Organismos Coliformes.....	37
8. Resultados.....	41
9. Discusión.....	65
10. Conclusiones.....	69
11. Apéndice.....	70
12. Bibliografía.....	73

INDICE DE FIGURAS, DIAGRAMAS, CUADROS Y GRAFICAS

	Hoja
Figura No. 1 Glándula mamaria, Corte sagital.....	5
Figura No. 2 Rotulación de Cajas Petri.....	33
Diagrama No. 1 Preparación hormonal del pecho para la lactancia después del parto.....	7
Diagrama No. 2 Procesamiento de leche materna en la determinación de bacterias mesofílicas aerobias	39
Diagrama No. 3 Procesamiento de leche materna en la determinación de organismos coliformes.....	40
Cuadro No. 1 Composición aproximada de leche materna humana.....	12
Cuadro No. 2 Composición aproximada del calostro humano.....	15
Cuadro No. 3 Cuenta de Organismos Coliformes. Sin eliminar los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	43
Cuadro No. 4 Cuenta de Organismos Coliformes. Eliminando los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	45
Cuadro No. 5 Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Sin eliminar los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	48
Cuadro No. 6 Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Sin eliminar los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	50
Cuadro No. 7 Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Eliminando los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	51
Cuadro No. 8 Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Eliminando los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	53
Cuadro No. 9 Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Eliminando los primeros chorros de leche, en las 100 muestras posteriores.....	55

	Hoja
Cuadro No. 10 Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Eliminando los primeros chorros de leche, en las 100 muestras posteriores.....	58
Cuadro No. 11 Frecuencia de Mesofílicos Aerobios, En 100 muestras posteriores de leche materna, eliminando los primeros chorros.....	59
Cuadro No. 12 Cuenta de Organismos Coliformes. Eliminando los primeros chorros, en las 100 muestras posteriores.....	61
Gráfica No. I Cuenta de Organismos Coliformes. Sin eliminar los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	44
Gráfica No. II Cuenta de Organismos Coliformes. Eliminando los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	46
Gráfica No. III Análisis Comparativo de Organismos Coliformes, Sin eliminar y eliminando los primeros chorros de leche.....	47
Gráfica No. IV Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Sin eliminar los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	49
Gráfica No. V Cuenta de Mesofílicos Aerobios. Eliminando los primeros chorros de leche, en las primeras 20 muestras.....	52
Gráfica No. VI Análisis Comparativo de Mesofílicos Aerobios Sin eliminar y eliminando los primeros chorros de leche.....	54
Gráfica No. VII Distribución de las Frecuencias de Mesofílicos Aerobios, Eliminando los primeros chorros de leche, en las 100 muestras posteriores.....	60
Gráfica No. VIII Cuenta de Organismos Coliformes. Eliminando los primeros chorros de leche en las 100 muestras posteriores.....	64

RESUMEN

Con la finalidad de garantizar la calidad higiénica de la leche materna humana, que es utilizada para alimentar a los recién nacidos que se encuentran en los cueros patológicos, se le realizó el análisis microbiológico mediante la determinación de organismos coliformes y mesofílicos aerobios, a la leche de mujeres que asistieron a donarla para sus hijos en el Hospital de Gineco-Obstetricia Tlatelolco.

Se analizaron un total de 120 muestras de leche materna humana, obtenidas por extracción manual. En donde las primeras 20 muestras se analizaron de 2 formas: 1) Eliminando los primeros chorros de leche y 2) sin eliminarlos. Observándose que la forma de recolección de la leche materna debe efectuarse eliminando el primer chorro, ya que de esta manera se descartan los organismos coliformes y disminuye la cuenta total de mesofílicos aerobios. Por lo que las 100 muestras posteriores se procesaron eliminando los primeros chorros, donde el 74 % de las muestras de leche tuvieron menos de 9 000 UFC/ml de organismos mesofílicos aerobios y 0 UFC/ml de organismos coliformes.

Es importante mencionar que los recién nacidos alimentados con leche donde se eliminaron los primeros chorros, no presentaron problemas gastrointestinales y respiratorios.

INTRODUCCION

La lactancia es la consumación fisiológica del ciclo reproductivo femenino. Durante el embarazo la mama, el cuerpo y la mente se preparan para la lactancia.

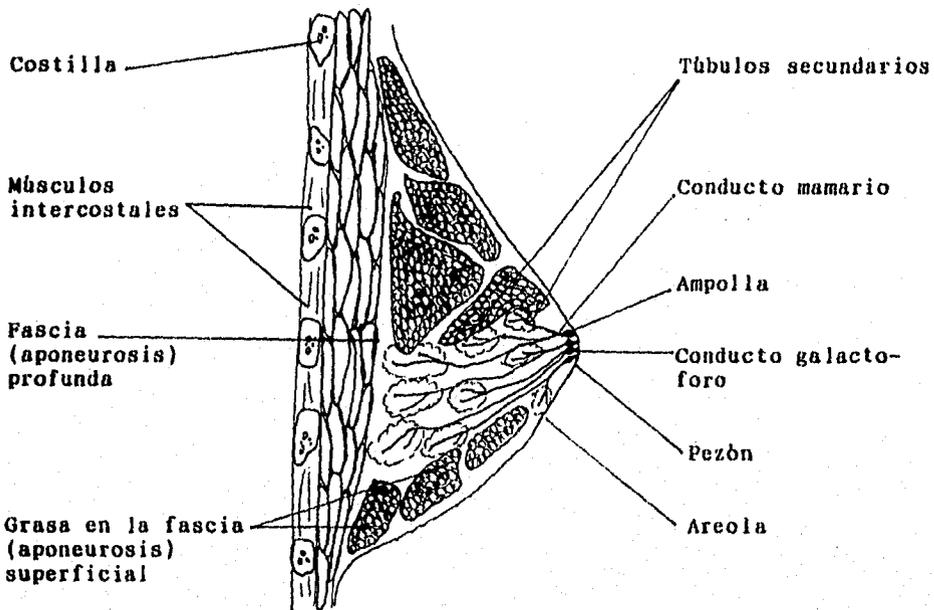
La mama embrionaria empieza su preparación en la pubertad cuando se establece el ciclo hipofisis-ovario-útero. Muchas hormonas son necesarias para el desarrollo mamario completo. Los botones embrionarios que inicialmente se desarrollan en el feto y que han estado inactivos desde el nacimiento, son estimulados por el estrógeno para proliferar y transformarse en un órgano de varias capas, en el cual se forma una estructura de botones y papilas. (1,2,3)

El crecimiento de la glándula mamaria es un proceso gradual, que comienza durante la pubertad por influencia de los esteroides sexuales. En todas las especies los estrógenos son los principalmente responsables de la proliferación de los conductos mamarios y la progesterona, del desarrollo de los lóbulos y de los alveolos. Quince a veinte conductos primitivos se arborizan extensivamente y forman una glándula compuesta túbulo-alveolar.(Figura No. 1)

Prosigue una etapa relativamente inactiva durante la vida adulta, hasta que el embarazo inicia la etapa proliferativa. Se comienza el crecimiento espectacular de

FIGURA No. 1

GLANDULA MAMARIA
Corte sagital (4)



los conductillos en respuesta a las hormonas luteínicas y placentarias. Hay una verdadera hiperplasia, pero en forma ordenada ya que un alveolo no contrarresta o supera a otro. Las hormonas lactógeno placentario (prolactina) y gonadotropina coriónica contribuyen a la aceleración del crecimiento. En esta etapa interactúan en forma compleja varias hormonas que funcionan para el desarrollo del feto y de las mamas durante el embarazo. (2,3,4,5)

El desarrollo del lobulillo alveolar y la proliferación de conductos dependen de la glándula hipofisiaria .

Hay tres etapas principales de la actividad:

1) La mamogénesis - crecimiento mamario que empieza en la vida embrionaria y culmina durante el embarazo.

2) Lactogénesis - la iniciación de la secreción de leche que empieza durante el embarazo y aumenta con el parto.

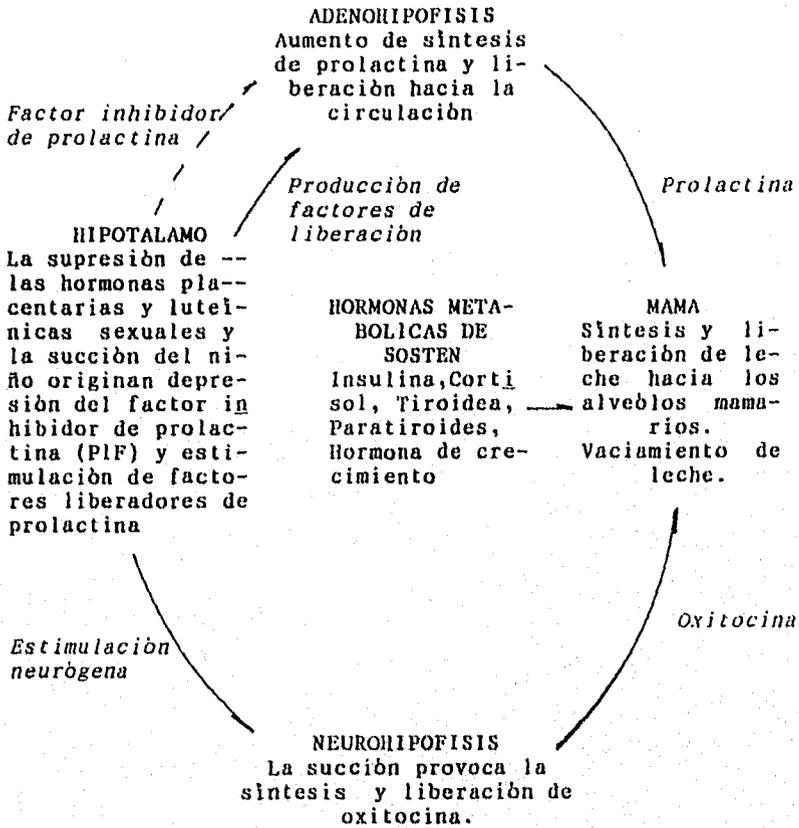
3) Galactopoyesis - la conservación de la lactancia ya establecida, que empieza pocos días después del alumbramiento y continúa, mientras persiste el estímulo.(6)

Hay un equilibrio delicado entre el factor inhibidor de la prolactina del hipotálamo y la producción de prolactina de la adenohipófisis (Diagrama No 1) cuando evoluciona la fase presecretoria en el segundo trimestre, pasando a la fase secretoria. En esta fase se observa un material parecido al calostro dentro de los alveolos estimulados por el lactógeno placentario.(2)

DIAGRAMA No. 1

PREPARACION HORMONAL DEL PECHO PARA LA LACTANCIA DESPUES DEL PARTO

POSPARTO



(Modificado por Vorherr H: The Breast: Morphology Physiology, and Lactation. New York, Academic Press, 1974, con autorización)

Igual que las glándulas mamarias se preparan para una lactancia plena, otras estructuras de la mama se preparan también. Las areolas aumentan su prominencia y su pigmentación, quizá para que la criatura encuentre fácilmente el origen del alimento.

