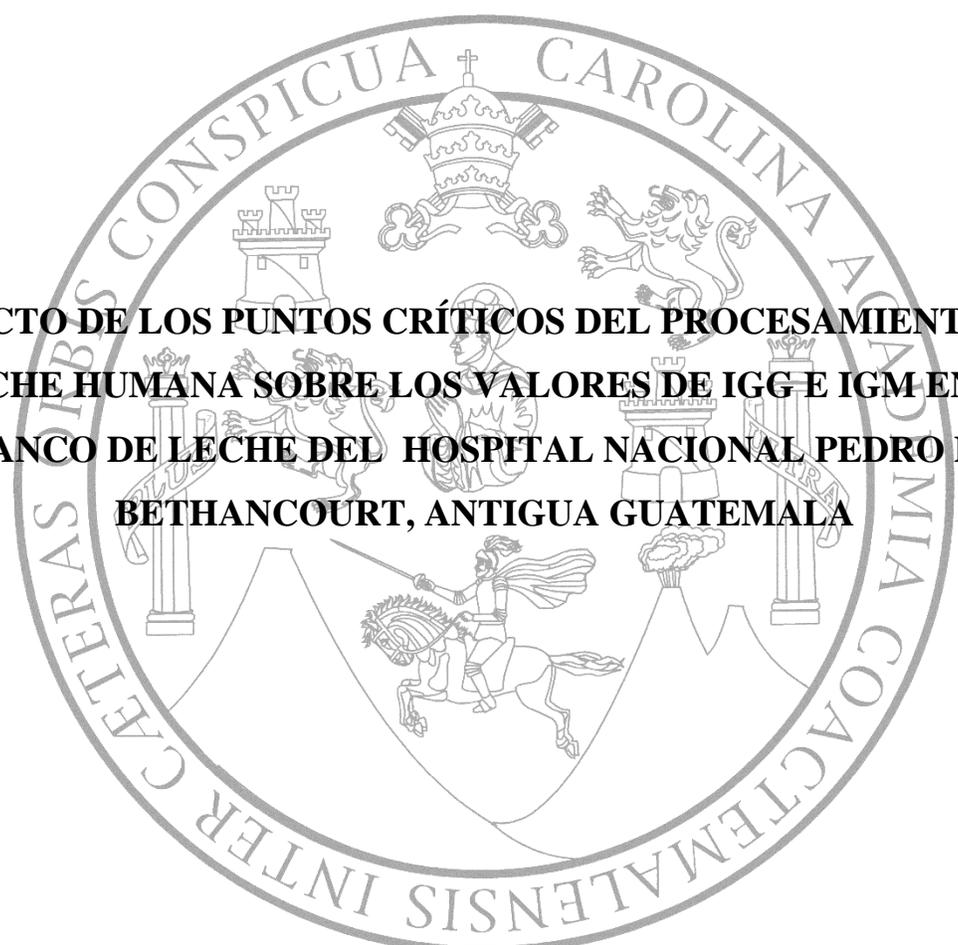


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a figure on horseback, a crown above, and various symbols including a castle and a lion. The Latin motto "CETERAS OBBS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter of the seal.

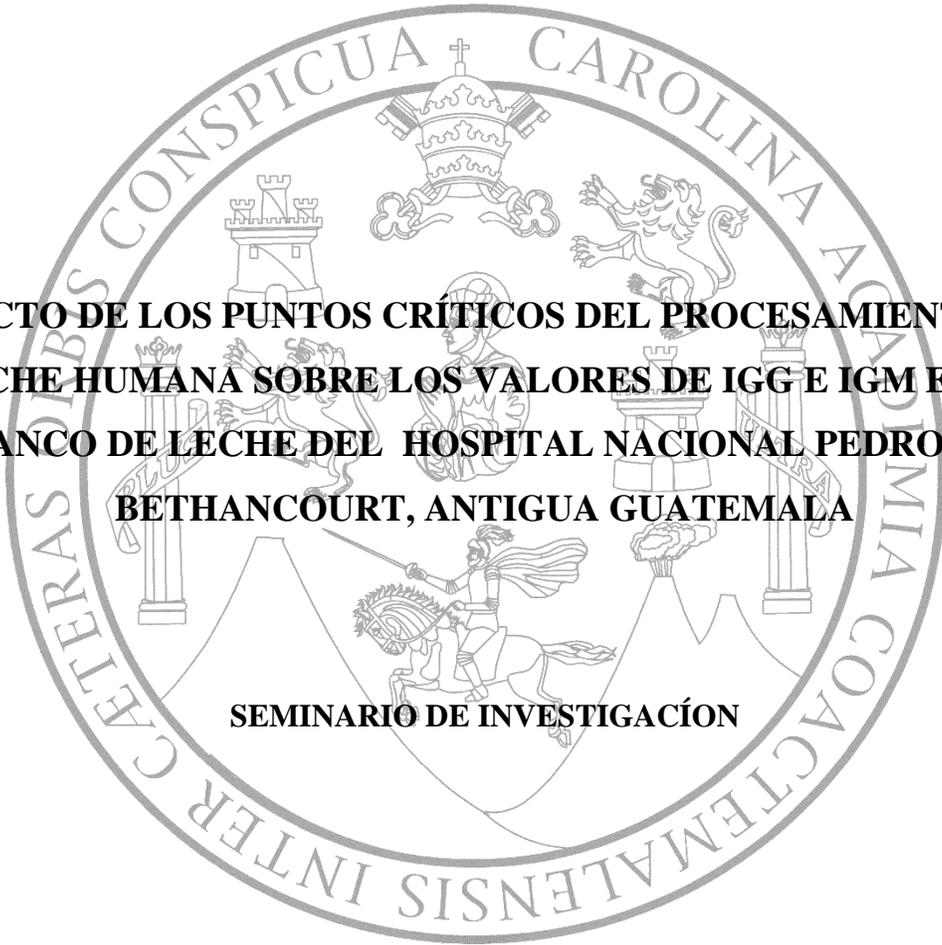
**EFECTO DE LOS PUNTOS CRÍTICOS DEL PROCESAMIENTO DE  
LECHE HUMANA SOBRE LOS VALORES DE IGG E IGM EN EL  
BANCO DE LECHE DEL HOSPITAL NACIONAL PEDRO DE  
BETHANCOURT, ANTIGUA GUATEMALA**

