



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios de Posgrado

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"

TITULO DE LA TESIS:

**"ESTUDIO BACTERIOLOGICO DE LA LECHE HUMANA DONADA EN BANCO
DE LECHE DEL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA ISIDRO
ESPINOSA DE LOS REYES"**

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE:
**ESPECIALISTA EN
NEONATOLOGÍA**

PRESENTA:
DRA. SAMANTHA ZUÑIGA ZAVALA

DRA. IRMA ALEJANDRA CORONADO ZARCO
PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE NEONATOLOGÍA



DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO
DIRECTORA DE TESIS Y ASESORA METODOLOGICA



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

TITULO:

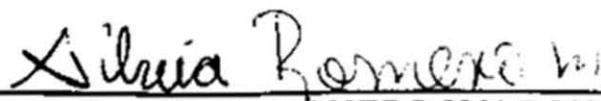
**"ESTUDIO BACTERIOLOGICO DE LA LECHE HUMANA DONADA
EN BANCO DE LECHE DEL INSTITUTO NACIONAL DE
PERINATOLOGÍA ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"**



**DRA. VIRIDIANA GORBEA CHÁVEZ
DIRECTORA DE EDUCACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD**



**DRA. IRMA ALEJANDRA CORONADO ZARCO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN
NEONATOLOGÍA**



**DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO
DIRECTOR DE TESIS Y ASESOR METODOLÓGICO**

INDICE	Pag.
DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTOS.....	5
RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	6
MATERIAL Y METODOS.....	
11	
ANALISIS ESTADISTICO.....	
12	
RESULTADOS	13
DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES	17
ANEXOS	18
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	22

Dedico este Trabajo:

A mis Padres Joaquín Zúñiga Ramos y Arminda Zavala Sotelo, por su inmenso amor, apoyo incondicional y respeto a mi profesión a los largo de estos años, agradezco infinitamente a la vida permitirme ser su hija, por que sin ustedes ningún logro obtenido sería posible, que me han demostrado que con dedicación, esfuerzo, perseverancia y todo lo que un día soñamos se puede lograr.

A mi hermano Jonathan Zúñiga Zavala por enseñarme que todo es posible a pesar de las caídas, y que con su enorme corazón cada día me inspira a ser un mejor ser humano, demostrándome que no hay mejor fortaleza que la familia.

Y por último dedico este trabajo a esos pequeñitos que sin saberlo contribuyeron a mi formación como Neonatóloga, en especial a esos angelitos que se nos adelantaron en el camino.

Con amor, respeto y admiración:

Samantha Zúñiga Zavala.

Agradecimientos

Agradezco profundamente al Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” por darme la oportunidad y privilegio de pertenecer a uno de los Hospitales más prestigiosos de país considerado la cuna de la Neonatología en México.

Doy las gracias todos los Médicos Adscritos a quienes considero mis maestros y muchos de ellos considerados una verdadera Institución que nos enseñan a mantenernos siempre a la vanguardia para brindarles lo mejor de nosotros mismos a nuestros pequeños guerreros.

En especial quiero dar las gracias y expresar mi admiración a mi asesora de Tesis la Doctora Silvia Romero Maldonado por su tiempo, dedicación y sobretodo paciencia para el desarrollo del presente trabajo.

Por último agradezco a mis compañeros residentes y amigos, a lo largo del tiempo me han enseñado que para ser familia no es indispensable compartir un apellido o un lazo sanguíneo, y que han hecho que estos 2 años sean una bella etapa no solo a nivel profesional.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: En la actualidad se sabe que la leche humana no es estéril, Se conoce que el *Staphylococcus epidermidis* puede estar presente, sin embargo en la actualidad se pueden encontrar diferentes bacterias que constituyen la microbiota de la leche humana.

OBJETIVO: Determinar la microbiota presente en la leche humana de las donadoras de leche del banco de leche del Instituto Nacional de Perinatología (INPer)

MATERIAL Y METODOS: Durante el 2016 a abril 2017 se incluyeron un total de 88 muestras de donadoras externas e internas de Banco de leche del INPer, la muestras estuvieron congeladas desde un inicio, posteriormente al ser descongeladas y quedando una pequeña porción de hielo se tomó una muestra para ser cultivada en agar sangre y MacConkey prepasteurización y postpasteurización.

RESULTADOS: Se encontró que en el grupo de pacientes Externas al INPer fue menor la vía de nacimiento por Cesárea $p \leq 0.024$, de estos se obtuvo que en el grupo de edad de 0-3 meses se encontró mayor número de cesáreas en comparación con los otros 2 grupos con una $p < 0.015$, que la bacteria *K. oxytoca* se asocia a nacimiento por Cesárea con $p \leq 0.05$, las bacterias de la familia Enterobacteriaceae predominaron en el grupo de edad de 0-3 meses en nacimientos por Cesárea $p \leq 0.015$, en este grupo de edad también se encontró mayor reporte de cultivo positivos en procedencia INPer con $p < 0.024$. Las bacterias más frecuentemente encontradas fueron *S. epidermidis* seguido de *Routella ornitholytica*.