Las glándulas de Morgagni (glándulas lácteas) localizadas en la areola también se hipertrofian y empiezan a secretar un material sebáceo lechoso que servirá para proteger y lubricar la areola y el pezón antes de la lactancia y durante la misma.

Anatómicamente, el pezón también se prepara durante el embarazo para que la criatura pueda succionar. Cuando las estructuras de los conductillos proliferan, lo mismo hacen los conductos en el pezón, mismo que se vuelve elástico y prominente.

La estructura elástica del propio pezón prolifera de manera que se vuelve más erecto.(2,4)

Durante la gestación, la elaboración de hormonas gonadotrópicas por la hipófisis anterior ha sido inhibida por las hormonas placentarias, pero cuando han desaparecido éstas, la hipófisis comienza a secretar grandes cantidades de hormona lactógena, idéntica a la hormona luteotrópica o prolactina. Por acción de esta hormona, las mamas producen leche.

Se admite que el acontecimiento fisiológico crítico para iniciar la lactancia es la expulsión de la placenta,

bruscamente se elimina el origen de las hormonas placentarias y las concentraciones plasmáticas de las mismas empiezan a caer. En pocas horas, el lactógeno placentario desaparece del plasma, la progesterona lo hace al cabo de dos a tres días y el estrógeno alcanza niveles basales después de cinco a seis días pero los valores de prolactina dependen del grado de succión y del estímulo que recibe la mama. Los datos existentes sugieren que la pérdida de progesterona placentaria con disminución de progesterona plasmática, es la que desencadena la lactogénesis o producción de la leche.(2,6,7)

Cuando el niño chupa el pezón, en los primeros 45 o 60 segundos no suele extraer leche, después, aparece bruscamente la leche en los conductos de ambos pechos, aunque el niño mame en uno solo; ello indica que ha ocurrido un fenómeno general para que la leche fluya hacia los pezones, se ha comprobado experimentalmente que mamar origina impulsos sensitivos que van a la médula espinal y finalmente al hipotálamo para estimular la producción de oxitocina, luego ésta llega por la vía sanguínea a las mamas, donde se contraen las células mioepiteliales que rodean los alveolos, siendo así expulsada la leche que llena los alveolos en los conductos que van al pezón. (1,2)

Factores Nutricionales

La leche humana es un líquido muy complejo con un equilibrio de nutrientes y una serie de propiedades funcionales que pueden promover un nivel de eficacia metabólica que no puede alcanzarse cuando se proporciona alimentación distinta a la materna. (8,9)

La leche de una madre bien alimentada si se ingiere en cantidades que cubran las necesidades calóricas, corresponde a las raciones recomendadas de todos los nutrientes sin que haya necesidad de suplementos excepto la vitamina D y posiblemente el fluoruro en los primeros cuatro a seis meses de vida.

El gran interés clínico por el amamantamiento ha originado un aumento notable de investigaciones acerca de la leche humana y una revisión cuidadosa de las políticas sanitarias que promueven el amamantamiento. (8,9,10)

Gracias a los datos obtenidos con las investigaciones actuales los clínicos especializados en nutrición recomiendan la leche humana como el alimento ideal para los neonatos a término y para complementar el desarrollo de los niños que están madurando.

La composición de nutrimentos y la interacción de éstos en la leche humana produce ciertas ventajas de la lactancia en comparación con la leche formulada. (9,10,11,12)

Cada uno de los principales nutrientes de la leche humana están representados en el Cuadro No.1 (8). Las proteínas brindan aminoácidos para el crecimiento pero se presentan como polipéptidos que facilitan la digestión, la defensa del huésped y otras funciones.(12,13,14,15)

Las grasas proporcionan energía y algunas tienen propiedades antivirales. (13,14,15,16). Los carbohidratos brindan energía, pero además pueden estimular la absorción de minerales, modular el desarrollo de bacterias.(14,17,18), e impedir la fijación de bacterias seleccionadas a las células epiteliales de las vías respiratorias y digestivas que están expuestas a la leche humana con cada mamada.(2)

Calostro

Se denomina calostro a la secreción mamaria de la última parte de la gestación y los 2-4 días posteriores al parto. Tiene un color amarillo limón oscuro y una densidad específica de 1040-1060 a diferencia de la leche materna madura, que tiene una densidad de 1030. La cantidad total de calostro que se secreta diariamente es de 10 - 40 mililitros. El calostro humano (Cuadro No. 2) tiene muchas proteínas y minerales pero menos carbohidratos y grasas que la leche madura. A los pocos días de lactación el calostro es sustituido por una leche de transición que gradualmente va adquiriendo las características de la leche madura hacia la 3a. o 4a. semana.(8)

CUADRO No. 1
COMPOSICION APROXIMADA DE LECHE
MATERNA HUMANA

Componente	Leche Humana	
Agua	g/100 g	88
Proteína	"	0.9
Caseína	"	0.4
Lactoalbúmina	"	0.4
Lactoglobulina	"	0.2
Grasa	"	3.8
% de grasa insaturada	"	8.0
Lactosa	"	7.0
Residuo sólido	"	0.2
Calcio	mg/100 g.	34
Fósforo	"	15
Sodio	mEq/l	7
Potasio	"	13
Cloro	"	11
Magnesio	mg/100 g	4
Azufre	"	14
Manganeso	µg/l	10
Cobre	"	60

Tomado fundamentalmente de Fomon SJ: Infant Nutrition. Ed 2. Philadelphia, WB Saunders Co, 1974, pp 360 ff, and Macy IG, Kelly HJ, Sloan RE: The Composition of Milk, NAS-NRC Publ. 254, 1953.

(Continuación de.) CUADRO No. 1
**COMPOSICION APROXIMADA DE LECHE
 MATERNA HUMANA**

Componente	Leche humana	
Zinc	mg/l	4
Yodo	µg/l	30
Selenio	"	30
Hierro	mg/l	0.5
Aminoácidos	mg/100 ml	
Histidina	"	22
Leucina	"	68
Isoleucina	"	100
Lisina	"	73
Metionina	"	25
Fenilalanina	"	48
Treonina	"	50
Triptófano	"	18
Valina	"	70
Arginina	"	45
Alanina	"	35
Acido aspártico	"	116
Cistina	"	22

Tomado fundamentalmente de Fomon SJ: Infant Nutrition. Ed 2. Philadelphia, WB Saunders Co, 1974, pp 360 ff, and Macy IG, Kelly HJ, Sloan RE: The Composition of Milk, NAS-NRC Publ. 254, 1953.

(Continuación de.) CUADRO No. 1
**COMPOSICION APROXIMADA DE LECHE
 MATERNA HUMANA**

Componente		Leche humana
Acido glutámico	mg/100 ml	230
Prolina	"	80
Serina	"	69
Tirosina	"	61
Vitaminas	(litro)	
Vitamina A	(UI)	1898
Tiamina	µg	160
Riboflavina	"	350
Niacina	µg	100
Piridoxina	"	100
Pantotenato	mg	2
Folacina	µg	52
B 12	"	0.3
Vitamina C	"	43
Vitamina D	UI	22
Vitamina E	mg	2
Vitamina K	µg	15

Tomado fundamentalmente de Fomon SJ: Infant Nutrition. Ed 2. Philadelphia, WB Saunders Co, 1974, pp 360 FF, and Macy IG, Kelly HJ Sloan RE: The Composition of Milk, NAS-NRC Publ. 254, 1953.

CUADRO No. 2
COMPOSICION APROXIMADA DEL
CALOSTRO HUMANO

Componente		Calostro humano
Agua	g/100 g	87
Proteína	"	2.7
Cascina	"	1.2
Lactoglobulina	"	1.5
Grasa	"	2.9
% insaturadas	"	7.0
Lactosa	"	5.3
Residuo sólido	"	0.5
Calcio	mg/100 g	30.0
Fósforo	"	15.0
Sodio	mEq/l	48
Potasio	"	74
Cloro	"	80
Magnesio	mg/100 g	4
Azufre	"	22
Manganeso	"	tr.
Cobre	"	600
Zinc	mg/l	6
Yodo	"	120
Hierro	mg/l	0.1

Tomado fundamentalmente de Fomon SJ: Infant Nutrition. Ed 2.
Philadelphia, WB Saunders Co, 1974, pp 360 FF, and Macy IG, Kelly HJ,
Sloan RE: The Composition of Milk, NAS-NRC Publ. 254, 1953.

Flora microbiana normal de la piel y del intestino.

Debido a su constante exposición y contacto con el ambiente, la piel es particularmente capaz de albergar microorganismos transitorios. Sin embargo, existe una flora residente constante y bien definida, modificada en diferentes sitios anatómicos por las secreciones, el hábito de llevar ropa, o la proximidad de las mucosas (boca, nariz y áreas perineales).

