

Comparación del riesgo de contaminación de la leche materna extraída en una unidad de cuidados intensivos neonatales y en el hogar

Risk of microbiological contamination between samples of human milk obtained at home and obtained at hospital

Dra. Vera Vanina Serra^a, Dr. Sergio Teves^b, Dra. Agustina López de Volder^b,
Dra. Fabiana Ossorio^c, Enf. Nora Aguilar^a y Dr. Marcelo Armadans^a

RESUMEN

Introducción. La leche materna es el mejor alimento para los prematuros. Debido a su inadecuado mecanismo de succión-deglución, la administración de leche materna extraída debe realizarse mediante una sonda orogástrica. Se dispone de escasa información sobre las condiciones microbiológicas de seguridad para la leche materna extraída.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar si había diferencia en la contaminación de la leche extraída en la institución y en el domicilio.

Métodos. Estudio transversal que analizó pares de muestras de leche (una extraída en el hogar y otra en la institución, el mismo día) de madres de neonatos internados, de edad gestacional ≤ 35 semanas. Se consideraron contaminadas las muestras de leche que tenían más de 10^5 UFC/ml de aerobios mesófilos, o presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, enterobacterias, *Pseudomonas*, *Salmonella*, hongos y levaduras.

Resultados. Se analizaron 280 muestras de leche (140 pares) de 53 madres; 139 muestras (49,6%; IC 95%: 43,6 a 55,6) presentaron contaminación, que fue significativamente más frecuente en las muestras obtenidas en el domicilio que en las obtenidas en la institución (59,6% contra 39,6%; $p=0,0008$; OR 2,25; IC 95% 1,36 a 3,7).

Conclusión. La mitad de las muestras de leche materna presentaron contaminación, la cual fue más frecuente en las obtenidas en el domicilio.

Palabras clave: leche materna, nutrición, recién nacido, prematuro.

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2013.115>

INTRODUCCIÓN

La leche materna es considerada el mejor alimento para los recién nacidos prematuros, no sólo por su valor nutricional, sino por su capacidad para proveer protección contra las infecciones.^{1,2} Parte de este efecto protector se debería a la microflora natural presente en la leche, un factor importante en el desarrollo y la composición de la microflora intestinal del recién nacido.

Estafilococos (*epidermidis*, *hominis* y *capitis*), estreptococos (*salivarius*, *mitis*, *parasanguis* y *peroris*), lactobacilos (*gasseri*, *rhamnosus*, *acidophilus*, *plantarum* y *fermentum*) y enterococos (*faecium*) son bacterias comúnmente aisladas en la leche materna y pueden considerarse flora natural más que gérmenes contaminantes. Estas bacterias tienen acción protectora contra otros microorganismos potencialmente dañinos para el prematuro.³

La importancia de la alimentación del prematuro con leche materna ha obligado a su manipulación. La leche extraída debe administrarse mediante sonda orogástrica porque el mecanismo de succión-deglución de los prematuros suele ser inadecuado.⁴

A pesar de la enorme difusión que tiene esta práctica, hay poca información sobre las condiciones microbiológicas de seguridad para la leche materna extraída. En general, se la considera bacteriológicamente aceptable cuando presenta menos de 10^5 UFC/ml de aerobios mesófilos,^{5,6} con un recuento total de enterobacterias inferior a 10 UFC/ml. Se considera inaceptable la presencia de bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter sakazakii*, *Streptococcus pyogenes* (β -hemolítico), especies de *Pseudomonas*, *Proteus* y *Salmonella*. La presencia de hongos y levaduras indicaría condiciones de higiene insatisfactorias.^{7,8}

Aunque en el proceso de alimentación del prematuro no es infrecuente la intolerancia alimentaria (vómitos, distensión abdominal, diarrea o reten-

- Servicio de Neonatología, Instituto Argentino de Diagnóstico y Tratamiento. Buenos Aires.
- Cátedra de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.
- Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires.

