
Crecimiento Bacteriano en Leche Humana

Dr. Leonardo Lando. Rivera, Dra. Miriam Andonie Nicolý*, Dr. Max Vijil Ferrari*, Dr. José M. Dubón'*

RESUMEN

Se cultivaron 40 muestras de leche humana extraídas con bomba eléctrica y manualmente para estudiar el crecimiento bacteriano tanto en condiciones de refrigeración como a temperatura ambiente. Se obtuvo 40 % de positividad en los cultivos con 23 % de microorganismos patógenos. La menor presencia de cultivos positivos se observó entre las muestras extraídas manualmente y mantenidas en refrigeración. Hasta las 6 horas no hubo diferencia significativa entre grupo el refrigerado y el mantenido a temperatura ambiente.

ABREVIATURAS: UFC/ml= unidades formadoras de colonia por ml.

PALABRAS CLAVE: Crecimiento bacteriano en leche humana. Extracción y conservación de leche materna.

INTRODUCCIÓN

La leche humana es un producto usado en nuestra unidad de recién nacidos para la alimentación de prematuros y en general neonatos patológicos que no puedan succionar. Desde 1985 se ha venido usando leche materna de forma exclusiva, observándose una

disminución en la tasa de infecciones graves como sepsis, meningitis, enterocolitis necrotizante, neumonía y diarrea. Este efecto ha sido también observado por otros (1)(2)(3).

Se sabe por otros estudios que la presencia bacteriana en la leche humana extraída es importante (4)(5)(10), sobre todo por microorganismos saprofitos de la piel, y en menor grado por patógenos intestinales. Sin embargo, no existe uniformidad de criterio sobre la cantidad de UFC/ml que cuya presencia pueda considerarse aceptable en la leche humana. A pesar de ello, son pocos los casos documentados de infección de recién nacidos por bacterias patógenas cuyo vehículo haya sido la leche humana.

Aunque la extracción de leche materna se ha convertido durante los últimos años en una práctica rutinaria en muchas instituciones de todo el mundo (6) así como de nuestro país, no se conoce las características del crecimiento bacteriano en leche humana en las condiciones de nuestro medio ambiente. Por cultivos previos de algunas muestras de leche extraída en nuestro banco, conocía mosel tipo de contaminación de las leches que manejamos, pero no así sus características según tipo de extracción, ni el tiempo óptimo de almacenamiento que nos permitiera hacer recomendaciones a las madres que necesiten recurrir a la extracción como es el caso de las que trabajan-fuera del hogar. Además, la mayoría de madres no dispone de bombas extractoras por lo que necesitan recurrir a la extracción manual.

Sala de Recién Nacidos, Hospital Regional del IHSS,
San Pedro Sula, Honduras.
Sección de Microbiología, Hospital Regional del IHSS,
San Pedro Sula, Honduras.

Con el fin de despejar estas interrogantes, se realizó el presente estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 80 muestras de leche obtenidas en el Banco de Leche del Hospital Regional del IHSS de San Pedro Sula, proveniente de 20 madres donadoras diferentes, mediante extracción con bomba eléctrica (N=40) y manualmente (N=40). Los criterios de selección fueron los mismos utilizados por la unidad recolectora de leche humana, esto es previo estado de salud y aceptación a participar en el estudio. De cada grupo la mitad se refrigeró a 4-8° C y la otra mitad se mantuvo a temperatura ambiente de 28-30° C, sumergida en agua que se cambiaba periódicamente. Todas las muestras se colocaron en biberones de plástico de 120 ml, esterilizados previamente, en cantidades que no sobrepasaron los 10 ml. Tanto el material de plástico reutilizable de las bombas eléctricas como los biberones se lavaron con agua y jabón y se trataron con vapor durante 15 minutos por un esterilizador doméstico marca Gerber que previamente había mostrado su efectividad. Todas las madres siguieron el procedimiento rutinario del banco que consiste en lavado de manos con agua y jabón y colocación de una bata limpia.

No se hizo lavado del pezón o la areola, ni se descartaron las primeras gotas de leche extraída. Se realizó un total de 400 cultivos seriados. Cada muestra refrigerada se sembró a las 0, 6, 12, 24, 48, 72 horas, y a las 0, 6, 12, 24 horas las muestras a temperatura ambiente, en placas de gelosa sangre y Mckonkey. Los cultivos en gelosa sangre se mantuvieron en cámara de CO₂ al 10 durante 12 a 24 horas. Las siembras se efectuaron con asa calibrada de 0.1 mm. efectuándose la lectura a las 24 horas con conteo de UFC/ml según técnica de laboratorio ya descrita (6). Por razones del estudio se consideraron positivas las muestras con >30000 UFC/ml.

Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico EPIINFO facilitado por la Oficina del Programa Global para SIDA de la OMS en Ginebra. Las variables analizadas fueron; tipo de extracción manual/bomba, muestra/refrigerada/temperatura ambiente, Positividad de los cultivos, patogenicidad del germen aislado, número de colonias en cada muestra, identificación de uno o más gérmenes.

Para el análisis de proporciones se utilizó la prueba de chi cuadrado con corrección de Yates para las variables cualitativas con 200 (8).

RESULTADOS

El 96% de las muestras obtenidas correspondió a leche madura. La contaminación de la leche recién extraída (n=80) fue del 38.8% aunque sólo 11.3% resultaron gérmenes patógenos. Se encontró positividad global en 160 cultivos (40%), de los cuales 93(23.3%) resultaron cepas patógenas. Los microorganismos identificados y sus frecuencias relativas aparecen en la Tabla No.1. No se encontró diferencia significativa en la positividad ni en la presencia de gérmenes patógenos en los cultivos de muestras recién extraída por bomba o manualmente (n=80). Tampoco la hubo en la positividad global de la leche extraída por bomba o manualmente tanto para el grupo refrigerado como para el mantenido a temperatura ambiente.