Los microorganismos residentes que predominan en la piel, son bacilos difteroides aerobios o anaerobios (*Corynebacterium*); estafilococos blancos no hemolíticos, aerobios y anaerobios; bacilos esporulados gram positivos, aerobios, que son ubicuos en el aire, el agua y el suelo; estreptococos no hemolíticos verdes (*S. viridans*), enterococos (*S. faecalis*), bacilos Coliformes gram negativos y mimaes. (19)

Al nacer el intestino es estéril, pero pronto son introducidos los microorganismos con el alimento. En niños amamantados, el intestino contiene un gran número de estreptococos lácticos y lactobacilos. Estos organismos son inmóviles, gram positivos, aerobios y anerobios (por ejemplo *bifidobacterium*) los cuales producen ácido de los carbohidratos, estableciendo condiciones necesarias (pH), para impedir la colonización de microorganismos patógenos, manteniendo así el equilibrio biológico de la flora intestinal. (19,20,21,22,23)

Factores inmunológicos

En zonas de bajo nivel socioeconómico o cuando no se cuenta con asistencia médica, la leche materna puede ser más higiénica, inocua, económica y no necesita prepararse, como una fórmula mal hecha o contaminada. (8)

A menudo la leche humana recibe el nombre de "guardián intestinal" porque parece inhibir la proliferación de ciertos patógenos creando un medio ácido en las vías gastrointestinales. Se ha demostrado que la lactoferrina, proteína láctea fijadora de hierro, inhibe el crecimiento de bacterias negándoles este elemento.

La leche humana contiene anticuerpos que sirven para inmunizar al lactante contra ciertas enfermedades infecciosas. (8,13,24,25,26)

Se ha demostrado la existencia de anticuerpos antibacterianos y antivíricos, con concentraciones relativamente altas de IgA secretora (27,28) que impide la adherencia de los microorganismos a la mucosa intestinal. Estos experimentos están basados en la demostración de valores más altos de proteínas en las heces de los niños alimentados con leche materna. (13,23)

Contaminación de los alimentos

Aproximadamente desde 1880 se conoce la contaminación de los alimentos por microorganismos productores de enfermedades. A partir de entonces se han señalado numerosos casos de enfermedades transmitidas por los alimentos. La contaminación de los alimentos por los manipuladores constituye una importante fuente de transmisión de enfermedades, esta es actualmente una de las causas más importantes en la aparición de brotes de intoxicaciones, especialmente con determinados alimentos. (29)

Entre los requisitos que deben presentar los alimentos para que se consideren de buena calidad higiénica se les exige estar exentos de microorganismos patógenos, o que éstos se encuentren a un nivel que los haga inocuos. En general, no es posible examinar cada producto o alimento para investigar la presencia de organismos patógenos. La práctica que ha estado vigente durante muchos años y aún continúa en la actualidad está representada por la determinación de la calidad higiénica de los alimentos, a través de su contenido en determinados organismos indicadores. (29)

Actualmente los indicadores de calidad higiénica aplicados a leche comprenden los grupos de bacterias coliformes,

además, también es útil a este respecto el recuento total de microorganismos mesofílicos aerobios. (29,30)

El recuento de colonias bacterianas en medios de cultivo con un adecuado soporte nutricional y libres de agentes inhibidores es ampliamente utilizado con diversos propósitos en el análisis de alimentos. Se pretende contar el máximo número de microorganismos y cuando la incubación se ha realizado entre los 20 y los 37°C se les designa como cuenta de bacterias mesofílicas aerobias. El grupo es muy heterogéneo y solo comparten entre si la capacidad para formar colonias visibles en las condiciones en las que se desarrolla la prueba.

Debido a la diversidad de características que exhiben las bacterias prácticamente no es posible diseñar un medio de cultivo o una técnica que permita el crecimiento de todas las especies y variedades presentes. (31)

Conformación del grupo

Al grupo de bacterias mesofílicas aerobias pertenece una variedad de microorganismos. La falta de homogeneidad resulta de las escasas limitaciones que la definición del grupo impone para incluirlos: el carácter de aerobio y la capacidad para proliferar entre 20 y 37°C (31,32), que son los extremos de las temperaturas a las cuales suele realizarse este recuento. Así pues dependiendo del producto

pueden reconocerse entre la flora mesofílica aerobia bacilos, cocos, las formas intermedias, gram positivas y gram negativas. Desde el punto de vista fisiológico y de su patogenicidad también es posible encontrar un amplio mosaico de especies tanto patógenos como saprófitos.

Por otra parte, tanto cualitativa y cuantitativamente, el grupo de bacterias mesofílicas aerobias solo adquiere realidad cuando se definen, para un producto en particular, las condiciones en las que se ha efectuado el recuento. Esto es debido a que la imagen bacteriana va a modificarse de acuerdo con la temperatura y el tiempo durante el cual se hayan incubado las placas, de ahí la necesidad de ajustarse rigurosamente a las instrucciones que se indican en cada tipo de recuento.

La presencia de un número elevado de bacterias mesofílicas aerobias que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado condiciones patógenas de origen humano o animal. (30)

La cuenta de bacterias mesofílicas aerobias se ha propuesto o se utiliza en la microbiología sanitaria como indicador de la posible presencia de gérmenes patógenos y como indicador de las condiciones higiénicas en que ha sido manejado un producto. (31)

La mayoría de los alimentos deben considerarse como inadecuados para el consumo cuando contienen un gran número

de microorganismos aún cuando estos microorganismos no sean conocidos como patógenos.

Bacterias Coliformes como indicadoras de Calidad higiénica de los alimentos.

El grupo de los organismos coliformes es ampliamente utilizado en la microbiología de los alimentos como indicador de contaminación fecal en algunos casos y de prácticas higiénicas inadecuadas en otros. Es, además el que por primera vez fue empleado con estos propósitos, desde 1892.

Los organismos coliformes constituyen un grupo heterogéneo o con habitat primordial intestinal para la mayoría de las especies que involucra. A fin de simplificar su manejo en el laboratorio, se ha establecido una definición en base a las características más constantes que exhibe la especie tipo del grupo, *Escherichia coli*. Esta simplificación sin embargo da lugar a que se incluyan en el grupo, bacterias de origen no intestinal, porque comparten las características que la definición impone.

La definición generalmente aceptada para el grupo coliforme las describe como bacilos gram negativos no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, que fermentan la lactosa con producción de gas, dentro de las 48 horas de incubación a 35°C. (32,33,34,35,36,37)

Las principales especies de bacterias coliformes son *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*, no obstante, las especies que es posible que se ajusten a estos criterios, son muchas, encontrándose entre las mismas especies de otros géneros de la Familia Enterobacteriaceae. (38)

JUSTIFICACION

Este trabajo se realizó por la necesidad de la utilización de la leche materna humana en los neonatos de alto riesgo (aquellos que nacen con riesgo potencial de enfermar o morir o bien quedar con secuelas incapacitantes) que se encuentran en el cunero patológico y su madre no puede amamantarlo directamente sino que su leche es recolectada para alimentar a los recién nacidos; por lo que este producto debe tener una excelente calidad higiénica, de aquí la importancia del estudio de tener criterios microbiológicos que garanticen esta calidad para que no se vean alterados los beneficios de alimentar con este producto a los neonatos, favoreciendo de esta manera una evolución clínica satisfactoria (sin problemas gastrointestinales y respiratorios) para que tengan una estancia hospitalaria más corta.

OBJETIVO

Establecer los criterios microbiológicos adecuados para valorar la calidad sanitaria de la leche humana mediante:

- **Determinación de organismos coliformes.**
- **Determinación de microorganismos mesofílicos aerobios.**

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y EQUIPO.

Equipo:

- Incubadora (estudio bacteriológico) con termostato marca J.M. Ortiz.
- Autoclave marca AMSCO de MEXICO S.A..
- Horno para esterilizar a 180 C Marca J.M. Ortiz.
- Baño María marca J.M. Ortiz.
- Microscopio marca Carl Zeiss.
- Mechero de Bunsen.
- Refrigerador marca TYLER.
- Congelador marca FORMA SCIENTIFIC.
- Contador de colonias.

MATERIAL DE VIDRIO.

- Cajas Petri (estéril) 100 x 15 mm.
- Frascos de vidrio de boca angosta con tapón de rosca de 120 ml. 4 oz (estéril).
- Pipetas de 1 a 10 ml. (estéril)
- Matraz Erlenmeyer 1000 ml.
- Probeta 1000 ml.
- Termómetro -20°C a 110°C marca Brannan.

MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar de Bilis y Rojo Violeta.
- Agar para métodos estándar (agar triptona extracto de levadura).

- Agua peptonada al 0.1 %.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Leche materna.

MÉTODOS

Se analizaron 120 muestras (por duplicado) de leche materna humana de diferentes pacientes del Hospital de Gineco-Obstetricia Tlatelolco (IMSS), que acudieron a donarla al cunero patológico, consideradas madres sanas en donde a las primeras 20 muestras se les estudian tanto el primer chorro como el posterior, la cuenta de Mesofílicos aerobios y de Organismos Coliformes.

Las 100 muestras posteriores se procesan por la vía de obtención donde exista menor contaminación de la leche, en base a los resultados de las primeras 20 muestras estudiadas, determinándoseles la cuenta total de Mesofílicos Aerobios y Organismos Coliformes.

Obtención y manejo de muestras.