Correspondencia:
Dr. Marcelo Armadans:
marmadans@speedy.com.ar

Conflicto de intereses:
Ninguno que declarar.

Recibido: 4-4-2012
Aceptado: 2-11-2012

ción gástrica),^{9,10} es difícil demostrar que las bacterias contaminantes de la leche materna sean la causa, ya que muchos otros factores pueden influir en este resultado.

Es frecuente que las madres de los prematuros internados en la UCIN se encuentren en su domicilio mientras sus niños permanecen internados, por lo que la extracción de leche ocasionalmente debe realizarse fuera del ámbito institucional. Evitar que se contamine requiere precauciones; es probable que al extraerla en el domicilio y con menor control, se contamine más que al hacerlo en la institución.

El objetivo del presente estudio fue comparar el grado de contaminación de la leche materna cuando se la extrae en la institución y en el domicilio.

POBLACIÓN, MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal que analizó las muestras de leche de madres de recién nacidos de edad gestacional ≤ 35 semanas que recibían alimentación enteral, entre el 17 de abril de 2009 y el 6 de enero de 2011. Se incorporaron todas las madres de los prematuros internados; se excluyeron las muestras de madres con cuadros infecciosos que contraindicaran el amamantamiento, o que consumieran drogas ilícitas o medicación no permitida durante la lactancia.

Condiciones de los recién nacidos: en todos los casos se registró la edad gestacional, el peso de nacimiento y la presencia de intolerancia alimentaria (vómitos, distensión abdominal, diarrea o retención gástrica $\geq 25\%$ del volumen aportado) o enterocolitis necrosante.

Muestras de leche: de cada madre se tomaron pares de muestras de la leche extraída en el hogar y en la UCIN el mismo día. Se les entregó un instructivo (ver *Anexo* en versión electrónica) que describía todos los procedimientos relacionados con la extracción de la leche y se les suministró un frasco estéril y un bolso térmico para el almacenamiento y el transporte. La leche extraída en el lactario de la institución se obtuvo mediante técnica aséptica con bomba eléctrica, sacaleches esterilizado en vapor durante 90 minutos y con empaquetado simple, pelo atado, sin alhajas, mangas recogidas y lavado de manos con jabón líquido antes de la extracción. Si bien la extracción en el hogar podía efectuarse de forma manual o mediante sacaleches, todas las madres utilizaron este último y transportaron la leche hasta la institución en un frasco estéril y conservadora refrigerada. Los procedimientos

de extracción fueron diferentes en la institución y en el hogar debido a que los primeros fueron supervisados, como es el proceso habitual en la institución, y la extracción en el hogar no, como sucede en "la vida real". En todos los casos se registró fecha, temperatura, volumen y aspecto de la muestra. Todas las muestras se conservaron a 4°C hasta el momento del procesamiento (menos de 8 h), que fue efectuado en el laboratorio de Microbiología (Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires) por personal que desconocía su origen (domicilio o institución).

Selección de casos: por razones operativas se decidió recolectar muestras un día por semana. Para garantizar la representatividad de estas, se determinó *a priori* el día de cada semana en que se haría la recolección a partir de una tabla de números aleatorios (asignando un número consecutivo del 1 al 5). Cada día seleccionado, se recolectó un par de muestras de leche de cada madre participante (una previamente extraída en el hogar y otra en la institución). Todas las madres con criterios de inclusión accedieron a participar en el estudio.

Pesquisa microbiológica: a los fines del presente trabajo se consideró contaminada la muestra de leche que tuviera más de 10^5 UFC/ml de aerobios mesófilos,⁶ presencia de *Escherichia coli*, enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas*, *Salmonella* u hongos.

Estudio microbiológico: como indicadores de inocuidad microbiológica se realizaron las determinaciones cuantitativas de microorganismos aerobios mesófilos, recuento de hongos y levaduras, y recuento de enterobacterias, e investigación en 1 ml de leche de especies de *Salmonella*, coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cepacia*.