**María Gabriela Miss Mas  
Silvia Pamela Lam Aguilar**

**QUÍMICAS BIÓLOGAS**

Guatemala, Febrero 2016

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**EFECTO DE LOS PUNTOS CRÍTICOS DEL PROCESAMIENTO DE  
LECHE HUMANA SOBRE LOS VALORES DE IGG E IGM EN EL  
BANCO DE LECHE DEL HOSPITAL NACIONAL PEDRO DE  
BETHANCOURT, ANTIGUA GUATEMALA**

**SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN**

PRESENTADO POR

**María Gabriela Miss Mas**

**Silvia Pamela Lam Aguilar**

PARA OBTAR AL TÍTULO DE  
**QUÍMICAS BIÓLOGAS**

Guatemala, Febrero 2016

## **JUNTA DIRECTIVA**

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Lic. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A Dios y a la Virgen María**

Por darnos la vida, fortaleza, sabiduría y habernos guiado para alcanzar esta meta.

### **A Nuestros Padres**

Maritza Mas por ser mi mejor amiga, mi aliada, mi ejemplo a seguir, por su amor incondicional, por los ejemplos de perseverancia, constancia y nunca dejarse vencer, gracias porque sin tu ayuda hubiera sido imposible culminar mi profesión, ¡Mil Gracias! Y a mi padre Felipe Miss por apoyarme.

César Lam gracias por tus consejos y palabras de aliento en los momentos difíciles, por cumplir el papel de padre y madre, pero sobre todo gracias por estar presente en cada etapa de mi vida y poder compartir este logro conmigo. Y a mi madre María Irma Aguilar (Q.E.P.D), gracias por ser mi ángel que siempre me cuida y me guía por el mejor camino, esto va dedicado a ti.

### **A Nuestras Hermanas, Abuelitos y Familia**

Hermanas, abuelitos, tíos y primos por apoyarnos incondicionalmente en todos estos años de vida y más aún en los duros años de carrera profesional.

### **A la Universidad San Carlos de Guatemala y Facultad de Farmacia**

Por ser nuestra Alma Mater y formarnos como profesionales íntegros.

### **A Nuestros Asesores**

Lic. Arroyo y Lic. Kevin por orientarnos en todo momento para la elaboración de nuestra investigación, por su apoyo incondicional y amistad brindada.

### **Al Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt y al Laboratorio de Reumatología del Hospital Roosevelt**

Por el apoyo brindado en todo momento y permitirnos llevar a cabo la parte experimental de nuestra investigación dentro de sus instalaciones.

## ÍNDICE

<b>I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	3
<b>II. RESUMEN</b> .....	4
<b>III. ANTECEDENTES</b> .....	5
A. Lactancia materna.....	5
1. Definición.....	5
2. Historia.....	5
3. Tipos de lactancia materna.....	6
B. Lactogénesis.....	7
C. Leche humana.....	8
1. Tipos de leche.....	8
2. Factores nutricionales.....	9
3. Factores inmunológicos.....	12
D. Bancos de leche.....	17
1. Definición.....	17
2. Historia de los bancos de leche.....	18
3. Bancos de leche humana en Guatemala.....	19
4. Funcionamiento del banco de leche humana.....	20
E. Procedimientos en banco de leche.....	20
1. Recolección.....	21
2. Selección y clasificación.....	21
3. Determinación de acidez Dornic y crematocrito.....	22
4. Pasteurización.....	22
5. Análisis microbiológico.....	23
6. Distribución de la leche humana.....	23
1. Condiciones y uso de la leche.....	24
F. Estudios Realizados.....	25
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b> .....	27

<b>V. OBJETIVOS</b> .....	28
<b>VI. HIPÓTESIS</b> .....	29
<b>VII. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	30
<b>VIII. RESULTADOS</b> .....	39
<b>IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	42
<b>X. CONCLUSIONES</b> .....	45
<b>XII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	47

## I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Los factores inmunológicos presentes en la leche humana y que hacen de este alimento un elemento indispensable para el desarrollo integral del sistema inmune de los recién nacidos; son de diversa naturaleza y se encuentra en concentraciones variables. Entre los factores proteicos se encuentran la IgG e IgM, que brindan un efecto de protección vital durante los primeros meses de vida del recién nacido.

Los Bancos de Leche Humana llevan a cabo procedimientos mediante los cuales se recolecta, analiza y procesa leches maternas donadas voluntariamente, y ponen a disposición de recién nacidos prematuros y de bajo peso al nacer un producto inocuo, libre de microorganismos patógenos, de alto valor nutritivo y vital para el desarrollo inmune del recién nacido.

Se ha reportado que estos procedimientos tienen un efecto reductor en algunos alimentos nutricionales e inmunológicos de la leche humana, por lo que el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, ha propuesto cuantificar las concentraciones de las inmunoglobulinas de IgG e IgM en muestras de leche, con el fin de establecer los efectos de los puntos críticos del procesamiento de la leche antes de alimentar a los recién nacidos, donde dichas inmunoglobulinas pueden desnaturalizarse y en consecuencia disminuir la concentración de estas en la leche humana. El proceso de la leche materna comprende cuatro etapas: 1) Basal, al momento de recibir la leche donada en el Banco de Leche, 2) Etapa de descongelamiento I, al momento de descongelar la leche y antes de la pasteurización, 3) Etapa de pasteurización, al momento de finalizar dicho procedimiento y 4) Etapa de descongelamiento II, al momento de despachar la leche para su administración al recién nacido.