- Selección de las donadoras de leche materna
- Características de los recién nacidos de cunero patológico.
- Instrucciones de aseo general
- Instrucciones sobre aseo en la extracción de leche
- Técnicas de extracción de leche materna, manual
- Almacenamiento de la leche materna
- Análisis Microbiológico de la leche materna

SELECCION DE LAS DONADORAS DE LECHE MATERNA

Se consideraron las siguientes características:

- 1.- Que no presentaran patologia o antecedentes que contraindicaran la lactancia materna (Tuberculosis, enfermedades virales, etc.).
- 2.- Que su hijo se encontrara en cunero patológico.
- 3.- Que no fumara.
- 4.- Que no consumiera alcohol.
- 5.- Que no ingiriera medicamentos como:
 - Cocaína
 - Cloranfenicol
 - Antihistaminicos
 - Metronidazol
 - Ergotamina
 - Radiofármacos (oro, yodo, etc.)
 - Antineoplásicos

CARACTERISTICAS DE LOS RECIEN NACIDOS DEL CUNERO PATOLOGICO

- 1.- El Recién Nacido recibiera solo la leche de su madre.
- 2.- Asfixia perinatal al 1º o 3er día de Vida Extrauterina
- 3.- Todo Recién Nacido que tuviera función gastrointestinal adecuada.
- 4.- Síndrome de Dificultad Respiratoria al 3er o 4o día de Vida Extrauterina.

- 5.- Enterocolitis necrosante a las 48 hrs. de remisión de los datos radiológicos anormales.
- 6.- Prematuro sin patología al 1er día de Vida Extrauterina
- 7.- Peso bajo y peso alto sin patología, 1er día de Vida Extrauterina.
- 8.- Septicemia, todos salvo aquellos con trastornos hemodinámicos.

INSTRUCCIONES DE ASEO GENERAL

- Baño diario.
- Cambio de ropa interior.

INSTRUCCIONES SOBRE ASEO EN LA EXTRACCION DE LECHE

La extracción de la leche materna se llevó a cabo dando las instrucciones siguientes:

- Recogerse el pelo.
- Usar blusa con botones al frente.
- Tener uñas cortas sin barniz.
- Lavar manos, brazos, antebrazos y codos con agua y jabón neutro usando cepillo en uñas, palmas de las manos y pliegues entre los dedos.
- Lavar los senos con agua y jabón neutro.

- No usar anillos, pulseras y collares durante la extracción.

TECNICA DE EXTRACCION DE LECHE MATERNA, MANUAL

- Estimulación, se realiza a través de masaje. Iniciar desde la parte superior del seno, oprimir suavemente hacia la caja torácica, con movimiento circular con los dedos en un mismo punto y posteriormente seguir en otro lado del seno hasta abarcarlo por completo. Sacudir suavemente ambos senos inclinándose hacia adelante. La fuerza de la gravedad ayuda a que la leche baje.
- Colocar el pulgar encima del seno y el resto de los dedos debajo del mismo formando una letra C con la mano. Observar que los dedos se coloquen de manera que los senos láctiferos queden debajo de ellos. Evitar que el pecho sea sostenido con la palma de la mano.
- Empujar los dedos hacia la caja torácica, evitando separar los dedos.
- Girar o dar vuelta a los dedos y el pulgar como imprimiendo las huellas en una hoja de papel.
- Este movimiento giratorio oprime y vacía los senos láctiferos sin maltratar los tejidos del pecho que son muy delicados. Desechar los primeros chorros de cada seno. Utilizar una mano y luego la otra en cada pecho.
- Evitar apretar el pecho, jalarlo o que las manos resbalen sobre el golpeándolo. Extraer la leche de 3 a 5

minutos, dar masaje, sacudirse y proceder nuevamente a la extracción de 2 a 3 minutos.

- Al final de la extracción utilizar como lubricante una gota de la propia leche y dejar secar los pezones al aire libre, tapar el recipiente.(39)

ALMACENAMIENTO DE LA LECHE MATERNA

- Etiquetar cada frasco con nombre, fecha y cantidad.
- Refrigerar a 4°C o congelación a - 25°C.

ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE LA LECHE MATERNA

FUNDAMENTO:

El análisis microbiológico de este producto está encaminado a comprobar su calidad sanitaria en la que intervienen tanto las condiciones de obtención, el manejo y la conservación.

Mediante las determinaciones de:

Recuento de bacterias mesofílicas aerobias.

Recuento de organismos coliformes.

PROCEDIMIENTO

- PREPARACION DEL MATERIAL DE TRABAJO
- PREPARACION DE LAS DILUCIONES
- INOCULACION DE LAS CAJAS
- RECUENTO DE BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS
- RECUENTO DE ORGANISMOS COLIFORMES

PREPARACION DEL MATERIAL DE TRABAJO

- Estimar el número de cajas, pipetas de diferentes capacidades y tubos de dilución que se vayan a necesitar de acuerdo con el volumen de muestras a examinar.
- Preparar agua peptonada 0.1 % (diluyente) y transferir 9 ml a tubos de 16 x 150 tapón de rosca.
- Esterilizar en olla de presión o autoclave a 121°C, 15 lbs de presión durante 15 minutos.
- Preparar los medios de cultivo (agar de bilis y rojo violeta, agar para métodos estándar) de acuerdo al fabricante con un calentamiento rápido y homogéneo.
- Esterilizar en olla de presión o autoclave a 121°C, 15 lbs de presión, 15 minutos.
- Para usar los medios, fundirlos en autoclave y colocarlos en un baño de agua 45 ± 1°C.
- Limpiar la mesa de trabajo con fenol o benzal.
- Distribuir las cajas en la mesa de trabajo sobre una superficie lisa y bien nivelada.
- Marcar las cajas con los datos necesarios para su identificación. (Figura No.2)

Número de muestra

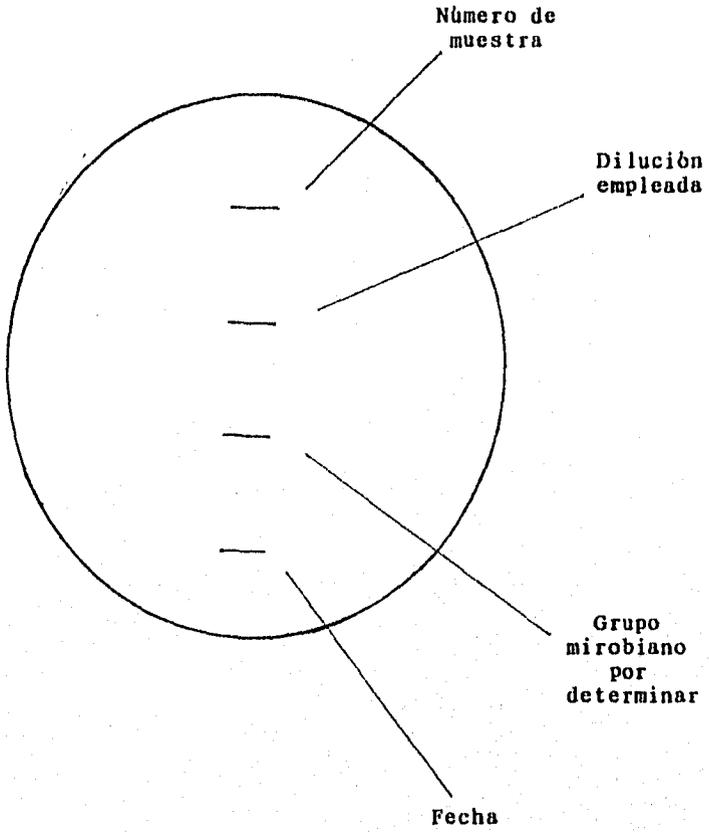
Fecha

Dilución

Grupo microbiano por determinar

FIGURA No. 2

ROTULACION DE CAJAS PETRI



PREPARACION DE LAS DILUCIONES

- Agitar vigorosamente cada recipiente de leche, invirtiendo repetidas veces los envases hasta homogeneizar su contenido.
- Tomar 1 ml de leche con una pipeta de 1 ml y transferirlo a un tubo de dilución con 9 ml de agua peptonada al 0.1 %.

Esto constituye la dilución 1:10 (tubo 1).

- Tomar 1 ml de leche diluida del tubo 1 con una pipeta de 1 ml. y transferirlo a un tubo de dilución con 9 ml de agua peptonada al 0.1 %.

Esto constituye la dilución 1:100 (tubo 2).

En cada transferencia, dejar que el líquido salga espontáneamente de la pipeta.

No arrastrar las pipetas en el cuello de los frascos.

No soplar.

Para aforar el líquido en las pipetas, su punta debe aplicarse al interior del cuello de los frascos y éstos deben mantenerse en posición vertical, para lo cual los frascos deben inclinarse.

Agitar los tubos haciendo 25 movimientos de abajo hacia arriba en 7 segundos, con un arco de 30 cm, después de cada transferencia.

Utilizar pipeta diferente en cada transferencia.

INOCULACION DE LAS CAJAS

Método de vaciado en placa.

Fundamento: Cada colonia proviene de una célula viable.

(31)

RECUESTO DE BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS

- Con una pipeta de 1 ml, transferir 1 ml de cada una de las diluciones a cajas de petri y de la muestra de leche sin diluir.
- Sembrar las diluciones 1:10 y 1:100 y de la muestra de la leche sin diluir aplicando la punta de la pipeta al fondo de la caja mientras escurre el líquido.
- Agregar de 12 a 15 ml de agar para métodos estándar fundido y mantenido a una temperatura de $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

- Mezclar con movimientos rotatorios alternados:

6 movimientos circulares de izquierda a derecha.

6 movimientos circulares de derecha a izquierda.

6 movimientos rectos de izquierda a derecha.

6 movimientos rectos de arriba hacia abajo.

(Tener cuidado de que el medio no moje la cubierta de las cajas)

- Preparar una caja sin inóculo por cada matraz del medio como testigo de esterilidad, al inicio del trabajo y al final del trabajo.

- Preparar una caja con 1 ml de diluyente (agua peptonada 0.1%) como testigo de esterilidad.

- Dejar solidificar.

- Incubar las cajas en posición invertida a 35°C durante 48 horas.

Lectura:

Seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 20 y 200 colonias para efectuar el recuento.

Multiplicar por el inverso de la dilución para obtener el número de colonias por ml, en los casos requeridos.