INTRODUCCIÓN

La leche humana provee una completa alimentación, para el neonato, proporciona energía, nutrientes y componentes bioactivos que directamente influyen en el desarrollo de los recién nacidos. La leche humana es el elemento posnatal más relevante para la programación metabólica e inmunológica en la salud del recién nacido.¹ Esta es el alimento especie, específico para el ser humano, ofrece superioridad nutricional, provee componentes protectores incluyendo citocinas, y factores de crecimiento, dentro de las proteínas contiene la lisozima, lactoferrina las cuales en conjunto con los oligosacáridos, ayudan a la prevención de infecciones y estos últimos, favorecen el crecimiento de bacterias benéficas e interactúan con la microbiota intestinal² varían de acuerdo al periodo de lactancia con altos niveles en el calostro y disminución de su concentración en la leche madura.³

Hace algunos años se creía que la leche materna era un fluido estéril y se excluía de los análisis microbiológicos, en la actualidad se conoce en ciclo entero-mamario, se han identificado diferentes géneros como *Staphylococcus ssp*, *Streptococcus spp*, *Lactococcus spp*, *Leuconostoc spp*, *Weisella spp*, *Enterococcus spp*, *Propionibacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *bifidobacterium spp*, que por medio de la lactancia colonizan el intestino neonatal.⁴ Los primeros estudios que incluyeron cultivos para estudio de la microbiota de la leche humana fueron publicados en 2003 por el Dr. Juan Rodríguez et al. Este estudio se realizó en leche materna de 8 mujeres hispanas, encontrando *Lactobacillus gasseri* y *Enterococcus faecium* en leche humana, glándula, areola, piel, boca del recién nacido y heces.⁵

Se han descrito teorías para justificar la presencia de bacterias en la leche materna, la primera tradicionalmente describe que la microbiota era debido a contaminación con la piel alrededor de la glándula mamaria y se asume el paso de bacterias desde la boca del niño a la glándula mamaria materna favoreciendo el flujo retrogrado de los conductos mamarios, obtenidas desde el intestino materno además de inoculación durante el paso del canal de parto conocido como trasplante natural de bacterias. La segunda teoría conocida como migración activa postula una ruta entero-mamaria-endógena que considera que las bacterias del intestino materno colonizan a la glándula mamaria y finalmente pasan por medio de la leche al neonato contribuyendo a la maduración del sistema inmunológico del bebé.⁴

Algunos estudios ofrecen bases científicas y fisiopatológicas para la traslocación, el mecanismo involucra células dendríticas, CD18 y Células 49-51 que comprende bacterias no patológicas de el lumen intestinal y que subsecuentemente migran a otras localizaciones incluyendo la glándula mamaria. Una investigación de 2 grupos independientes obtenidos in vitro e in vivo refuerzan la hipótesis de que algunas bacterias de la leche humana pueden encontrar una ruta interna involucrando células dendríticas y macrófagos, por ejemplo *Lactobacillus strains* y *Lactobacillus gasseri*. Durante el embarazo la acción hormonal induce un cambio afectando el Ph de la microbiota, el tracto digestivo se caracteriza por crecimiento bacteriano, e incremento de la permeabilidad y reducción de la peristalsis, factores asociados a la traslocación bacteriana, finalmente los cambios anatómicos y fisiológicos del sistema mamario que incluye conductos, areola y pezones durante el embarazo facilita la formación específica de la microbiota mamaria.⁵

En la década pasada algunos estudios revelaron que tanto el calostro como la leche humana de mujeres saludables contienen bacterias incluyendo *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Lactococcus spp*, *Leuconostoc spp*, *Enterococcus spp*, *Propionibacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*, más tarde la aplicación de nuevas técnicas de cultivo confirmaron la presencia de ADN de estas y de otras bacterias.⁶ Un estudio reciente reporta que el genoma y