Al conocer el efecto de los puntos críticos del procesamiento de la leche humana sobre los valores de IgG e IgM, será posible identificar, planificar y llevar a cabo, modificaciones a las fases del procesamiento, tendientes a disminuir la reducción de los elementos inmunológicos de la leche humana y de esta manera mejorar la calidad de la leche ofrecida a los recién nacidos por el Banco de Leche.

## II. RESUMEN

Los bancos de leche humana llevan a cabo procedimientos mediante los cuales se recolecta, analiza y procesa leche materna donada voluntariamente, y ponen a disposición de recién nacidos prematuros y de bajo peso al nacer un producto inocuo, libre de microorganismos patógenos, de alto valor nutritivo y vital para el desarrollo inmune del recién nacido.

Con el propósito de establecer los efectos de los puntos críticos del procesamiento de la leche humana sobre los valores de IgG e IgM en el banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, el proceso de la leche materna comprende cuatro etapas: 1) medición basal, al momento de recibir la leche donada en el banco de leche, 2) etapa de descongelamiento I, al momento de descongelar la leche y antes de la pasteurización, 3) etapa de pasteurización, al momento de finalizar dicho procedimiento y 4) etapa de descongelamiento II, al momento de despachar la leche para su administración al recién nacido.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que el procesamiento de la leche humana llevado a cabo en el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, redujo más del 10 % en la concentración de IgG (20.7%) e IgM (42.6%).

El estudio concluye que las fases de medición basal y de congelamiento/descongelamiento I, generan una reducción significativa de las concentraciones de IgG  $p < 0.001$ , mientras que las fases de congelamiento/descongelamiento I y pasteurización, producen una reducción significativa de las concentraciones de IgM  $p=0.025$ .

### **III. ANTECEDENTES**

#### **A. Lactancia materna**

##### 1. Definición

La lactancia materna es el fenómeno biocultural por excelencia. En los humanos, además de un proceso biológico, la lactancia es un comportamiento determinado por la cultura.

La lactancia materna es la forma ideal de aportar a los niños pequeños los nutrientes que necesitan para un crecimiento y desarrollo saludable. Prácticamente todas las mujeres pueden amamantar, siempre que dispongan de buena información y del apoyo de su familia y del sistema de atención de salud. (Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría - AEP -, 2004).

##### 2. Historia

En el siglo XVIII existían teorías que apuntaban las bondades de la lactancia materna. William Massdo, en 1794 escribió: “Se ha observado repetidamente que el alimento que se proporciona en la lactancia seca (lactancia artificial) causa cólicos y suelta el intestino y es muy difícil dar sustituto adecuado del pecho, por lo tanto no es de extrañar que haya niños que no pueden mantenerse o existir sin el pecho”. Producto de la revolución industrial de occidente, en el siglo XIX, la adquisición de un salario constituyó la forma fundamental de subsistencia para las familias, lo que significó que muchas madres con niños pequeños tuvieran que trabajar lejos de sus hogares. En inicios del siglo XX, con el auge de la era moderna de la alimentación artificial, se intensificó el abandono de la lactancia materna. Se lograron los primeros sustitutos de la leche humana, lo que atrajo la atención de los médicos por los problemas de salud que comenzaron a presentar los bebés que, por supuesto, afectaban a las familias, lo que trajo consigo que se establecieran las reglas generales para la alimentación de los lactantes, reglas que aún persisten en nuestros días, con el arrastre de la aplicación de estos a la alimentación natural (Castillo Belén, Ramos Veranes, Castillo Belén, Rizo Rodríguez & Cádiz Lahens, 2009).

Después de la mitad del siglo, se desarrollan acciones por la promoción de la lactancia materna en el mundo. En 1989, con la declaración conjunta de la Organización Mundial de la Salud y el Fondo de Naciones Unidas para la Infancia, se inicia un movimiento mundial para la promoción y apoyo a la lactancia materna, y en septiembre de 1990 la Asamblea de Naciones Unidas aprobó la declaración sobre la supervivencia, la protección y el desarrollo del niño, sobre la base de que todas las mujeres amamantaran a sus hijos durante 4 a 6 meses y continuaran la lactancia con la adición de alimentos hasta el segundo año de vida (Castillo Belén et al., 2009).

### 3. Tipos de lactancia materna

a. Lactancia natural como alimentación exclusiva: El lactante solo recibe leche materna de su madre o nodriza, o leche extraída y ningún otro líquido o sólido.

b. Lactancia natural como alimentación casi exclusiva: La fuente predominante de alimentación del lactante es la leche materna. Sin embargo también puede haber recibido agua y bebidas a base de agua (agua endulzada y con sabores etc.); jugos de frutas, solución de sales de rehidratación oral; vitaminas, minerales y medicina en forma de gotas, jarabes y líquidos ceremoniales.

c. Alimentación suplementaria mixta: El niño/a recibe, además de la leche materna, alimentos sólidos o semisólidos en biberón.

d. Alimentación artificial: El niño/a recibe, únicamente líquidos o alimentos semisólidos en biberón.

e. Lactancia simbólica: Es cuando el pecho se usa principalmente para consolar o reconfortar al niño/a y no principalmente con propósitos nutritivos (Juárez Fernández, 2007).

## **B. Lactogénesis**

Es el inicio de la síntesis y secreción de la leche por las células epiteliales de los alveolos mamarios, ésta inicia durante el embarazo cuando ocurren cambios hormonales que preparan el tejido glandular para que se pueda producir leche. Estos cambios hormonales aumentan de manera considerable el tamaño de las mamas, areola y el pezón. La principal característica del crecimiento mamario en el embarazo, es el aumento de conductos y alvéolos, esto bajo influencia del lactógeno placentario, así como de los esteroides lúteos y placentarios (Rocha, Orihuela & Pozzo., 2009).

Por lo general la lactogénesis se divide en dos fases:

Fase 1 (Lactogénesis I): Consiste en una diferenciación estructural y funcional limitada del epitelio secretor. Llamada también diferenciación citológico-enzimática. Durante el último tercio de gestación las mamas sintetizan componentes de la leche (lactosa y alfa lactoalbúmina) (Cregan y Hartman, 1999).