Informar:

UFC de bacterias mesofílicas aerobias por ml. de leche.

(Diagrama No.2)

RECuento DE ORGANISMOS COLIFORMES

- Inocular 1 ml de la muestra sin diluir y de la dilución 1:10 y 1:100 en cajas de petri.
- Agregar de 12 a 15 ml de medio rojo violeta bilis agar fundido y conservado a $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

- Mezclar con movimientos rotatorios alternados:

6 movimientos circulares de izquierda a derecha.

6 movimientos circulares de derecha a izquierda.

6 movimientos rectos de izquierda a derecha.

6 movimientos rectos de arriba hacia abajo.

- Dejar solidificar.
- Agregar una bicapa del medio rojo violeta bilis agar fundido y conservado $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Dejar solidificar.
- Incubar a 35°C durante 24 horas.

Lectura:

- Contar como coliformes las colonias de color rojo púrpura que exhiban un halo de precipitación típico y generalmente de un tamaño aproximado de 0.5 - 2.0 mm de diámetro.

Informar:

UFC de Organismos Coliformes/ml de leche. (Diagrama No. 3)

DIAGRAMA No. 2

PROCESAMIENTO DE LECHE MATERNA EN
LA DETERMINACION DE BACTERIAS
MESOFILICAS AEROBIAS

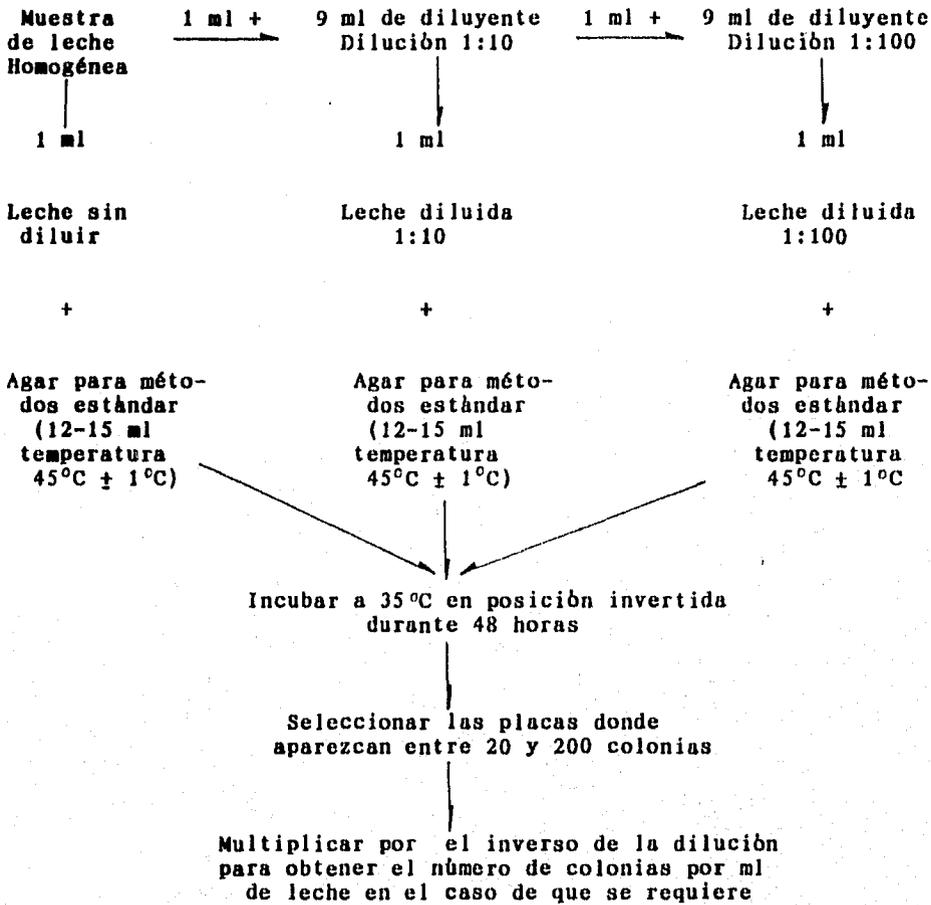
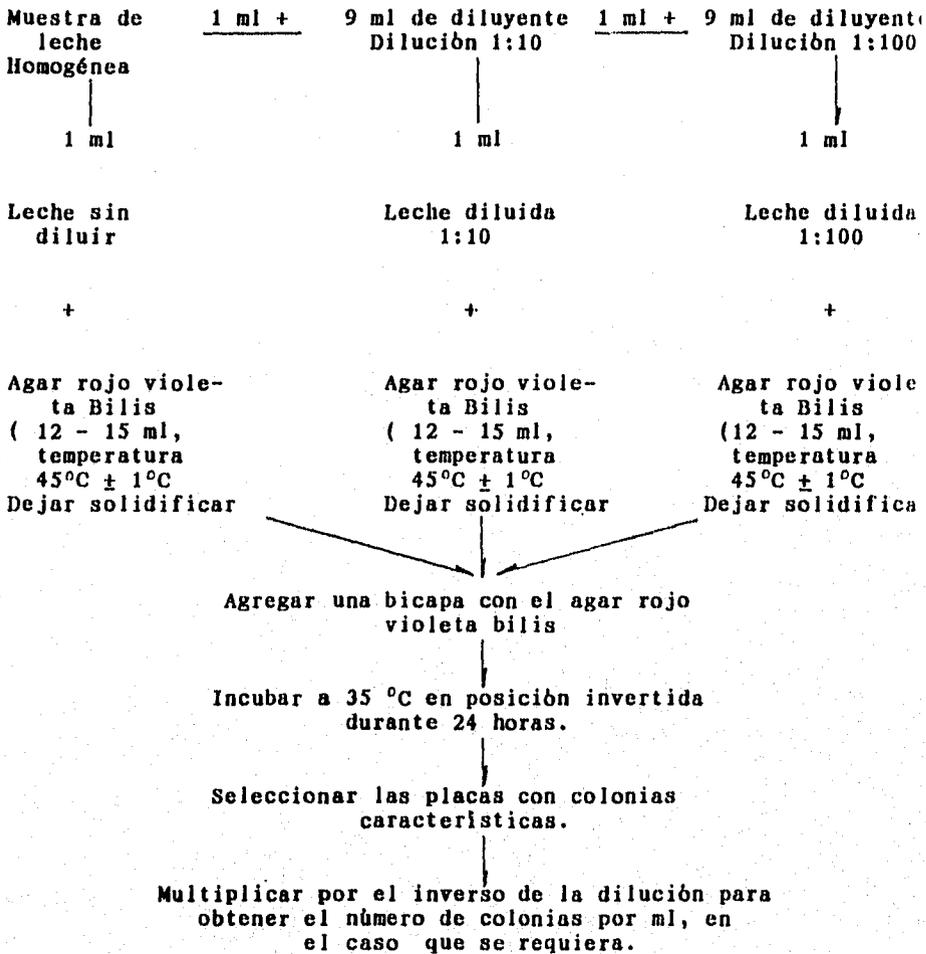


DIAGRAMA No. 3

PROCESAMIENTO DE LECHE MATERNA EN LA DETERMINACION DE ORGANISMOS COLIFORMES



RESULTADOS

De las primeras 20 muestras que se recolectaron para seleccionar la mejor vía de obtención del producto, al realizar la cuenta de organismos coliformes del chorro inicial, se observó que 4 muestras presentaron crecimiento de estos organismos. (Cuadro No. 3 y Gráfica I)

En el caso donde se estudió el chorro posterior, se obtuvo ausencia de organismos coliformes en las 20 muestras (Cuadro No. 4 y Gráfica II)

En la Gráfica III se observa la negatividad de crecimiento de organismos coliformes al eliminar los primeros chorros de leche.

De las 20 muestras estudiadas donde no se eliminaron los primeros chorros de leche para el recuento de mesofílicos aerobios, se obtuvieron cuentas con un mínimo de 6 000 UFC/ml, y un máximo de 40 000 UFC/ml y una mediana de 14 000 UFC/ml. (Cuadro No. 5, Gráfica IV y Cuadro No. 6)

En las muestras donde se eliminaron los primeros chorros de leche, se obtuvieron cuentas de mesofílicos aerobios con un mínimo de 5 000 UFC/ml, un máximo de 15 000 UFC/ml y una mediana de 10 000 UFC/ml. (Cuadro No. 7 Gráfica V y Cuadro No. 8)

En la Gráfica VI se observa una disminución en la carga microbiana en todas las muestras donde se eliminaron los primeros chorros de leche.

De las 100 muestras posteriores una vez seleccionada la vía de obtención adecuada, en el Cuadro No. 9 se pueden ver los resultados de la cuenta de mesofílicos aerobios y en el Cuadro No.10 se puede observar que se obtuvo un mínimo de 0 UFC/ml, un máximo de 15 000 UFC/ml y una mediana de 6 000 UFC/ml

En el cuadro No. 11 y Gráfica VII se puede observar la distribución de las frecuencias de mesofílicos aerobios en 100 muestras de leche materna, eliminando los primeros chorros de leche.

En el Cuadro No. 12, Gráfica VIII se presentan los resultados de la cuenta de organismos coliformes, como se puede ver en todas las muestras no hubo crecimiento de estos organismos.

CUADRO No. 3
CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

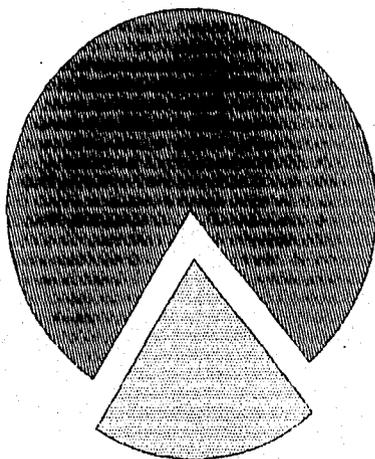
No.	UFC/ml
1	0
2	0
3	1
4	0
5	4
6	0
7	0
8	0
9	0
10	0
11	0
12	0
13	0
14	1
15	0
16	0
17	1
18	0
19	0
20	0

Sin eliminar los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.