la microbiota de la leche humana lactante sanos, comparado con el genoma de mujeres que sufrieron mastitis. En mujeres sanas encontraron *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Faecalobacterium*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, así como Hongos y protozoarios, mientras que en la microbiota de mujeres con mastitis domina el *Staphylococcus aureus*. Existe una amplia diversidad de microbios que puede ser reportada en el calostro o en leche humana conforme esta va madurando.⁴ Jost et.al publicó un trabajo de caracterización de microbioma de Leche humana usando una combinación de cultivos y técnicas moleculares, para esto colectó leche humana de 7 mujeres Suizas sanas, 3 veces durante el primer mes postparto, encontrando *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Proteobacteria phyla* fueron predominantes con *Staphilococo*, *Streptococcus*, *Pseudomona*, *Ralstonia*, *Bifidobacterium*, *Blautia* y *Bacteroides*, miembros del genero *Enterococcus* y *Lactobacillus* están presentes en un 9.5 y 15% respectivamente. Cabrera Rubio et al⁵ en 2012, reporta que *Weisella*, *Leuconostoc*, *Staphilococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacilus* predominan en el calostro y microbiota típica de la cavidad oral *Veionella*, *Leptotrichia* y *Prevotella*, se encuentran de forma abundante en la leche madura. Entre 2007 a 2011 se recolectaron muestras del Banco de Leche King Edwart Memorial Hospital, Subiaco WA Australia⁷, fueron un total de 2890 muestras de 448 donadoras, de estas 2126 fueron aceptadas, 230 no tuvieron crecimiento bacteriano, la mayoría fue colonizada por comensales, seguida de germenes patógenos (28.5%), *Staphilococcus* coagulasa negativo fue la bacteria más prevalente, seguida de *Acinetobacter* spp 8.1% y *S. aureus* en un 5%.⁷ En un estudio piloto se estudiaron las muestras de leche humana de 10 mujeres y la saliva de sus hijos en el Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas, en mujeres mexicano-americanas, se detectaron 241 distintas especies taxonómicas; *Staphilococcus*, *Streptococcus* y *Neisseria* fueron los grupos filogenéticos más abundantes, estos representan menos del 10% de las bacterias observadas.⁸

En Abril del 2002, se tomaron muestras de calostro y de leche de 1 a 6 meses, se encontró que en el calostro los gérmenes más comunes fueron *Weisella* y *Leuconostoc* seguido de *Staphilococo*, *Streptococo* y *Lactococo*, mientras que en

la leche de 1 a 6 meses fueron *Vaillonella*, *Leptotricia* y *Provetella*. La diferencia de la composición taxonómica bacteriana vario entre las madres que obtuvieron a sus recién nacidos por vía vaginal o cesárea, las madres que tuvieron a sus hijos por cesárea mostraron una disminución de *Leuconostaceae* e incremento de *Carnobacteriaceae* en comparación con madres que tuvieron a sus hijo vía vaginal.²

En el 2010 la Asociación Europea para Pediatras, Gastroenterologos y Nutrición aprobó el uso de leche humana en recién nacidos pretermino como práctica rutinaria, provista de fortificadores con adición de los nutrientes necesarios para sus requerimientos. En Europa Operan 210 Bancos hasta el 2016.⁹ La calidad de la leche donada depende principalmente de las condiciones higiénico sanitarias en su manipulación, los criterios que determinan la calidad y seguridad microbiológica de la leche, previa pasteurización no están estandarizados y es necesario seguir las recomendaciones hechas por las guías internacionales y los propios protocolos de los bancos de leche, en cuanto a proveer leche materna con garantías sanitarias se recomienda realización de cultivo de muestras donadas postpasteurización, considerándose apta la leche cuando el resultado de los cultivos son negativos o con un crecimiento $-5\text{UFC}/10\mu\text{l}$ de microorganismos.¹⁰

En México, se siguen las guías de la Red de Iberoamérica de Brasil, las potenciales donadoras requieren de pruebas sanguíneas como son: Anticuerpos para HIV 1 y 2, Anti HTLV I y Anti HTLV II, Anticuerpos antihepatitis C, Antigenos de superficie y Anticuerpos para Hepatitis B y Anticuerpos para Sifilis, estas pruebas forman parte de las recomendaciones internacionales para Bancos de Leche.¹¹

Diversos tipos de microorganismos como virus, bacterias y parásitos, han sido identificados en la leche humana y el calostro, para identificar que son propios de la leche, se tienen que cumplir una serie de criterios en primer lugar el patógeno sospechoso de infección debe ser identificado en calostro y leche humana, el mecanismo de transmisión debe ser acorde al periodo de incubación y la

fisiopatología tanto del microorganismo como del huésped, el agente causante de la infección en madre e hijo debe ser el mismo en cuanto a serotipo, sensibilidad a fármacos o cualquier otro factor estudiado. finalmente es preciso excluir cualquier otro posible mecanismo de transmisión.¹²

Los factores que influyen en la colonización de la microbiota de la leche materna pueden ser extrínsecos como área geográfica materna, ambiente bacteriano circulante, tipo de parto, medidas de higiene, hábitos alimentarios y tratamientos con medicamentos⁴ por lo que es importante realizar una recolección adecuada de la muestra de la leche, esta se debe efectuar mediante extracción manual ya que las bombas y utensilios pueden ser una fuente de microorganismos ajenos a la glándula mamaria, para la siembra de muestras de la leche se recomienda utilizar medios de cultivo convencionales como agar sangre y agar chocolate, durante 18-24 h tras incubación a 35-37 °C, en casos determinados puede ser necesario ampliar la incubación a las 72 h, es importante discriminar entre las especies causantes de mastitis (*S. aureus*, *S. epidermidis*, estafilococos coagulasa negativos, *Rithia spp*, *Corynebacterium spp* y diversos estreptococos como pyogenes, agalactie, mitis, salivarius) y de aquellos que pueden formar parte de la microbiota normal como *Lactobacillus*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium spp*, *Propionebacterium spp*. En condiciones fisiológicas las concentración de bacterias recogidas suelen oscilar entre $1-3 \times 10^2$ UFC/ml con un límite máximo de $6-8 \times 10^2$ UFC/ml¹¹

MATERIAL Y METODOS

Se trata de un Estudio Observacional, transversal comparativo, realizado durante el periodo de durante 2016 a abril 217, se incluyeron reportes de los cultivos de leche humana de madres donadoras del Banco de Leche del Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”, se eliminaron pacientes cuyo expediente estuviera incompleto.