En las primeras semanas del inicio del embarazo, las mamas se preparan para la lactancia; aumentando estas de tamaño a expensas del crecimiento del sistema de conductos, observándose en los extremos de estos un proceso de ensanchamiento y ramificación. Al avance de la gestación el ritmo de la ramificación disminuye y los fondos de saco de cada conducto se diferencian en alveolos, donde el epitelio típico de los conductos se diferencia en secretor (Kent, 2007).

Las glándulas mamarias se encuentran constituidas por unos 15 a 20 lóbulos mamarios, estos se encuentran en extremo final de los lóbulos mamarios organizándose en unidades lobulillares, formadas por un ramillete de alvéolos que vacían su producción en un conducto terminal. Alrededor de los lobulillos existen redes capilares con abundantes células plasmáticas, encargadas de aportar inmunoglobulinas. Desde el 5to y 6to mes, inicia el funcionamiento de las células alveolares y el acumulo de secreción en los alveolos y conductos (Peaker, Wilde & Knight, 1998).

Fase 2 (Lactogénesis II): Corresponde a la completación de la diferenciación del epitelio secretor tras el parto, iniciándose una nueva etapa intensa de síntesis de leche. Esta fase popularmente es llamada, “subida o bajada” de la leche (AEP, 2004).

Tiene lugar durante los primeros 4 días postparto, donde los niveles de prolactina se mantienen altos, mientras disminuye la concentración en los niveles de progesterona, estrógenos y LPH (lactógeno placentario humano), activándose el mecanismo de liberación de oxitocina y prolactina. Los cambios en la composición de la leche y el volumen son drásticos durante esta fase, observándose una disminución en las concentraciones de sodio y cloruro y un aumento en la concentración de lactosa que comienza inmediatamente después del nacimiento (Neville & Morton, 2001).

### **C. Leche humana**

La leche humana no es solo un alimento, es un fluido vivo y cambiante, capaz de adaptarse a los diferentes requerimientos del niño a lo largo del tiempo (modificando su composición y volumen) y que facilita su adaptación a la vida extrauterina.

Tiene una gran complejidad biológica, ya que está compuesta por nutrientes, sustancias inmunológicas, hormonas, enzimas, factores de crecimiento, etc.

La leche humana aporta todos los elementos nutritivos que necesita el niño en los seis primeros meses de vida y sigue siendo un alimento esencial hasta los dos años, complementada con otros alimentos no lácteos (AEP, 2004).

#### **1. Tipos de leche**

La leche humana sufre modificaciones de los elementos que la integran en diferentes etapas:

a. Calostro: Se secreta 5 - 7 días después del parto, aunque en las mujeres multíparas puede presentarse al momento del nacimiento del bebé. Tiene una consistencia pegajosa y es de color amarillento por la presencia de  $\beta$ -carotenos.

Su volumen puede variar de 2-20 mL/día en los tres primeros días; a medida que el bebé succiona, aumenta hasta 580 mL/día hacia el sexto día. Tiene mayor cantidad de proteínas,

vitaminas liposolubles, lactoferrina, factor de crecimiento, bífidobacterias, zinc y sodio, siendo rico en inmunoglobulinas (97% en forma de inmunoglobulina A).

En concentraciones menores se encuentran las grasas, la lactosa y las vitaminas hidrosolubles. El calostro protege contra infecciones y alergias ya que transfiere inmunidad pasiva al recién nacido por absorción intestinal de inmunoglobulinas; además, contiene 2000-4000 linfocitos/mm<sup>3</sup> y altas concentraciones de lisozima. Por su contenido de motilina, tiene efectos laxantes que ayudan a la expulsión del meconio (García-López, 2011).

b. Leche de transición: Su producción se inicia después del calostro y dura entre 5 y 15 días. Progresivamente se elevan sus concentraciones de lactosa, grasas, por aumento de colesterol y fosfolípidos y vitaminas hidrosolubles; disminuyen las proteínas, las inmunoglobulinas y las vitaminas liposolubles debido a que se diluyen por el incremento en el volumen de producción, que puede alcanzar 660 mL/día hacia el día 15 postparto. Su color blanco se debe a la emulsificación de grasas y a la presencia de caseinato de calcio.

c. Leche madura: Comienza su producción a partir del día 15 postparto y puede continuar por más de 15 meses. Su volumen promedio es de 750 mL/día, pero puede llegar hasta 1,200 mL/día en madres con embarazo múltiple. Lo más importante de este tipo de leche es que presenta una mayor cantidad de grasas encontrándose en 3.8 gramos, así como también de lactosa con 7 gramos, en comparación con los otros tipos de leche humana. (García-López, 2011)-

## 2. Factores nutricionales

a. Agua: Representa aproximadamente el 88 a 90% y está en relación directa con el estado de hidratación. Si la mujer lactante disminuye su ingesta, el organismo conserva líquidos a través de la disminución de pérdidas insensibles y orina para mantener la producción (Sabillon & Abdu, 1997).

b. Carbohidratos: Estos constituyen aproximadamente el 7.3 g/dL del total de componentes de la leche. El principal azúcar es la lactosa, con un valor osmótico fundamental para mantener la densidad de la leche a través del agua.

Además existen más de 50 oligosacáridos que constituyen el 1.2% de la leche entre los que se encuentran: glucosa, galactosa y otros. Todos estos carbohidratos y glicoproteínas poseen un efecto benéfico para el desarrollo del *lactobacilo bifidus* (Sabillon & Abdu, 1997).

c. Lípidos: El contenido varía entre 3 y 4 g/dL. Es el componente con mayores variaciones de su concentración durante la lactancia. Estas se presentan al inicio y al final de la lactada, en la mañana y en la noche. Proporciona del 30-55% de kilocalorías. Estudios anteriores han demostrado la presencia de dos ácidos grasos poliinsaturados, el ácido linoléico y decosahexanóico, con un efecto primordial en el desarrollo del sistema nervioso central (Sabillon & Abdu, 1997).

d. Proteínas: Son fundamentales en la regulación de la velocidad de crecimiento, en el control y maduración de la inmunidad, tienen acción bacteriostática y participan en el desarrollo del comportamiento (Maury, Sequera, Sánchez, Bravo, Romero & Vizcarra, 2010).