Recuento de microorganismos aerobios mesófilos: se realizó por siembra en profundidad en placas de agar para recuento en placa (PCA), con el agregado de 0,1% de leche en polvo descremada; se incubó durante 48 h a 35°C.

Recuento de hongos y levaduras: se realizó por siembra en profundidad en placas de agar extracto de levadura cloramfenicol (YGC); se incubó durante 5 días a 25°C.

Recuento de enterobacterias: se realizó por siembra en profundidad en placas de agar violeta rojo bilis glucosado (AVRBG); se incubó durante 24 h a 35°C.

Investigación de *E. coli* y coliformes: 1 ml de leche se incubó 24/48 h a 35°C en caldo lactosa-

do. Luego de este período de enriquecimiento se inoculó en un tubo de caldo verde brillante con campanita; de los tubos que presentaron crecimiento (turbidez y gas), se efectuó un aislamiento en agar cromogénico para confirmación de *E. coli* y coliformes.

Investigación de *Salmonella*: a partir del caldo lactosado se sembró un tubo de caldo Rappaport-Vasiliadis y un tubo de caldo tetratoato que se incubaron 24 h a 35°C y luego se aisló sobre superficie de placas de agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD) y agar bismuto-sulfito (BS). En caso de dar colonias típicas se efectuaron pruebas bioquímicas con API 20E.

Investigación de *Staphylococcus aureus*: 1 ml de leche se incubó 24/48 h a 35°C en caldo tripticasa-soja (TSB), luego de este período de enriquecimiento se aisló en superficie de agar de Baird-Parker (35°C, 48 h). Las colonias típicas se confirmaron por API STAPH y por la producción de coagulasa.

Investigación de *Pseudomonas aeruginosa*: a partir del caldo TSB enriquecido se aisló en superficie de agar cetrímide (35°C por 48 h); las colonias típicas se confirmaron por API 20 NE.

Investigación de *Burkholderia cepacia*: a partir del caldo TSB enriquecido se aisló en superficie de agar BCsA (35°C por 48 h); las colonias típicas se confirmaron por API 20 NE.

Consideraciones éticas: el estudio fue aprobado por los Comités de Ética y Docencia e Investigación de la institución. Se solicitó y obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes. Cada neonato fue alimentado con leche de su propia madre. Cuando se constató sobrecrecimiento bacteriano se instruyó a la madre para mejorar la técnica de extracción y traslado. Los autores no presentaron conflictos de interés que declarar.

Análisis estadístico: suponiendo que la contaminación de la leche extraída en la institución puede alcanzar el 15% y el doble cuando se extrae en el hogar y que hasta en 5% de las oportunidades la madre puede no acceder a participar o el caso puede ser no evaluable, se requieren 280 casos (140 pares) para verificar esa diferencia con un nivel de confianza de 95% y un poder de 80%.

La frecuencia de las variables categóricas se describe por porcentajes con sus intervalos de confianza del 95%. La asociación entre contaminación y origen de la leche se evaluó por medio de prueba de la χ^2 , suponiendo un nivel de significación de $p < 0,05$ de dos colas; se calculó el OR con sus intervalos de confianza del 95%.

RESULTADOS

Se recolectaron y analizaron 280 muestras de leche (140 pares: una muestra obtenida en el domicilio y otra en la institución en el mismo día) de 53 madres de recién nacidos internados. Todas las muestras originadas en el domicilio se obtuvieron con un sacaleches. Dado que se recogía un par de muestras por semana hasta el momento en que los niños pudieran alimentarse con pecho, se obtuvieron 8 pares de muestras de 1 madre; 6 pares de 2; 5 pares de 5; 4 pares de 5; 3 pares de 11; 2 pares de 13 y sólo un par en 16 casos.

Todos los pacientes tenían una edad gestacional menor o igual a 35 semanas y un peso promedio de 1484 g (rango entre 600 y 2390).