Se analizaron las variables como: Edad de las madres donadoras, la procedencia de la leche: Madres del INPer o Externas al INPer (EINPer), Tipo de Nacimiento Cesárea o Parto, Grupo de edad de la leche materna: 0-3 meses, 3-6 meses y 6 meses-1 año, reporte microbiológico, tipo de Bacterias: Cocos o Bacilos, Numero de UFC. Estos datos se recolectaron en la base de datos de Donadoras de Banco de Leche del INPer en el periodo de tiempo mencionado, con el Obejeto de determinar el tipo de microbiota de las donadoras del Banco de Leche Humana del INPer y como objetivo secundario evaluar la eficacia de la pasteurizadora sobre la eliminación de las bacterias.

Se realizaron subgrupos valorando: Tipo de nacimiento del recién nacido (parto o cesárea), edad de los recién nacidos al momento de la toma de cultivo (0- 3 meses, 3-6 Meses y de 6 meses a 1 año), Lugar de procedencia de la leche (INPer y Extra INPer), Tipo de Bacteria (cocos y bacilos), además de descripción y frecuencia de los Microorganismos Encontrados.

Se tomaron las muestras bajo la campana de flujo laminar de cada una de las muestras de leche de las donadoras, previo a la pasteurización, con tecnica esteril, mediante una asa individual desechable. Se tomaron dos muestra una en Agar sangre y MacConkey. El Agar MacConkey para aislar enterobacterias y bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, permite diferencia bacterias que no utilizan la lactosa, todas la familia enterobacteriaceae también se desarrollan). El agar Sangre es para el crecimiento de microorganismo exigente, tambien sirve para ver la capacidad hemólitica de los mircroorganismos patógenos, por lo que se considera un medio diferencial. Los estreptococcus beta-hemolíticos pueden exhibir reacciones hemolíticas alfa en lugar de beta, por su alto contenido de carbohidratos (almidón).

Se proceso la información el programa SPSS versión 17, para su análisis correspondiente.

ANALISIS ESTADISTICO

Se emplearon Medidas de tendencia central y de dispersión. Para la comparación entre grupos t de Student y χ^2 con un valor de $p < 0.05$ para su significancia estadística. y riesgos con IC 95% para evaluar la mayor frecuencia del algún germen de acuerdo a vía de nacimiento y edad de la leche

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 86 muestras de donadoras de leche humana recibidas en Banco de Leche del Instituto Nacional de Perinatología correspondientes a 57 mujeres con edad entre 17 y 41 años.

De las 86 muestras de acuerdo al tipo de nacimiento se encontró lo siguiente: Cultivos Positivos (Parto 34, Cesárea 22), Negativos (Parto 21, Cesárea 9) con una $p \leq 0.48$ (Ver gráfica 1), Procedencia INPer (Parto 4, Cesárea 8), EINPer (Parto 51, Cesárea 23), presenta la siguiente distribución por edad 0-3 meses (Parto 4, Cesárea 10), 3-6 meses (Parto 20, Cesárea 8), 6 meses- 1 año (Parto 31, Cesárea 13).

Se reportaron 56 muestras Positivas para algún germen (65.1%) y 30 negativas (34.9%), resultando positivos con la siguiente distribución por grupo de edad de la leche: 0-3 meses 12 ($p=0.24$), 3-6 meses 21 ($p=0.23$), 6m-1año 29 ($p=0.07$), detectando los siguientes microorganismos: *Candida albicans* (1) 1.2%, *Enterobacter aerogenes* (1) 1.2%, *Enterobacter cloacae* (7) 8.1%, *Enterococo faecalis* (5) 5.8%, *E. coli* 1 (1.2%), *Lecrercia adecarboxlata* (1) 1.2%, *K. oxytoca* (3) 3.5%, *K. pneumoniae* 2 (2.3%), *Raoutella ornithinolytica* (10) 11.6%, *S. epidermidis* 17 (19.8%), *S. gallinarum* (1) 1.2%, *S. hominis* (1) 1.2%, *Serratia marcensens* (5) 5.8%, *Serratia licuefaciens* (1) 1.2% y Sin Desarrollo (30) 34.9%. (Ver gráfica 2).