La cantidad de proteínas es mayor durante las primeras semanas, siendo 1 g/dL (Sabillon, 1997). El mayor porcentaje corresponde a caseína (40 %), éstas están formadas por subunidades proteicas donde predomina la  $\beta$ -caseína y en menor cantidad la  $\kappa$ -caseína, encontrándose ausente la  $\alpha$ -caseína; el 60% restante corresponde a proteínas del suero, donde la  $\alpha$ -lactalbúmina es la mayoritaria, seguida de la lactoferrina que contribuye a la absorción del hierro en el intestino del niño y lo fija, evitando que sea usado por las bacterias. Algunas de las proteínas contenidas en la leche humana poseen funciones inmunológicas como las inmunoglobulinas A, G y M (Macías, 2006).

e. Vitaminas: La leche de una madre bien nutrida presenta cantidades suficientes de vitaminas para el normal crecimiento del bebe solo con la excepción de la vitamina D, K, B-1, B-2 y B-6 (Greer, 2001).

La vitamina K se encuentra en muy bajas cantidades y no dependería de una suplementación materna; por lo que a todo recién nacido se le debe aplicar una dosis de prevención por vía intramuscular al nacer (Sabillon & Abdu, 1997, Macías, 2006).

f. **Minerales y elementos traza:** Las concentraciones de la mayoría de los minerales en la leche humana como calcio, hierro, fósforo, magnesio zinc, potasio y flúor, no se ven afectados significativamente por la dieta materna, más bien son suficientes para las necesidades del lactante. El aporte total de minerales es más bajo que en cualquiera de los sustitutos y están mejor adaptados a los requerimientos nutricionales y capacidades metabólicas del lactante (Sabillon & Abdu, 1997).

i. **Hierro:** La alta biodisponibilidad de este en la leche humana se debe a una serie de interacciones complejas; como baja concentración de proteínas, calcio y fósforo (inhibidores potenciales de la absorción) factores de transferencia de lactoferrina, y elevadas concentraciones de lactosa y ascorbato (potenciadores). Se absorbe más de la leche humana en un 70 % en comparación de la leche de vaca con un 30% (Macías, 2006).

ii. **Zinc:** Es esencial para la estructura de las enzimas, su funcionamiento, crecimiento e inmunidad celular. Se encuentra en pequeñas cantidades pero suficientes para cubrir las necesidades del niño. Su distribución cambia a lo largo de la lactancia; 30 % unido a lípidos, 20% a la caseína y 50% a componentes del suero lácteo (albúmina, citrato) (Sabillon & Abdu, 1997).

iii. **Selenio:** Desempeña importantes funciones de desintoxicación celular, eliminación de sustancias perjudiciales y altamente tóxicas para las membranas de las células. Tiene concentraciones mayores en leche materna que en la leche de vaca o fórmula. Sus niveles dependen de la ingesta materna (AEP, 2004).

iv. **Flúor:** Los niveles de flúor en la leche humana son menores (0.025 mg/l) que los encontrados en la leche de vaca (0.3 a 0.1 mg/l); sin embargo, su absorción es mayor en la leche humana (Sabillon & Abdu, 1997).

v. **Calcio/fósforo:** La relación calcio/fósforo es de 2:1 en la leche humana; favoreciendo la absorción de calcio. (García-López, 2011).

La superioridad de la leche humana sobre otras leches, puede explicarse por su compleja composición. A continuación se muestra el valor nutritivo de la leche humana en sus diferentes estadios:

Tabla No. 1 Valor Nutritivo de la Leche Materna

Nutriente por 100 cc de leche fluida	LECHE HUMANA		
	Calostro	Transición	Madura
Energía (cal)	58	74	71
Grasa (g)	2.9	3.6	3.8
Lactosa(g)	5.3	6.6	7
Proteína (g)	2.7	1.6	1.2
Lactoalbumina		0.8	0.3
<b>Vitaminas y Minerales</b>			
Calcio (mg)	31	34	33
Fósforo (mg)	14	17	15
Hierro (mg)	0.09	0.04	0.15
Vit A (ug)	89	88	53
Carotenoides (ug)	112	38	27
Vit E (ug)	1.28	1.32	0.56
Ácido ascórbico (mg)	4.4	5.4	4.3
Ácido fólico (ug)	0.05	0.02	0.18
Niacina (u)	75	175	172
Riboflavina (ug)	29.6	33.2	42.6
Tiamina (ug)	15	16	16
Vit B12 (ug)	0.05	0.04	traza

(Chaney & Ross; 1971).

### 3. Factores inmunológicos

El sistema inmunitario del recién nacido se encuentra menos desarrollado, por lo que la leche materna debe ser considerada como “la primera vacuna” que recibe el niño, ya que le transfiere anticuerpos, fagocitos y algunas citosinas, contra numerosas infecciones a las que está

expuesto durante el primer año de vida. La leche humana contiene elementos inmunológicos humorales y celulares que actúan en defensa del cuerpo (García-López, 2011).

a. Componentes humorales

Principal mecanismo de defensa del cuerpo contra microorganismos extracelulares y sus toxinas. Éstos se dividen en específicos y no específicos.

i. Componentes humorales específicos: Dentro de este grupo se encuentran las inmunoglobulinas IgAs, IgG, IgM e IgE. Estas identifican, combaten o neutralizan a bacterias, virus u otros elementos como cuerpo extraño (Riverón, 1995).

La inmunoglobulina A (IgA): Es el isotipo de anticuerpo más abundante en las secreciones de las superficies mucosas del tracto gastrointestinal, respiratorio y genitourinario y en secreciones externas como el calostro, la leche materna, las lágrimas y la saliva (Álvarez et al., 2010).