Del total de las muestras analizadas, 139 (49,6%; IC 95%: 43,6 a 55,6) presentaron contaminación, la cual fue significativamente más frecuente en las muestras obtenidas en el domicilio que en la institución (59,6% contra 39,6%; $p = 0,0008$; OR 2,25; IC 95% 1,36 a 3,7). Lo mismo se observó en relación con las bacterias mesófilas, enterobacterias y coliformes (Tabla 1).

TABLA 1. Hallazgos microbiológicos en 280 muestras de leche materna, según el lugar de extracción

Microorganismo	Total		Lugar de extracción		p^*	OR	IC 95%	
	<i>n</i>	%	Domicilio	Institución				
Mesófilos > 10 ⁵ UFC/ml	109	39,2	68	41	0,001	2,23	1,3	3,7
Enterobacterias	26	9,4	19	7	0,01	2,94	1,1	8,01
Coliformes	41	14,7	28	13	0,01	2,4	1,1	5,1
<i>E. coli</i>	12	4,3	7	5	0,5	1,4	0,4	5,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	7,9	12	10	0,6	1,2	0,4	3,1
<i>Candida albicans</i>	6	2,2	3	3	0,9	0,99	0,1	6,2

* Prueba de la χ^2 o de Fisher, según corresponda.

En cada muestra podía crecer más de un microorganismo.

Las madres de los 7 pacientes que tuvieron intolerancia alimentaria durante el período de internación aportaron 32 muestras de leche, presentando una tasa de contaminación similar a la de las madres cuyos niños no desarrollaron intolerancia (53,1% contra 49,6%; $p=0,7$; OR: 1,15; IC 95% 0,52 a 2,56).

DISCUSIÓN

Se cuenta con muy poca información sobre la seguridad microbiológica de la leche materna extraída en el hogar para administrar a un prematuro que no se alimenta por succión. En el Reino Unido se establece que no debe encontrarse un recuento bacteriano mayor de 10^5 UFC/ml antes de la pasteurización;¹¹ en Italia se acepta hasta 10^4 UFC/ml o entre 10^4 y 10^5 , pero en ausencia de *S. aureus*.¹² La Asociación de Bancos de Leche Materna de Estados Unidos requiere que la leche extraída tenga un recuento menor de 10^4 UFC/ml y ausencia de bacterias patógenas; en Brasil se considera la leche materna apta para el consumo si presenta menos de $2,5 \times 10^3$ UFC/ml.¹³ En el estudio de Novak y cols.¹⁴ se acepta un recuento $< 10^4$ UFC/ml en la leche para consumo.

Nosotros encontramos que, siguiendo la definición adoptada, cerca de la mitad de las muestras de leche materna presentaban contaminación, la cual fue significativamente mayor en las muestras recolectadas en el domicilio. Registramos que cerca del 40% de las muestras presentaban un crecimiento de bacterias mesófilas $\geq 10^5$ UFC/ml (29% si se consideran sólo las muestras obtenidas en la institución).

Torres De Freitas y cols.¹⁵ encontraron crecimiento bacteriano en todas las muestras con no menos de 10^2 UFC/ml, mientras que Law y cols.¹⁶ hallaron $\leq 10^8$ UFC/ml en 25% de sus muestras y Dardes⁷ verificó crecimiento de mesófilos menor de 2500 UFC/ml en 80% de las muestras analizadas. Estas diferencias en la forma de expresar los niveles tolerables de crecimiento bacteriano reflejan claramente la falta de consenso sobre el nivel aceptable en la leche materna.

En relación con los gérmenes considerados especialmente patógenos (enterobacterias, coliformes, estafilococo), lo observamos en 38,2% de las muestras, similar a lo referido por Dardes y cols.⁷ (34,4%).

Por otro lado, el crecimiento de levaduras y hongos indicaría inadecuadas condiciones higiénicas y sanitarias, especialmente debido al incorrecto lavado de las manos. En nuestro estudio encontramos *Candida albicans* en 6 muestras

(2,14%), mientras que Serafini⁸ lo identificó en 22% de las muestras.