De los cultivos positivos por vía de nacimiento se obtuvo la siguiente distribución se encontró una *Cándida albicans* en el grupo de las cesareas. No hubo una diferencia estadística significativo de acuerdo a Bacterias Gram Positivas, ni por parto ni por cesarea, tampoco para las gram negativas, así como para Cocos y Bacilos con un valor de $p < 0.58$. Ni en frecuencia ni por germen. Ver tabla 3

El subgrupo de la familia Enterobacteriae se analizó en forma separada por grupo de edad con los siguientes resultados: Grupo de 0-3 meses (Parto 5, Cesárea 10) $p < 0.015$ $r = 2.2$, 3-6 meses (Parto 20, Cesárea 8) $p = 0.34$, 6 meses-1 año (Parto 5, Cesárea 10) $p = 0.37$.

Con respecto a los 55 resultados positivos para Bacterias comparado con la edad de la leche se obtuvieron los siguientes resultados: donadoras del INPer (0-3m 4, 6m-1 año 3) donadoras externas al INPer (0-3m 6, 3-6m 18, 6m-1 año 0), se analizaron por separado cada grupo de edad encontrando 0-3 meses (INPer 4, EINPer 7) $p = 0.024$, 3-6 meses (INPer 3, EINPer 18) $p = 1$, 6 meses- 1 año (INPer 0, EINPer 24) $p = 0.34$ (Ver gráfica 3 y 4); tipo de bacteria Cocos (0-3m 5, 3-6m 8, 6m-1 año 11) , Bacilos (0-3m 5, 3-6m 13, 6m-1 año 13).

El grupo de 0 a 3 meses presenta la siguiente distribución bacteriana: *Enterobacter cloacae* (2) $p < 0.61$, *Enterococo faecalis* (1) $p < 1$, *E. coli* (1) $p < 0.2$, *K. pneumoniae* (1) $p < 0.36$, *Raoutella ornithinolytica* (1) $p = 0.66$, *S. epidermidis* (4) $p < 0.28$, subgrupo de Enterobacterias (6) $p < 1$.

En el grupo de 3 a 6 meses se encontraron los siguientes germenés: *Enterobacter cloacae* (3) $p < 1$, *Enterococo faecalis* (1) $p = 0.63$, *Lecrercia adecarboxlata* (3-6m1) $p < 0.38$, *K. pneumoniae* (1) $p = 1$, *Raoutella ornithinolytica* (6) $p < 0.15$, *S. epidermidis* (6) $p < 1$, *S. hominis* (1) $p < 0.38$, *Serratia marcescens* (2) $p < 1$, subgrupo de Enterobacterias (14) $p < 0.35$.

El grupo de 6 meses a 1 año presenta la siguiente frecuencia: *Enterobacter aerogenes* (1) $p = 0.41$, *Enterobacter cloacae* (2) $p < 0.65$, *Enterococo faecalis* (3) $p < 0.53$, *K. oxytoca* (3) $p < 0.27$, *Raoutella ornithinolytica* (3) $p < 0.44$, *S. epidermidis* (7) $p < 0.56$, *S. gallinarum* (1) $p = 0.41$, *Serratia marcescens* (3) $p < 0.63$, *Serratia liquefaciens* (1) $p = 0.41$, subgrupo de Enterobacterias (16) $p = 0.51$.

Por ultimo, el metodo Holder es un metodo eficaz para la garantizar la esterilidad de la leche donada, considerando que todos los cultivos postpasteurización han sido negativos. Estos se realizan de cada uno de los frascos de cada carga pasteurizada.

DISCUSIÓN

Del total de la población se encontró que 56 muestras de las 86 cultivadas y analizadas, 56 presentaron cultivos positivos representando el 65.1%, 30 muestras negativas, que representan el 34.9%, observando que respecto a otras publicaciones como un estudio Australiano, realizado en el banco de leche King Edwart donde tiene un porcentaje mayor de cultivos positivos en un 89%, respecto al INPer 65.1% de las muestras analizadas, así mismo con respecto al Banco de Leche del Centro Médico Seton en Austin Texas donde tambien refieren el 88% de positividad en sus muestras de leche prepasterurización. Esto puede ser debido a el adiestramiento personalizado que las pacientes donadoras tienen en el banco de leche del INPer sobre el manejo de su leche y a utilización de gorro y cubrebocas, en nuestro estudio la prevalencia del *Staphilococcus epidermidis* fue menor.

El resultado de los microorganismos aislados en el presente estudio difiere de la bibliografía encontrada; existe un estudio de leche en madres de procedencia México-Americano con una población muy similar a la nuestra, publicado en 2016 donde reportan en orden de frecuencia: *Streptococo*, *Staphylococo* y *Neisseria* mientras que en nuestra población fue *Staphylococo*, *Raoutella* y *Enterobacter*. Existen otros reportes donde el germen mas frecuente ha sido la especie del género *Staphylococo* fue la bacteria con mayor prevalencia, llama a atención el reporte del centro de Ausin Texas donde la colonización por dicho germen puede alcanzar hasta un 87% de sus muestras, por lo que tenemos que revisar la edad de la leche, y la técnica de extracción ya que el uso de extractores conlleva a una

mayor contaminación y en nuestro centro la mayoría de las extracciones son manuales.