GRAFICA No. 1

CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

20 MUESTRAS



4 POSITIVAS

Sin eliminar los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.

CUADRO No. 4
CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

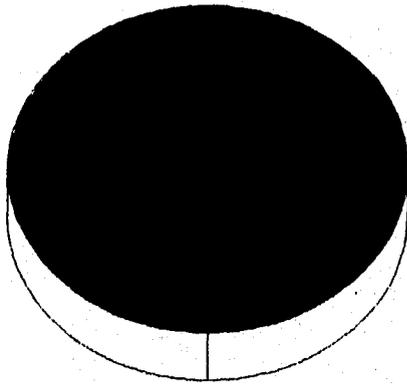
No.	UFC/ml
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	0
7	0
8	0
9	0
10	0
11	0
12	0
13	0
14	0
15	0
16	0
17	0
18	0
19	0
20	0

Eliminando los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.

GRAFICA No. II

CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

20 MUESTRAS



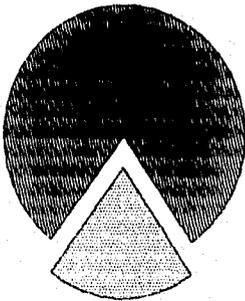
0 POSITIVAS

**Eliminando los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.**

GRAFICA No. III

ANALISIS COMPARATIVO
DE ORGANISMOS COLIFORMES

20 MUESTRAS

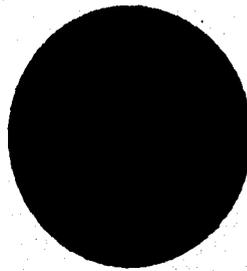


4 positivos

sin eliminar

los primeros chorros
de leche

20 MUESTRAS



0 positivos

eliminando

los primeros chorros
de leche

CUADRO No. 5
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

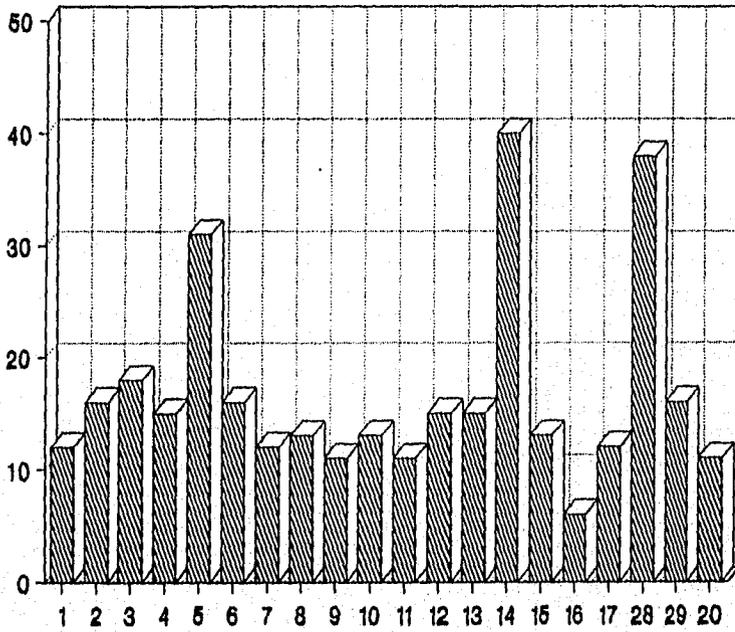
Num.	UFC/ml	UFC/ml arreglo ordenado
1	12 000	6 000
2	16 000	11 000
3	18 000	11 000
4	15 000	11 000
5	31 000	12 000
6	16 000	12 000
7	12 000	12 000
8	13 000	13 000
9	11 000	13 000
10	13 000	13 000
11	11 000	15 000
12	15 000	15 000
13	15 000	15 000
14	40 000	16 000
15	13 000	16 000
16	6 000	16 000
17	12 000	18 000
18	38 000	31 000
19	16 000	38 000
20	11 000	40 000

Sin eliminar los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras

GRAFICA No. IV

CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

Miles de
UFC/ml



MUESTRAS

Sin eliminar los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.

CUADRO No.6
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

VALOR	UFC/ml
MINIMO	6 000
MEDIANA	14 000
MAXIMO	40 000

Sin eliminar los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.

CUADRO No. 7
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

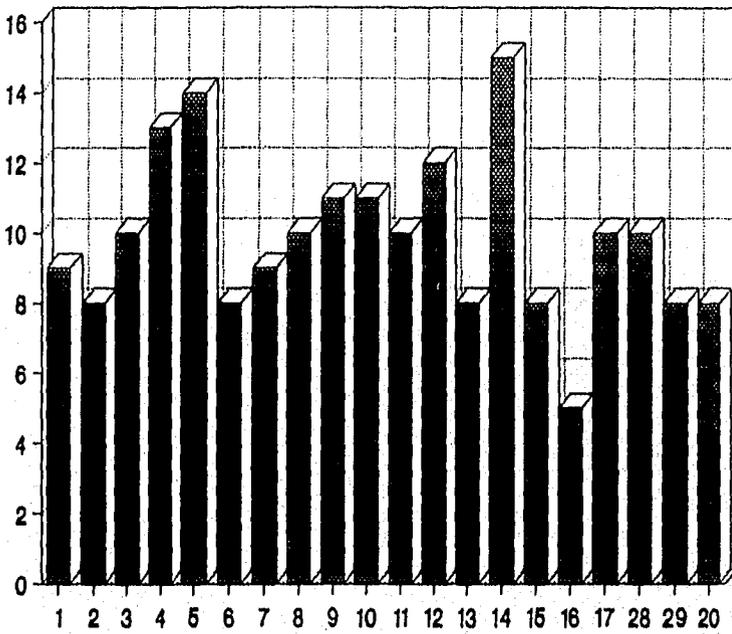
No.	UFC/ml	UFC/ml arreglo ordenado
1	9 000	5 000
2	8 000	8 000
3	10 000	8 000
4	13 000	8 000
5	14 000	8 000
6	8 000	8 000
7	9 000	8 000
8	10 000	9 000
9	11 000	9 000
10	11 000	10 000
11	10 000	10 000
12	12 000	10 000
13	8 000	10 000
14	15 000	10 000
15	8 000	11 000
16	5 000	11 000
17	10 000	12 000
18	10 000	13 000
19	8 000	14 000
20	8 000	15 000

Eliminando los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.

GRAFICA No. V

CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

MILES de
UFC/ml



MUESTRAS

Eliminando los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.

CUADRO No. 8
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

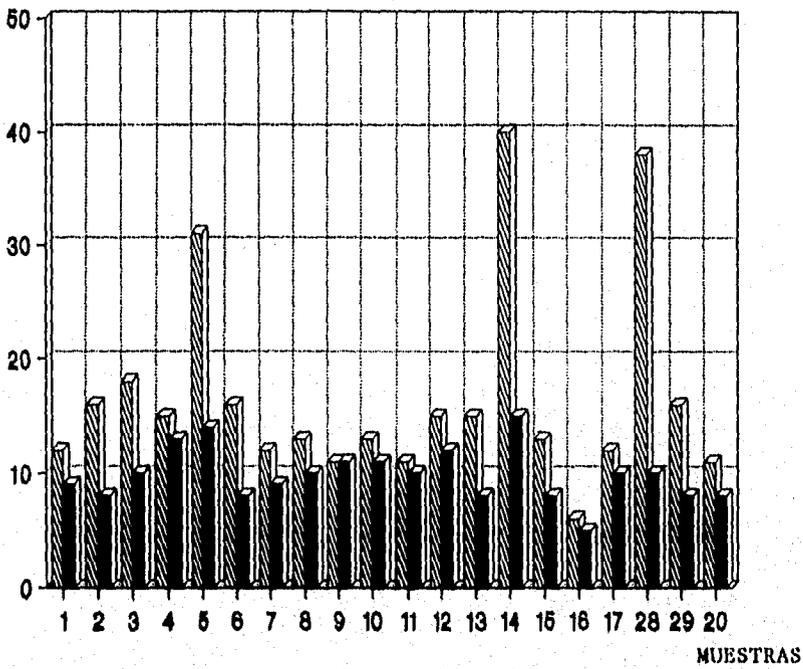
VALOR	UFC/ml
MINIMO	5 000
MEDIANA	10 000
MAXIMO	15 000

**Eliminando los primeros chorros de leche,
en las primeras 20 muestras.**

GRAFICA VI

ANALISIS COMPARATIVO DE
MESOFILICOS AEROBIOS

MILES de
UFC/ml



▨ Sin eliminar

■ Eliminando

Los primeros chorros de leche.

CUADRO No. 9
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

No.	UFC/ml	No.	UFC/ml
1	6 000	21	5 000
2	8 000	22	5 000
3	10 000	23	2 000
4	8 000	24	3 000
5	11 000	25	4 000
6	12 000	26	2 000
7	4 000	27	6 000
8	15 000	28	11 000
9	12 000	29	9 000
10	11 000	30	6 000
11	11 000	31	0
12	12 000	32	4 000
13	11 000	33	6 000
14	13 000	34	8 000
15	12 000	35	9 000
16	10 000	36	10 000
17	6 000	37	11 000
18	5 000	38	3 000
19	8 000	39	8 000
20	4 000	40	10 000

Eliminando los primeros chorros de leche,
en las 100 muestras posteriores.