.._#>_<

TABLA No.1

FRECUENCIA DE GÉRMEENES EN LECHE MATERNA

GERMEN	n = 400	No.	%
S. epidermidis		64	37.87%
K. pneumoniae		47	27.81%
E. cloacae		18	10.65%
E. agglomerans		9	5.33%
Corynebacterium sp.		8	4.73%
P. aeruginosa		7	4.14%
E. aerogenes		4	2.37%
A. faecalis		3	1.78%
Otros		9	5.33%
TOTAL		169	100.0%

La presencia de gérmenes patógenos fue significativamente mayor en el grupo refrigerado extraído con bomba que en el extraído manualmente (n=24C x²=12.81 p<0.05). Esta diferencia no se observó en las muestras mantenidas a temperatura ambiente. La conservación en refrigeración fue el factor más importante asociado a la negatividad de las muestras (Tabla No.2). El menor número de cultivos positivos se observó a las 12 horas en las muestras refrigeradas. Hasta las 6 horas no se obtuvo diferencia significativa en la Positividad de los cultivos entre las muestras refrigeradas y las de

temperatura ambiente. En relación a la presencia de gérmenes patógenos, a Partir de las 6 horas se encontró diferencia significativa entre ambos métodos ($n=80$) $t=8.67$ $p<0.05$).

TABLA No. 2

**TEMPERATURA DE LA LECHE HUMANA
Y POSITIVIDAD BACTERIANA**

HORA	0	6	12	24
REFRIGERADA	15	13	2	9
AMBIENTE	16	22	24	34
VALOR P	>.05	>.05	>.001	>.001

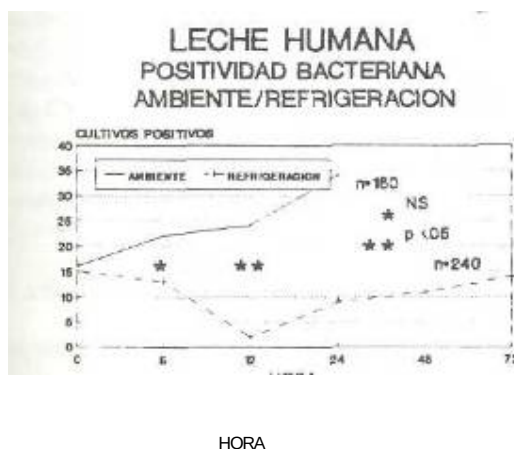
$n = 320$

TABLA No. 3

**PRESENCIA DE BACTERIAS PATOGENAS
SEGUN TIPO DE EXTRACCION Y
CONSERVACION**

	MANUAL	BOMBA	VALOR P	
REFRIGERADA	3	19	<.001	N = 240
AMBIENTE	31	40	>.05	n = 160

La refrigeración afectó también el número de colonias bacterianas en cultivos de 6 a 24 horas ($n=111$), encontrándose más cultivos con recuentos de >100000 UFC/ml entre las mantenidas a temperatura ambiente ($\chi^2=30.39$ $91=6$ $p<0.001$). En el grupo refrigerado se vio una notable disminución de la positividad más manifiesta hasta las 12 horas, iniciando aumento progresivo a partir de ese momento pero manteniéndose hasta las 72 horas por debajo de la positividad registrada a las 0 horas (Gráfica No.1).



GRAFICA No. 1.- Muestra la presencia de cultivos positivos en muestras refrigeradas y en temperatura ambiente entre las 0 y 72 horas.

DISCUSIÓN

Este estudio muestra al igual que otros la frecuente contaminación de las muestras de leche humana extraída en un banco de leche. Aunque la positividad ocurrió en el 40% de las muestras, sólo un 23.3% correspondió a gérmenes considerados patógenos, en su mayoría Gram negativos de la flora intestinal. Un 37.9% de la positividad se debió a *S.epidermidis* un contaminante habitual de la piel. Cabe destacar, el escaso crecimiento de *S.aureus* que al igual que en otros estudios aparece como contaminante poco importante de la leche humana (11).

A pesar de esta elevada tasa de contaminación, la morbilidad por diarrea y otras enfermedades asociadas a la presencia de estos patógenos es baja entre los niños atendidos en nuestra sala (9).

El efecto inhibitorio de la refrigeración a 4-8°C se pone de manifiesto a partir de las 12 horas influyendo sobre todo en la disminución del número de muestras Positivas y en menor grado en el recuento de UFC/ml. El lapso de 6 horas transcurrido desde la extracción hasta su uso en condiciones de temperatura ambiental con bajas tasas de positividad y crecimiento bacteriano, aún en el clima cálido donde se llevó a cabo el estudio, pone de manifiesto las propiedades antibacterianas de la leche humana (10)(1), y representa un beneficio para las madres de escasos recursos económicos, que necesiten extraer su leche para dejarla a su bebé durante su jornada laboral fuera de su casa.

Por otro lado, si la extracción se hace manualmente, la posibilidad de contaminación por patógenos disminuye de manera importante entre las muestras refrigeradas, quizá porque la esterilización de los equipos de extracción sea más difícil que el simple lavado de manos. Este último hallazgo también ha sido observado por otros (13).

CONCLUSIONES

Concluimos de nuestro estudio que la extracción manual y la refrigeración parecen ser los métodos más seguros en cuanto a menor contaminación y crecimiento bacterianos hasta las 72 horas. El mantenimiento de la leche a temperatura ambiente no debiera exceder las 6 horas en localidades con el clima de San Pedro Sula,