De los cultivos positivos, la familia bacteriana de mayor prevalencia fue Enterobacteriae (36) en un 64.2% que incluyen especies como *Enterobacter*, *Enterococo*, *Raoutella*, *Klebsiella*, *Serratia* y *Lecrercia*. Es de llamar la atención la alta prevalencia de *Raoutella ornithinolytica*, la cual se encuentra habitualmente en heridas, tracto urinario y sangre, ya que no se encontraron estudios donde se documente hallazgo de esta especie en leche humana.

Se realizó correlación de los gérmenes reportados con la vía de nacimiento encontrando significación estadística para *K.oxytoca* en nacimientos vía cesárea con $p=0.05$, se encontró que en el grupo de 0-3 meses presenta más riesgo de cultivo positivo para enterobacterias si nace por cesárea vs parto con una $p=0.015$ ($r 2.2$), estos resultados difieren de los reportes del estudio realizado por Cabrera Rubio et.al. En cuanto a la procedencia de la leche humana se obtuvo que los cultivos positivos en el grupo de 0-3 meses cuando es madres externas al INPer fue mayor que las que sus hijos nacieron en INPer con $p=0.024$.

Este estudio nos brinda una pauta para abrir nuevas líneas de investigación lo que nos podría permitir en un futuro conocer más acerca del microbioma de la leche en nuestra población ya que bacterias como *Lactobacillus*, *Veionella*, *Leptotrichia*, *Prevotella* entre otros que no se pueden demostrar con los métodos diagnósticos actuales de nuestra unidad.

CONCLUSIONES

1. Hubo una mayor prevalencia de cultivos positivos en el grupo de 6 a 1 año de edad, este caso se encontro una mayor prevalencia de caso de *K. oxytoca* en vía cesárea.
2. El germen mas frecuentemente encontrado fue el *Staphylococcus epidermidis* y segundo lugar la *Routella ornitholytica*.
3. El tipo de germen encontrado difere de estudio a estudio y va a depender de la microbiota materna.
4. Las características socio demográficas puedan ayudar a entender la diferencia tan marcada de las bacterias reportadas en este estudio en comparación con la literatura revisada.
5. La discordancia entre los resultados pudiera deberse en primer lugar a la forma de recolección de muestra y en segundo lugar a que en nuestro medio no contamos con PCR para determinación de ADN bacteriano.

ANEXOS

Tabla 1. Variables en Estudio

VARIABLES EN ESTUDIO	RESULTADO	
	n=86	%
TIPO DE NACIMIENTO		
Parto	55	63.95
Cesárea	31	36.05
PROCEDENCIA DE LA LECHE		
INPer	12	14
EINPer	74	86
GRUPOS DE EDAD DE LA LECHE		
0-3 MESES	14	16.2
3-6 MESES	28	32.6
6 MESES- 1 AÑO	44	51.2
REPORTES DE CULTIVOS		
Positivos	56	65.1
Negativos	30	34.9

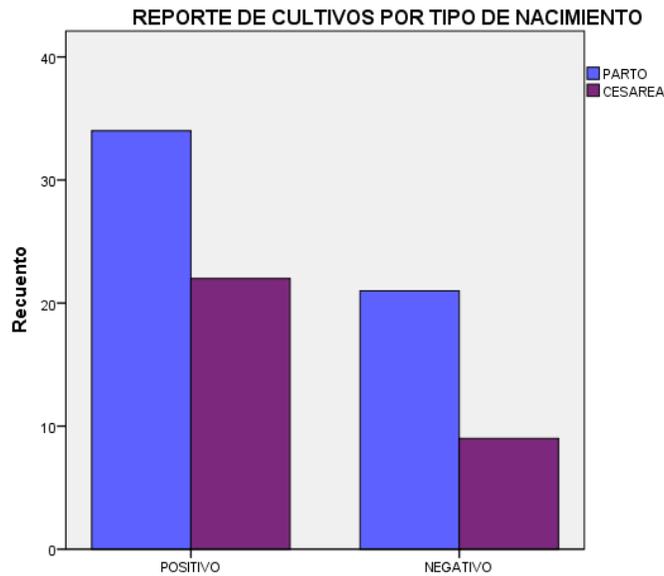
Tabla 2: Reporte de Cultivos positivos por tipo de Nacimiento.