La mayor contaminación de las muestras recolectadas en el domicilio pudo deberse al método de extracción o a las condiciones de transporte.

A pesar de que las madres fueron instruidas en la técnica adecuada y se efectuó un recordatorio semanal, no hubo control del procedimiento en los hogares, mientras que en la institución era directamente supervisado por una enfermera entrenada y realizado en un espacio preparado para tal fin. Además, se incorporó en las instrucciones la recomendación de eliminar los primeros mililitros de leche antes de la recolección, medida que contribuye a disminuir hasta el 90% de la población de bacterias.¹³ Si bien no se evaluó específicamente el nivel de comprensión de las instrucciones ni se valoró el posible impacto del "efecto aprendizaje" (18 madres aportaron 4 o más muestras, representando casi la mitad de las muestras), todas las participantes refirieron haberlas comprendido y todas las muestras fueron remitidas de manera adecuada.

Aunque pueda parecer razonable, no hay evidencia que sugiera una relación entre el sobrecrecimiento bacteriano en la leche extraída y la intolerancia alimentaria en el prematuro.^{16,17} Nuestro análisis en este sentido tuvo un carácter exclusivamente exploratorio. El diseño del estudio no permitió establecer la relación entre la contaminación bacteriana de la leche administrada y la intolerancia alimentaria, la enterocolitis necrosante u otras enfermedades infecciosas. Esta asociación debería ser analizada a través de estudios diseñados con ese propósito.

Ante la necesidad de recurrir a la leche extraída en el domicilio, se deben extremar las medidas que garanticen una extracción y un transporte adecuados. A la luz de la evidencia disponible, la leche materna fresca extraída con técnicas adecuadas sigue siendo la mejor opción para alimentar a los recién nacidos prematuros.

CONCLUSIÓN

La mitad de las muestras de leche materna presentaron crecimiento bacteriano, el cual fue más frecuente en las obtenidas en el domicilio que en la institución. ■

BIBLIOGRAFÍA

1. Llanos A, Mena P, Uauy R. Tendencias actuales en la nutrición del recién nacido prematuro. *Rev Chil Pediatr* 2004;75(2):107-21.
2. Macías S, Rodríguez S, Ronayne de Ferrer P. Leche materna: composición y factores condicionantes de la lactancia. *Arch Argent Pediatr* 2006;104(5):423-30.