Esta inmunoglobulina es la principal en lactancia materna. Constituye el 90 por ciento de todas las inmunoglobulinas presentes en el calostro y la leche. La más importante es la IgA secretora (IgAs), considerada como la primera barrera de defensa contra microorganismos patógenos que invaden las superficies cubiertas por secreciones (Gavillanes, Manjarrez & Cravioto, 2002).

El calostro humano posee, entre otros componentes, gran cantidad de IgA secretora (IgAs) en elevadas concentraciones (3640 mg/L) (Lawrence, 2003).

La IgA es mucho más abundante en el calostro que en la leche madura, mostrando en los niveles de IgA en la leche humana una disminución progresiva durante la lactancia y todavía disminuyen más lentamente en la leche de las madres de los recién nacidos prematuros (Koenig, Daniz, Carreira & Costa, 2005).

La elevada concentración de IgAs en calostro humano sustenta fuertemente el hecho de que esta inmunoglobulina ejerce una importante función en la protección inmune pasiva contra las infecciones gastrointestinales y respiratorias (Álvarez et al., 2010).

Durante el primer día después del parto, la secreción de IgA llega a 4 g/d, momento en que su concentración es mayor en la leche que en cualquier otro fluido corporal. Niveles de IgA caen a aproximadamente 1 g/d en el día 10 y los niveles son detectables durante los próximos 4 meses (Bernt & Walker, 2001).

La presencia de dicha inmunoglobulina en la leche humana y en el calostro, o secreción del pecho que precede a la producción de la verdadera leche, defiende el aparato gastrointestinal frente a cualquier infección del recién nacido (Ingraham & Ingraham, 1998).

Por lo que es de suma importancia dicha inmunoglobulina ya que contribuye a una mejor inmunocompetencia en el recién nacido, factor que logra que los niños se mantengan sin infecciones durante el primer año de vida, en comparación con aquellos que han lactado en menor tiempo, siendo estos más vulnerables a infecciones (Xanthou, Bines & Walker, 2005).

Inmunoglobulina G (IgG): Es la clase más abundante en suero (8-16 mg/mL), constituyendo el 80 por ciento de las inmunoglobulinas totales. Existen cuatro subclases en humanos (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) que se diferencian estructuralmente entre sí por el tamaño de la región bisagra y el número de puentes disulfuro entre las cadenas pesadas (Alonso et al., 2004).

Es el anticuerpo más abundante durante la respuesta inmunitaria secundaria de tipo humoral por lo que es de vital importancia en la defensa tisular contra los microorganismos, facilita así su destrucción mediante las células fagocíticas, aglutina o precipita microorganismos, tiene capacidad para neutralizar virus, posee gran actividad antibacteriana, es capaz de activar al sistema complemento por las dos vías, participa en los fenómenos de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), evitando mediante las infecciones por los diferentes agentes biológicos y de esta forma las enfermedades (Castillo Belén et al., 2009).

Es la única clase de inmunoglobulina que puede atravesar la barrera placentaria y es la responsable, mediante esta inmunidad pasiva natural, de proteger a los recién nacidos durante los

primeros meses de vida. La IgG enlazada al antígeno también puede fijar el complemento y realizar funciones de opsonización de patógenos (Alonso et al., 2004).

Inmunoglobulina M (IgM): Es la segunda inmunoglobulina de mayor importancia en las secreciones. Su concentración en suero es de 1.5 mg/mL en promedio (Castillo Belén et al., 2009).

De un 5 a un 10 % de todos los anticuerpos está constituido por los anticuerpos IgM. Estos anticuerpos son extremadamente eficaces a la hora de fijar complemento. A veces se les domina anticuerpos tempranos, porque son la primera clase de anticuerpos que se producen durante la respuesta inmunitaria primaria (Ingraham & Ingraham, 1998).

La inmunoglobulina E (IgE): Representa menos del 0.1% de las inmunoglobulinas circulantes. Su función principal es la de activar la citotoxicidad mediada por anticuerpos, mediante su fracción Fc se puede unir a receptores de membrana de basófilos y mastocitos, siendo estos mecanismos de gran importancia en la defensa contra infecciones parasitarias (Alonso et al., 2004).

Los anticuerpos IgE en la leche humana combinada con antígenos en el lumen intestinal y la liberación de mediadores químicos de las células cebadas mucosales, causan un incremento de la permeabilidad hacia adentro del lumen para la subsecuente inactivación de antígenos mucosales (Gavillanes et al., 2002).

ii. Componentes humorales no específicos: Son factores antibacterianos que no se clasifican como anticuerpos pero que tienen una acción protectora contra microorganismos causantes de infecciones en los recién nacidos. Entre éstos podemos encontrar a la lactoferrina, que es una glicoproteína multifuncional ligada al hierro que regularmente tiene una saturación a la mitad perdiendo su acción al estar saturada al 100%, ésta constituye el 26% del suero total producida por los neutrófilos y monocitos macrófagos. Su habilidad de secuestrar iones férricos para el crecimiento y expresión de factores de virulencia de ciertas bacterias patógenas (*P. aeruginosa*,

*S. mutans*, etc.) le confieren las propiedades bacteriostáticas, también posee una actividad antioxidante ya que actúa como catalizador de reacciones óxido-reducción donde se generan radicales libres (Drogo, 2007). Por otro lado tenemos a los componentes C3 y C4 del complemento que también forman parte de componentes celulares y humorales no específicos, cuya función es la fusión de anticuerpos específicos como IgAs produciendo una lisis bacteriana. Poseen actividad opsonica quimiotáctica y bacteriolítica al activarse C3 (Sabillon & Abdu, 1997).

Otro componente importante humoral no específico es la lisozima, que se define como factor antimicrobiana inespecífico termo-estable y acido-estable presente en células y líquidos del organismo, siendo su función la separación de péptidos de la pared celular bacteriana a través del hidrólisis del enlace glucosídico (Saz, 2003).