REPORTE	PARTO		CESAREA		VALOR DE P
	n= 34	%	n=22	%	
E. cloacae	4	7.2	3	5.4	1
E. aerogenes	-	-	1	1.8	0.38
E. faecalis	3	5.3	2	3.6	1
E. coli	1	1.8	-	-	1
K. oxytoca	-	-	3	5.4	0.05
K. pneumoniae	1	1.8	1	1.8	1
L. dexcarboxilata	1	1.8	-	-	1
R. ornitholytica	6	10.8	4	7.2	1
S. epidermidis	12	21.6	5	9	0.54
S. gallinarum	-	-	1	1.8	0.38
S. hominis	1	1.8	-	-	1
S. marsescens	4	7.2	1	1.8	0.63
S. licuefaciens	1	1.8	-	-	1
C. albicans	-	-	1	1.8	0.39

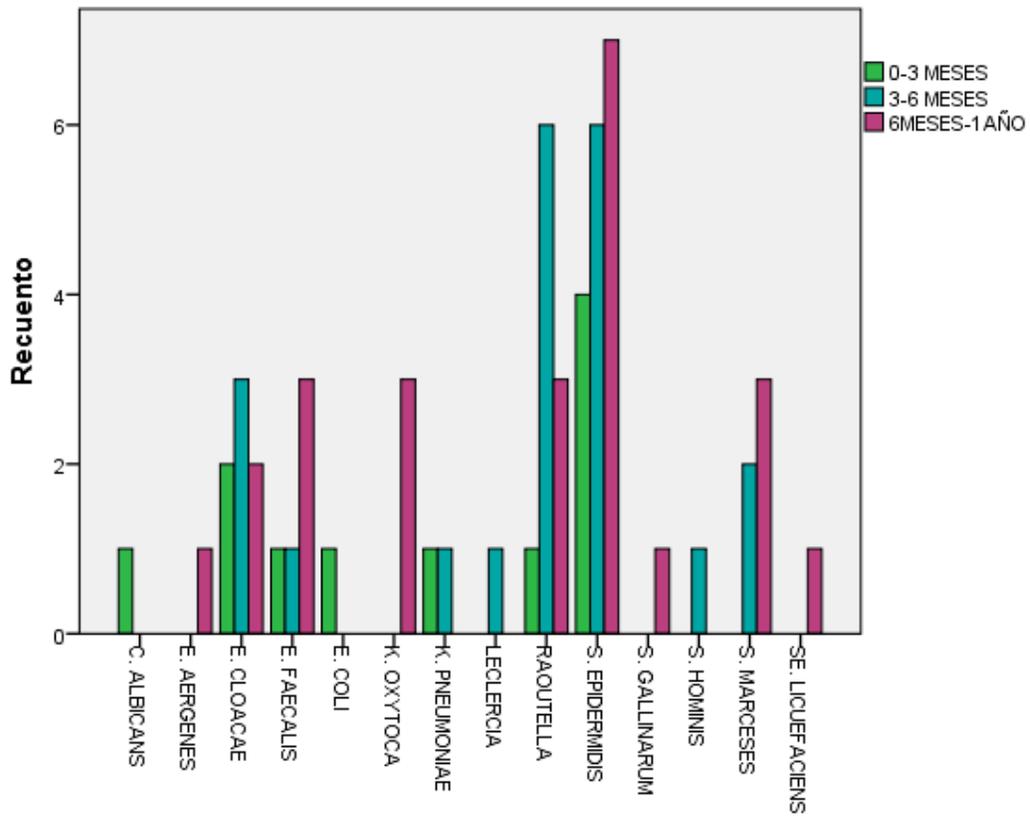
Tabla 3. Reporte de Cultivos por grupo de edad

BACTERIA	0-3 MESES			3-6 MESES			6 MESES – 1 AÑO		
	n= 10	%	VALOR DE P	n=21	%	VALOR DE P	n=24	%	VALOR DE P
<i>E. cloacae</i>	2	3.6	0.61	3	5.4	1	2	3.6	0.65
<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	1	1.8	0.41
<i>E. faecalis</i>	1	1.8	1	1	1.8	0.63	3	7.2	0.63
<i>E. coli</i>	1	1.8	0.2	-	-	-	-	-	-
<i>K. oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	3	5.4	0.27
<i>K. pneumoniae</i>	1	1.8	0.36	1	1.8	-	-	-	-
<i>L. dexcarboxilata</i>	0	-	-	1	1.8	0.38	-	-	-
<i>R. ornitholytica</i>	1	1.8	0.66	6	10.8	0.15	3	5.4	0.49
<i>S. epidermidis</i>	4	7.2	0.28	6	10.8	1	7	12.6	0.56
<i>S. gallinarum</i>	-	-	-	0	-	-	1	1.8	0.41
<i>S. hominis</i>	-	-	-	1	1.8	1	-	-	-
<i>S. marsescens</i>	-	-	-	2	3.6	1	3	7.2	0.63
<i>S. licuefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	1	1.8	0.41