3. Martin R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín M, et al. The comensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends Food Sci Technol* 2004;15:121-7.
4. McGuire W, Henderson G, Fowlie PW. Feeding the preterm infant. *BMJ* 2004;329:1227-30.
5. National Institute for Health and Clinical Excellence. NICE clinical guideline. 93 Donor breast milk bank: the operation of donor milk banks services. [Acceso: 22 de marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.nice.org.uk/nice-media/pdf/CG93FullGuideline.pdf>.
6. Farmacopea Nacional Argentina (8ª ed.). Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles. [Acceso: 26 de marzo de 2012]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/octava_edicion/Primer_Volumen.pdf.
7. Dardes de Almeida C, Rozolen C, Goulart A, Kopelman B. Is breast milk collected at home suitable for raw consumption by neonates in Brazilian Public Neonatal Intensive Care Units? *J Hum Lact* 2006;22:418-25.
8. Serafini A, André M, Rodrigues M, Kipnis A, Carvalho C, et al. Microbiological quality of human milk from a Brazilian milk bank. *Rev Saude Publica* 2003;37(6):775-9.
9. Martínez Ferro M, Cannizzaro C, Rodríguez S, Rabasa C. Neonatología quirúrgica. Buenos Aires; Grupo Guía, 2004.
10. Springer S, Annibale D. Necrotizing enterocolitis. [Acceso: 22 de marzo de 2012]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/977956-overview>.
11. Balmer S, Williams A. Guidelines for the establishment and operation of human milk banks in the UK. *Arch Dis Child* 1995;73(5):481-2.
12. De Nisi G, Ambruzzi AM, Arslanoglu S, Bertino E, Biasini A, et al. Linee Guida per la costituzione e l'organizzazione di una Banca del Latte Umano Donato. Società Italiana di Neonatologia. 2da edizione. New Magazine Edizioni. Trento, 2007. [Acceso: el 22 de marzo de 2012]. Disponible en www.aiblud.org/file/BLUD.PDF.
13. Normas técnicas para Bancos de Leche Humana - Red BLH - Brasil - Recolección- BLH-IFF/NT - 16.04 - Ordeño: Procedimientos higiénico-sanitarios. [Acceso: 18 de octubre de 2012]. Disponible en: <http://www.fiocruz.br/redeblh/media/coletaesp.pdf>.
14. Novak F, Da Silva A, Hagler N, Figueiredo A. Contamination of expressed human breast milk with an epidemic multiresistant Staphylococcus aureus clone. *J Med Microbiol* 2000;49:1109-17.
15. Torres De Freitas A, Duran Z, Rodríguez C. Acidez titulable como control de calidad para la leche humana. *Arch Venez Pueri Pediatr* 2009;73:92-6.
16. Law BJ, Urias BA, Lertzman J, Robson D, Romance L. Is ingestion of milk-associated bacteria by premature infants fed raw human milk controlled by routine bacteriologic screening? *J Clin Microbiol* 1989;27(7):1560-6.
17. Schanler R, Fraley J, Lau C, Hurst N, Horvath L, Rossman S. Breast milk cultures and infection in extremely premature infants. *J Perinatol* 2011;31(5):335-8.
18. de Silva A, Jones PW, Spencer SA. Does human milk reduce infection rates in preterm infants? A systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004;89(6): F509-513.

Los que vivimos en campos de concentración podemos recordar a los hombres que caminaban por las cabañas dando aliento a los demás, regalando su último pedazo de pan. Pueden haber sido pocos en número pero ofrecen prueba suficiente de que se puede quitar todo a un hombre, excepto una cosa: la última de las libertades humanas, el poder elegir su propia actitud dado cualquier tipo de circunstancia, el poder elegir su propio camino.

VÍCTOR FRANKL. El hombre en busca de significado

ANEXO

Instructivo para la extracción de leche en el domicilio

- Elija un ambiente tranquilo y en lo posible privado.
- Lávese las manos con agua y jabón blanco, friccionando durante 10 segundos. Enjuague con abundante agua y seque bien con papel descartable. Distribuya alcohol en gel por las manos.
- Limpie los pezones con agua y jabón, enjuáguelos con una gasa embebida en solución fisiológica y séquelos con una gasa limpia.
- Descarte los primeros mililitros de leche extraída.
- Realice la extracción inmediatamente antes de concurrir a la institución.

Extracción manual

- Coloque la mano en el pecho en forma de "C" apoyando el dedo pulgar en la parte superior del pecho a unos 3 centímetros de la aréola y la palma de la mano en la parte inferior.
- Realice un movimiento de ordeño, o sea, friccione el pecho hacia atrás (como hundiendo el pecho) y hacia delante, a la vez que presiona como si quisiera juntar los dedos. Con este movimiento debe sentir que moviliza todo el tejido mamario y no sólo la piel.
- Repita el movimiento pausada y rítmicamente. Si le resulta cómodo, conviene alternar los pechos cada 5 a 10 minutos.
- Sostenga el recipiente con la otra mano.

Extracción con sacaleche

- Lave con detergente todas las partes del sacaleche y hierva en agua durante 15 minutos. Séquelas con papel descartable.

Almacenamiento

- Guarde la leche extraída en un frasco estéril rotulado (nombre y apellido del bebé, hora y fecha de extracción). Una vez cerrado el frasco no se puede volver a abrir.
- Guarde el frasco en la heladera (no *freezer* o congelador) separado de la comida.

Transporte

- Para transportar la leche extraída, retire los frascos de la heladera y colóquelos en el bolso térmico antes de dirigirse a la institución.
-