(Continuación de.) CUADRO No. 9
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

No.	UFC/ml	No.	UFC/ml
41	10 000	61	4 000
42	14 000	62	6 000
43	12 000	63	10 000
44	13 000	64	9 000
45	12 000	65	0
46	6 000	66	3 000
47	8 000	67	8 000
48	6 000	68	8 000
49	10 000	69	9 000
50	4 000	70	11 000
51	4 000	71	6 000
52	0	72	8 000
53	5 000	73	9 000
54	6 000	74	10 000
55	6 000	75	6 000
56	4 000	76	8 000
57	8 000	77	6 000
58	7 000	78	4 000
59	6 000	79	8 000
60	5 000	80	8 000

Eliminado los primeros chorros de leche,
en las 100 muestras posteriores.

(Continuación de.) CUADRO No. 9
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

No.	UFC/ml
81	10 000
82	5 000
83	6 000
84	7 000
85	6 000
86	6 000
87	8 000
88	2 000
89	4 000
90	5 000
91	8 000
92	4 000
93	7 000
94	4 000
95	4 000
96	5 000
97	6 000
98	5 000
99	6 000
100	4 000

Eliminando los primeros chorros de leche,
en las 100 muestras posteriores.

CUADRO No. 10
CUENTA DE MESOFILICOS AEROBIOS

VALOR	UFC/ml
MINIMO	0
MEDIANA	6 000
MAXIMO	15 000

Eliminando los primeros chorros de leche,
en las 100 muestras posteriores.

CUADRO No. 11
FRECUENCIA DE MESOFILICOS AEROBIOS

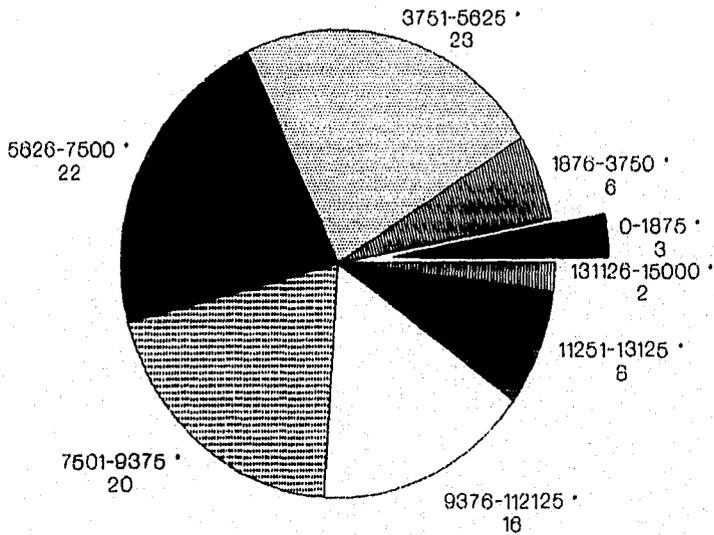
INTERVALO DE UFC/ml	FRECUENCIA	FRECUENCIA ACUMULADA
0 - 1875	3	3
1876 - 3750	6	9
3751 - 5625	23	32
5626 - 7500	22	54
7501 - 9375	20	74
9376 - 11250	16	90
11251 - 13125	8	98
13126 - 15000	2	100

En 100 muestras posteriores de leche materna,
eliminando los primeros chorros.

GRAFICA No. VII

DISTRIBUCION DE LAS FRECUENCIAS DE MESOFILICOS AEROBIOS

INTERVALO DE CLASE *
FRECUENCIA ()



Eliminando los primeros chorros de leche,
en las 100 muestras posteriores.

CUADRO No. 12
CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

No.	UFC/ml	No.	UFC/ml
1	0	21	0
2	0	22	0
3	0	23	0
4	0	24	0
5	0	25	0
6	0	26	0
7	0	27	0
8	0	28	0
9	0	29	0
10	0	30	0
11	0	31	0
12	0	32	0
13	0	33	0
14	0	34	0
15	0	35	0
16	0	36	0
17	0	37	0
18	0	38	0
19	0	39	0
20	0	40	0

**Eliminando los primeros chorros de leche,
en las 100 muestras posteriores.**

(Continuación de.) CUADRO No. 12
CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

No.	UFC/ml	No.	UFC/ml
41	0	61	0
42	0	62	0
43	0	63	0
44	0	64	0
45	0	65	0
46	0	66	0
47	0	67	0
48	0	68	0
49	0	69	0
50	0	70	0
51	0	71	0
52	0	72	0
53	0	73	0
54	0	74	0
55	0	75	0
56	0	76	0
57	0	77	0
58	0	78	0
59	0	79	0
60	0	80	0

Eliminando los primeros chorros de leche,
en las 100 muestras posteriores.

(Continuación de.) CUADRO No. 12
CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

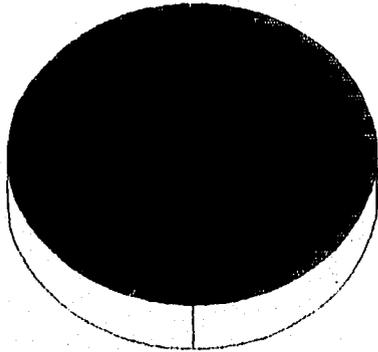
No.	UFC/ml
81	0
82	0
83	0
84	0
85	0
86	0
87	0
88	0
89	0
90	0
91	0
92	0
93	0
94	0
95	0
96	0
97	0
98	0
99	0
100	0

Eliminando los primeros chorros,
en las 100 muestras posteriores de leche materna.

GRAFICA No. VIII

CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES

100 MUESTRAS



0 POSITIVAS

Eliminando los primeros chorros de leche.
En las 100 muestras posteriores.

DISCUSION

El neonato posee un sistema competente para la producción de anticuerpos y mecanismos efectores celulares, no obstante, el nacimiento se caracteriza por la falta de IGA en superficies mucosas y suero.

Se sabe que el calostro y la leche humana contribuyen en la protección y resistencia del lactante para la eliminación de los microorganismos patógenos, estudios recientes demuestran que la calidad de la leche materna no depende del nivel económico, edad y número de gestaciones de la madre. (22,23)

Por lo anterior y sabiendo que es el alimento ideal por sus propiedades nutritivas, su empleo en los cuñeros patológicos va en aumento, por lo que es necesario garantizar su calidad higiénica, debido a que cuando la leche se encuentra en la glándula mamaria de la mujer es estéril. Sin embargo durante el proceso de la extracción, la leche está expuesta a la contaminación por microorganismos de la propia mujer, sobre todo por los existentes en la parte externa de la glándula mamaria y zonas próximas a la misma.

Bacterias encontradas en el medio ambiente, equipo empleado para su obtención y la conservación a temperatura inadecuada son importantes fuentes de contaminación.

Por lo que uno de los problemas principales que se afronta en los hospitales donde se proporciona leche materna a los neonatos del cuero patológico, es el riesgo potencial de que el recién nacido vaya a recibir leche contaminada.

De acuerdo a lo anterior es necesario la determinación de criterios microbiológicos que nos permitan valorar la calidad de la leche que están recibiendo los recién nacidos.

Se analizaron 120 muestras de leche materna humana (por duplicado) procedentes de madres clínicamente sanas, recolectadas por extracción manual, sabiendo que la contaminación bacteriana de este producto en los bancos de leche, ha sido vinculada al método de extracción utilizado, Tyson y Bjorksten (1982) han encontrado cuentas bacterianas superiores a 100 000 UFC/ml al emplear dispositivos mecánicos de extracción y la presencia de enterobacterias es constante, por lo anterior, en este estudio, las muestras se recolectaron por el método de extracción manual, minimizando así el riesgo de contaminación de la leche. (40,41) Las 20 primeras se obtuvieron de dos

formas, la primera sin eliminar el primer chorro y la segunda eliminándolo. Esto se propuso pensando en la forma de obtención de otros productos fisiológicos (orina) en donde es importante la eliminación para obtener resultados confiables. De este estudio obtuvimos recuentos mayores de mesofílicos aerobios y coliformes en las muestras sin eliminación y recuentos menores de mesofílicos y cuentas negativas para coliformes en muestras con eliminación.

A partir de estos resultados las siguientes 100 muestras se analizaron bacteriológicamente siguiendo la segunda forma antes mencionada.

Dentro de las indicaciones durante la extracción del producto incluimos que las madres no debían usar anillos, pulseras o collares ya que podrían contaminar la piel del pecho y por lo tanto la muestra.

El uso de cubrebocas es otro factor que disminuye el número de UFC/ml tanto de mesofílicos aerobios como de organismos coliformes.

En las 100 muestras trabajadas bajo condiciones de tirar el primer chorro, se encontró que el máximo valor para mesofílicos aerobios fue de 15 000 UFC/ml y el mínimo fue de cero, los neonatos que ingirieron dicha leche no presentaron problemas diarreicos ni respiratorios, debido al mejor manejo higiénico en la extracción de las muestras.

Nitin R. y colaboradores (1990) realizaron un estudio en el Departamento de Pediatría en la Escuela de Medicina de la Universidad de Georgetown en el cual reportaron un máximo de 100 000 UFC/ml de microorganismos no patógenos en leche materna (42), lo cual apoya los datos obtenidos en nuestro trabajo.

Debido a que aproximadamente el 74 % de las muestras analizadas cae en un rango menor a 9 000 UFC/ml de mesofílicos y que este rango es representativo del muestreo total, así como la frecuencia disminuye a valores más cercanos a 15 000 UFC/ml pensamos que la leche con dichos valores microbiológicos puede ser adecuada para el consumo de neonatos en cuneros patológicos, como lo afirma Nitin en su trabajo.(43) Para bacterias coliformes no se encontró crecimiento en las 100 muestras trabajadas, estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Nitin R. y colaboradores (1990), indicando que la leche se considera con una calidad higiénica excelente.

Las cuentas obtenidas para mesofílicos aerobios y organismos coliformes en el presente trabajo, comparadas con la Norma Oficial establecida para leches deshidratadas (44), se observa que los valores obtenidos están dentro de los límites de esta norma.

Por lo tanto sugerimos que incrementar las condiciones de extracción de la leche es sin duda el punto clave para la obtención de leche confiable para el uso en cuneros patológicos.