Y como último componente pero no menos importante encontramos el Factor bífido que es un carbohidrato nitrogenado presente en calostro y leche madura que promueve la colonización de *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus bifidus* que acidifican el intestino al producir ácido acético, ácido fórmico y ácido succínico contra bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Bacteroides fragilis*, *Staphylococcus aureus*) y Protozoarios (García-López, 2011).

iii. Componentes celulares: Puede detectarse un gran número de células como los leucocitos que está en una concentración similar a la que se encuentra en la sangre periférica ( $3 \times 10^6$  leucocitos /mL); la proporción característica de células es neutrófilos (40-60 %), macrófagos (30-50%), linfocitos B y linfocitos T y células NK (5-9%) (Lawrence, 2003).

De la actividad de los elementos celulares de la leche se sabe todavía muy poco. El mecanismo de acción es la fagocitosis y la secreción de algunas sustancias inmunológicas con cierta especificidad contra los gérmenes que la madre ha tenido contacto (Hanson, 1999).

Macrófagos: Se producen a partir de monocitos, se forman en medula ósea, viajan al sistema fagocítico-histiocitario convirtiéndose en macrófago. Participan en la biosíntesis y excreción de la lactoperoxidasa y factores de crecimiento celular que aumenta el crecimiento del epitelio intestinal. Sus funciones son la fagocitosis de microorganismos, muerte de bacterias y producción

de los componentes del complemento C3 y C4, lisozima, lactoferrina, e inhibición de la respuesta mitogénica de los linfocitos (García-López, 2011).

Granulocitos neutrófilos (leucocitos polimorfonucleares): Se encuentran en gran cantidad en el calostro. Entre sus funciones incluye la destrucción y muerte de gérmenes, fagocitosis, sensibilidad quimiotáctica, evaden la actividad estimulada por monofosfato de hexosa y estimulan el consumo de oxígeno. Estudios anteriores afirman que su principal función es la defensa del tejido mamario ya que lo protege éste de la mastitis (Riverón, 1995).

Linfocitos: Contienen dos clases de linfocitos, los T y B. Éstas células se derivan del timo y de la bolsa o tejidos equivalentes siendo las encargadas de sintetizar anticuerpos IgA. Los linfocitos B pueden ser identificados por la presencia de inmunoglobulinas como IgA, IgG e IgM y la mitad de esta población porta en su superficie anticuerpos IgA. Por otro lado los linfocitos T constituyen el 50% de la población de células de leche materna. Su función no está bien determinada pero se supone que contribuye a la defensa de las glándulas mamarias contra infecciones (Calixto González et al., 2011).

#### **D. Bancos de leche**

##### **1. Definición**

Los bancos de leche humana (BLH) son unidades técnicas asistenciales, que reciben, recolectan, analizan, pasteurizan, almacenan y distribuyen la leche humana proveniente de las madres que han decidido donar de forma solidaria o voluntariamente (Maury et al, 2010).

La implementación de los Bancos de leche humana es respaldada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como una forma de reducir la mortalidad infantil, pues está demostrado que la leche artificial alimenta a los niños pero no los protege de enfermedades a diferencia de la leche humana (Delgado Panta, 2011).

Los bancos de leche por sí mismos contribuyen a promocionar la lactancia materna y con ello la salud infantil. La propia existencia de los bancos de leche, con todo el dispositivo técnico que suponen con el único objetivo de preservar y dispensar leche materna, aumenta su valor desde

el punto de vista social. Además, puede resolver, de manera transitoria, los problemas de alimentación del recién nacido hasta que su madre le pueda dar el pecho en el posparto inmediato (García Lara, 2012).

## 2. Historia de los bancos de leche

Los bancos de leche humana surgen a finales del siglo XIX y principios del XX, pero con el apareamiento de la pandemia del virus de inmunodeficiencia humana VIH/SIDA estos se ven afectados, debido a que es un líquido biológico aumenta el riesgo de infección (Ayela, 2009).

Estudios han demostrado que el procesamiento llevado a cabo dentro de un banco de leche humana es seguro e inocuo reduciendo así la transmisión de enfermedades ya sea las causadas por virus o bacterias, ya que con una pasteurización conducida a 62.5 °C por 30 minutos, se desactiva el 100% de los microorganismos patógenos y el 99.99% de la microbiota saprófita, por lo que esta metodología ha aumentado las demandas por brindar al recién nacido y prematuros leche materna, ocasionando la expansión de estos centro de servicio (AEP,2004).

El primer banco de leche fue creado en Viena en el año 1900, seguidamente en Boston en 1910 y posteriormente se amplió a otras ciudades de Europa. El banco de leche humana del Instituto Fernández Figueira (IFF) fue la primera unidad en funcionamiento, inaugurado en 1943 en Brasil. Sirvió como modelo a otras instituciones, replicando la propuesta de operar exclusivamente como recolección y distribución de la leche humana, sin desarrollar actividades de promoción, protección y apoyo a la lactancia materna. En 1985 fue responsable por el proceso de reestructuración operacional que culminó en el establecimiento del actual paradigma para bancos de leche humana en Brasil. Contando Brasil con la mayor red de bancos de leche humana reconocido por la organización mundial de la salud (OMS) distribuidos así: 108 puestos de colecta y 206 bancos de leche humana, haciendo un total de 314 bancos de leches en todo el país; con esto Brasil se ha logrado consolidar como líder indiscutible en bancos de leche humana, desarrollando tecnología y metodologías propias, de bajo costo y de alto patrón de seguridad de la leche humana (OMS, 2007).

En 2006, a través de la carta Brasilia nació la red Latinoamericana de bancos de leche human (BLH), donde se establece las directrices para una política de expansión externa de los bancos de

leche humana. Así mismo en esta carta se destaca la importancia de la lactancia materna y el papel fundamental de los bancos de leche para prevenir la mortalidad neonatal (OMS, 2007).