GRAFICA 1

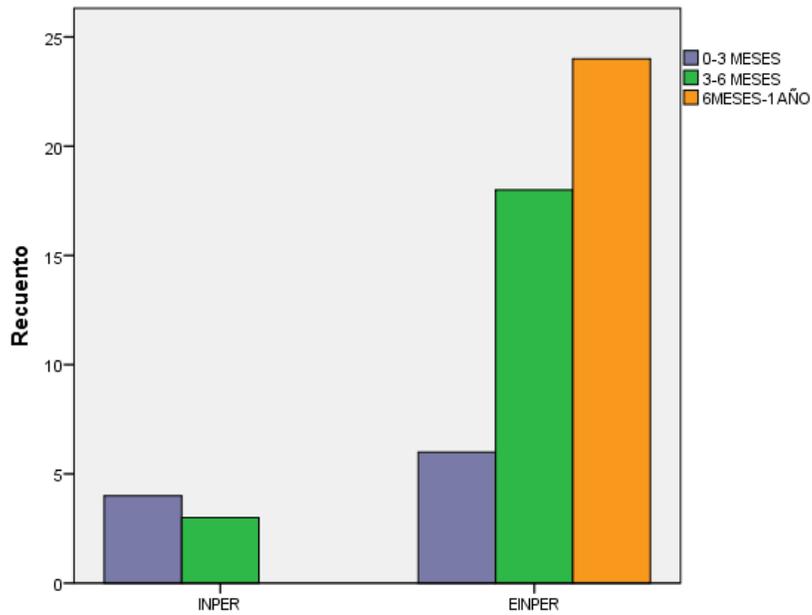


GRAFICA 2. REPORTE DE CULTIVOS POR GRUPOS DE EDAD



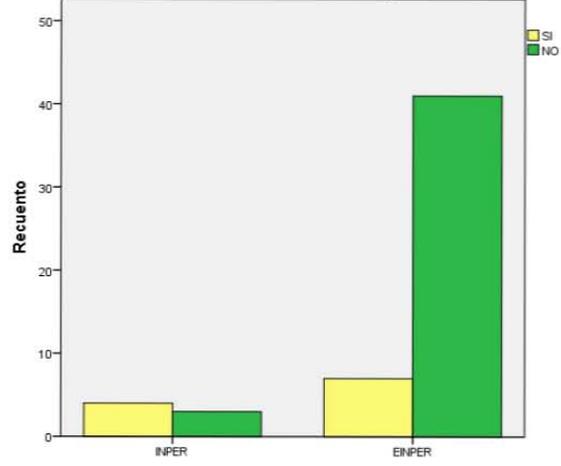
GRAFICA 3

PROCEDENCIA DE LA LECHE CON CULTIVOS POSITIVOS POR EDAD



GRAFICA 4

PROCEDENCIA DE LA LECHE (EDAD DE 0-3 MESES)



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cabrera Rubio; Raúl, Collado, et.al. The human milk microbioma changes over lactation and shaped by maternal weight and mode delivery. The American Journal of Clinical Nutrition 2012, Pag 544-51.
2. McGuire Michelle K, McGuire Mark A. Human Milk: Mother nature's Prototypical Probiotic Food?. American Society Nutritión Adv. Nutrition 6; 112-123, 2015.
3. Almutawif Yahya, Hartmann, Benjamin, et al. A retrospective audit of bacterial culture results of donated human milk in Perth Western Australia. Early Human Development 105.Octubre 2016, Pag 1-6.
4. Osorio, Lina Maria, Umbarila Ana Solanye. Microbiota de la Glándula Mamaria. El Sevier, Revista Pediatría, 2015. Pag 2,3.
5. Dave Veronica, Street, Kelly, et al. Bacterial microbiome of breast milk and child saliva from low income Mexican-American women and Children. Pediatric Research Vol 79, No. 6, Junio 2016, Pag 846-854.
6. Rodriguez, Juan M, The Origin of Human Milk bacteria: Is there a bacterial Etero-mammary Pathway during late Pregnancy and Lactation. Advances in Nutrition. American Society for Nutrition 2014. Pag 779-784.
7. Landers Susan, Updegrave Kim. Bacteriological Screenin of Donor Human Milk Before and After Holder Pasteurization. Breastfeeding Medicine Vol 5, No 3 2010, Pag 117-121.
8. Padilla Ortega, Belen, Delgado Palacio, Susana; Diagnostico microbiologico de la Infección bacteriana asociada a Parto y Puerperio. Enfermedades Infecciosas y Mcrobiología Clínica 2016 Pag 309-314.
9. Hartmann B.T., Pang W.W. et al. Best practice guidelines for the operation of a donor human milk bank in an Australian NICU. Early Human Development 83, 2007, Pag 667-673.
10. Hunt K.M., Preuss J, et al. Human Milk Oligosacharides Promote the growth of Staphylococci. Aplied and Environmental Microbiology, Vol 78, Nu 14, Julio 2012, p 4763-4770.
11. Rodríguez J.M., Jiménez E. et al. Microbiota de la leche humana en condiciones fisiológicas. Acta Pediátrica España 66, 2008, Pag 77-82.

12. García Loygorri, María Cristina, de Luis, Daniel, et.al. La leche materna como vehículo de transmisión de virus. Nutrición Hospitalaria 2015 Pag. 4-10.