CONCLUSIONES

En este estudio se concluye que debe haber ausencia de organismos coliformes en leche materna, en base a la utilización de criterios microbiológicos.

El criterio microbiológico para microorganismos mesofílicos aerobios debe ser menor o igual a 9 000 UFC/ml, ya que este rango es representativo de la mayoría de las muestras (74%) analizadas y no hubo problema diarreico ni respiratorio en los recién nacidos alimentados con leche conteniendo esta carga microbiana.

En la población estudiada si no se elimina el primer chorro, la leche corre el riesgo de contaminarse con microorganismos coliformes, así como una mayor cantidad de mesofílicos aerobios.

Estos criterios pueden ser utilizados en hospitales que manejan cunero patológico, así la leche humana que les proporcionen a los recién nacidos será higiénica.

Con este estudio se pueden apoyar a los Químicos Clínicos que realizan control sanitario de éstos alimentos, para garantizar una buena calidad higiénica.

APENDICE

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO.

Agar para métodos estándar triptona extracto de levadura.

Para cuenta total de microorganismos en leche y otros materiales de importancia sanitaria.

Fórmula para 1000 ml. de agua destilada.

- Peptona de caseína	5.0	g
- Extracto de levadura	2.5	g
- Dextrosa	1.0	g
- Agar	15.0	g

Método de preparación:

- Suspender 23.5 g del polvo en un litro de agua destilada mezclar perfectamente, calentar con agitación frecuente y hervir durante un minuto hasta la disolución completa.

Distribuir y esterilizar a 121°C por 15 minutos, 15 lbs de presión (autoclave) pH final 7.0 ± 0.2.

Agar Bilis y Rojo Violeta

Para la detección de microorganismos coliformes.

Fórmula para 1000 ml. de agua destilada.

- Extracto de levadura	3.0	g
- Peptona de gelatina	7.0	g
- Mezcla de sales biliares	1.5	g
- Lactosa	10.0	g
- Cloruro de sodio	5.0	g
- Agar	15.0	g
- Rojo neutro	0.030	g
- Cristal violeta	0.002	g

Método de preparación:

Suspender 41.5 g de polvo en un litro de agua destilada, mezclar perfectamente, calentar con agitación frecuente y hervir por un minuto hasta la disolución completa.

Enfriar de 42 °C a 44 °C aproximadamente y usar inmediatamente si se prefiere esterilizar en autoclave a 121°C 15 lbs de presión, pH final 7.4 ± 0.2.

SOLUCION DILUYENTE.

Peptona de gelatina:

Nitrógeno total	15.9	%
Nitrógeno aminico	1.9	%
Cloruro de sodio	1.0	%
Humedad	4.5	%
pH	7.1 ± 0.2	

Método de preparación:

Suspender 1 g del polvo en un litro de agua destilada, mezclar perfectamente hasta la disolución total y poner en tubos de rosca 9 ml y esterilizar en autoclave a 121°C, 15 lbs. durante 15 minutos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Houssay B.A. 1989. Fisiología Humana, Metabolismo y Endocrinología Reproducción 6a. Edición, Editorial el Ateneo, pp. 40-43.
2. Lawrence R. et. al. 1987 Clínicas de Perinatología, Nueva Editorial Interamericana, Vol.I pp. 2-8.
- 3.- Guyton A.C. 1988. Tratado de Fisiología Médica, 7a Edición, Editorial Interamericana Mc Graw Hill, pp. 984-987.
- 4.- Tortora G.J. et. al. 1989. Principios de Anatomía y Fisiología, 5a. Edición, Editorial Harla pp. 942-944, 986.
- 5.- Ganon W.F. 1968. Manual de Fisiología Médica, 2a Edición, El Manual Moderno, pp. 402- 405.
- 6.- William W. et. al. 1991. Neonatal Nutrition and Metabolism, 1a. Edición, Mosby-year book, pp. 260-281.
- 7.- Benson R.C. 1973. Manual de Ginecología y Obstetricia, 3a. Edición, El Manual Moderno S.A., pp 196-198.
- 8.- Behrman R.E. et. al. 1987. Tratado de Pediatría, 13a. Edición, Editorial Interamericana, Vol.I pp. 130-136.
- 9.- Laugier J.F. et. al. 1980. Manual de Neonatología, 1a. Edición, Editorial Masson, pp. 57-63.
- 10.- Gordon B.A. 1987. Neonatología, 3a. Edición, Editorial Panamericana, pp. 1189-1200.
- 11.- Luke B. et. al. 1983. Nutrición materna, 1a. Edición, Editorial Salvat S.A., pp. 141-151.

- 12.- Cooper D. 1988. Nutrición y Dieta 17ava Edición, Nueva Editorial Interamericana, México D.F., pp. 343-347.
- 13.- Cravioto A. 1990. Presencia de Factores específicos en leche materna contra cepas de *Escherichia coli* causantes de diarrea en humanos, Gaceta Médica de México, Vol. 126 Num 1, pp. 35-42.
- 14.- May J. 1988. Microbial contaminants and antimicrobial properties of human milk, Microbiological Sciences, Vol. 5, No. 2, pp. 42-46.
- 15.- Pisacane A. et. al. 1992. Breast-feeding and urinary tract infection, J. Pediatr., 120 (1), pp. 87-89.
- 16.- Yolken R.H. et.al. 1992. La mucina de la leche materna inhibe la reproducción de rotavirus y previene la gastroenteritis experimental, Pediatric Infections Diseases John Hopkins University, pp. 1984-1991.
- 17.- Goldman A.S. et. al. 1987. Future Research in Human Milk, International Pediatric Research Fundation Vol. 22 No. 5, pp. 493-495.
- 18.- Finkelstein M.B. et. al. 1985. Antimicrobial effects of Human Milk: Inhibitory activity on enteric pathogens Departments of Biochemistry and Microbiology, University of Missouri Health Science Center, Columbia pp. 167-174.
- 19.- Jawetz E. et.al. 1973. Manual de Microbiología Médica, 5a Edición, El Manual Moderno, pp. 290-291.

- 20.- Veisseyre R. Lactología Técnica, 2a Edición, Editorial Acribia, pp. 40-53.
- 21.- Alais Ch. Ciencia de la leche, 1a Edición, Editorial Continental, pp. 51, 168, 174.
- 22.- Bryon W. et. al. 1991. Responce of Bifidobacteium species to Growth Promoters in human and Cow Milk, Pediatric Research, 29: 208-213.
- 23.- Acosta G. et. al. 1992. Inmunología del calostro y y leche humana. Artículo de revisión. Enfermedades infreciosas y Microbiología. Vol. 12, No.6. pp. 293-301.
- 24.- Welsh J.K. et. al. 1979. Anti-infective properties of breast milk, The Journal Pediatrics Vol. 94, No.1, pp. 1-6.
- 25.- Goldman A.S. et. al. 1986. Anti-inflammatory Systems in human Milk, The University of Texas Medical Branch Galveston, pp. 69-72.
- 26.- Acosta G. et. al. 1985. Anticuerpos Anti Entamoeba histolytica de clase IgA en el calostro de mujeres mexicanas. Inmunología, Vol. 4 pp.24-27.
- 27.- Kabara B.J. 1980. Lipids as Host-Resistance Factors of Human Milk, Nutrition Reviews, Vol. 38 No.2, pp. 65-71.
- 28.- Acosta G. et. al. 1988. Detección de anticuerpos IgA contra LPS de Salmonella typhy en muestras de suero y calostro. Perinatol Reprod Hum; Vol 2, pp. 133-136.

- 29.- Jay J.M. 1978. Microbiología Moderna de los Alimentos,
2a. Edición, Editorial Acribia, pp. 300-305.
- 30.- Elliot R.P. et. al. 1975. Microorganismos de los
alimentos, Editorial Acribia, Vol. 1, pp. 7-9.
- 31.- Fernández E.E. 1981. Microbiología Sanitaria.
Universidad de Guadalajara, Vol. 1, pp. 173-197.
- 32.- Personal docente del departamento de Microbiología
Sanitaria 1983. Manual del Laboratorio de
Microbiología Sanitaria, Departamento de Microbiología
ENCB. I.P.N., 1a. Edición Mex, pp 31.
- 33.- Ingram M. et. al., Microorganismos de los alimentos,
Editorial Acribia, Vol. II, pp. 127-130.
- 34.- Koneman E.W. et. al. 1989. Diagnóstico Microbiológico.
Editorial Panamericana, pp. 152-256.
- 35.- Finegold S.M. et.al. 1989. Diagnóstico Microbiológico,
7a Edición, Editorial Panamericana, pp. 375-394.
- 36.- Academia de Profesores de Bacteriología Médica 1983.
Manual de Bacteriología Médica ENCB I.P.N., México, 4a.
Edición, pp. 24-57.
- 37.- Davis B. D. Dulbeco R. et. al. 1973. Tratado
de Microbiología, Salvat Editores, pp. 773-806.
- 38.- Frazier W.C. et. al. 1993. Microbiología de los
alimentos, Editorial Acribia S.A., pp. 371-399.
- 39.- IMSS. HGOT. Hospital amigo del niño y de la madre
UNICEF. 1995. Manual de procedimientos de lactancia
materna, pp. 200-201.

- 40.- Tyson J.E. et. al. 1982. Collection methods and contamination of bank milk. Arch Dis Child, 57 pp. 396-399.
- 41.- Bjorksten B. et. al. 1980. Collecting and banking human milk: to heat or not to heat? Br Med J. 281, pp. 765-769.
- 42.- Nitin R.M. et. al. 1990. Human Milk Banking: Current Concepts Indian J. Pediatr, 57 pp. 361-374.
- 43.- Wayne W.D. 1991. Bioestadística, 3a Edición, Editorial Limusa, pp. 17-59.
- 44.- Norma Oficial de Calidad de Leche para Lactantes. NOM-F-218, 1971, pp.2.