La red iberoamericana de bancos de leche humana, fue creada en 2007, producto del acuerdo alcanzado entre los jefes de estado y de gobierno iberoamericano en el contexto de la XVII cumbre iberoamericana que se celebró en Santiago de Chile (OMS, 2007).

### **3. Bancos de leche humana en Guatemala**

En 1983, el Dr. Miguel Ángel Soto Galindo inició el proyecto de un lactario para el beneficio de los recién nacidos en el Hospital Nacional de Antigua Guatemala, en ese mismo año se inicia el programa “Madre Participante” en la Pediatría del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt (HNPB) (Soto Galindo, 2008).

Sin embargo en 1985, a raíz del surgimiento del VHI / SIDA y el riesgo del contagio a través de la leche materna, ya no fue posible utilizar la leche materna donada al lactario, para alimentar a los bebés prematuros y bebés enfermos hospitalizados.

A pesar de la clausura del lactario en 1985, se continuó con la promoción de la lactancia materna exclusiva dentro del HNPB y con la inquietud de crear un banco de leche para el futuro.

En el año de 1993 obtiene el premio hospital amigo de la lactancia materna, otorgado por UNICEF y OPS.

Posteriormente se inicia la elaboración del proyecto para la realización del Banco de leche Humana el cual fue financiado por el Club de Leones de Antigua Guatemala. En el 2006 se logra iniciar la construcción del Banco de Leche Humana, el cual se inaugura en marzo del 2008, siendo este el primer Banco de Leche Humana de referencia a nivel centroamericano, donde la recaudación de leche humana en su mayoría proviene de las madres en puerperio inmediato atendidas en el HNPB (Soto Galindo, 2008).

De conformidad con la carta de Brasilia, mediante el Acuerdo Ministerial 748-2010, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social creó y reguló el funcionamiento de los bancos de leche humana en Guatemala, en la actualidad se han implementado 10 bancos de leche humana en

los hospitales San Juan de Dios, Roosevelt, Pedro de Bethancourt (Antigua Guatemala), Cuilapa, Cobán, Zacapa, Quiché, Totonicapán, el Infantil “Elisa Martínez de Izabal, y Chimaltenango.

Es importante notar que con estos bancos de leche humana en funcionamiento, Guatemala pasa a ser el segundo país en número de bancos de leche humana en América Latina (después de Brasil) seguido por Venezuela que cuenta con 9 bancos de leche humana, debido a que este país tiene el apoyo de organizaciones nacionales e internacionales que promueven y protegen la lactancia materna impulsando desarrollo a nuestro país.

#### 4. Funcionamiento del banco de leche humana

Un banco de leche humana funciona con respectivos donantes y receptores. Las donantes son mamás en condiciones óptimas para donar, y los receptores de leche humana pasteurizada son bebés prematuros y con otras patologías, internados en el hospital, y luego los bebés (hasta seis meses), internados o no, a quienes sus madres no pueden amamantar, ya sea por abandono, por ser VIH positivas o por encontrarse en tratamiento con medicación contraindicada en la lactancia.

La donación es anónima y altruista. El banco selecciona a las donantes y recoge la leche, la analiza y pasteuriza, para eliminar agentes infecciosos, y luego se congela, para garantizar su calidad y seguridad. Por último, suministra, por prescripción médica la leche a los bebés que la necesitan. La cantidad de leche extraída depende de cada mujer, así como de la cantidad de donantes disponibles, por eso varía de una semana a otra.

Es preferible contar con donantes abundantes y frecuentes, pero las donaciones únicas o de pequeñas cantidades son sumamente importantes: con sólo 100 ml se puede alimentar varios días a un prematuro (Delgado Panta, 2011).

#### **E. Procedimientos en banco de leche**

El banco de leche humana del Hospital Nacional “Pedro de Bethancourt” recolectada, almacenada, descongela, selecciona y clasifica de acuerdo a la acidez y contenido de calorías. Luego es sometida a pasteurización para garantizar su calidad microbiológica y nutricional. La

leche se mantiene permanentemente en cadena de frío para garantizar su conservación (OMS, 2010)

La leche humana procesada es suministrada a los neonatos hospitalizados de acuerdo a la prescripción del médico o nutricionista, teniendo en cuenta: diagnóstico del bebé, edad gestacional, días de nacido y necesidades de calorías.

## 1. Recolección

La calidad de la leche humana recolectada es el resultado del esfuerzo inteligentemente orientado, desde la recolección hasta el momento del consumo. Este paso constituye la primera etapa del procesamiento donde la madre se lavan las manos y se le coloca una bata y una redcilla, la madre se limpia sus pezones y debe descartar en un frasquito las primeras tres gotas de leche (para que se limpien los ductos de las mamas) después se le coloca el extractor y se recolecta la leche, al termina la donación se trasvasa la leche a un frasco de vidrio estéril, éste frasco es debidamente rotulado (Almeida, 1986) (Moreira, 2011).

## 2. Selección y clasificación

La leche humana recolectada es congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$ , por un tiempo máximo de 15 días. Los frascos de leche se introducen en baño Maria a  $40^{\circ}\text{C}$ , con agitación constante por un tiempo de 15 a 20 minutos, los frascos son trasladados al área de pasteurización donde se realiza verificación de cuerpos extraños y suciedad y análisis del off flavor, que consiste en el análisis del olor y color, siendo este un método sensorial de no conformidad. El color blanco de la leche resulta de la dispersión de la luz reflejada por los glóbulos de grasa y por las partículas coloidales de caseína y de fosfato, sin embargo varía dependiendo de la diete de la madre, así como también a la fracción que predomine (Moreira, 2011).

Este paso del procedimiento consta con la etapa de descongelamiento, siendo está la parte crítica ya que al reducir la temperatura se permite el crecimiento de microorganismos patógenos, haciendo que disminuya las concentraciones de inmunoglobulina (Almeida, 1998).

### 3. Determinación de acidez Dornic y crematocrito

La determinación de la acidez de la leche humana en grados Dornic, se utiliza para el control físico y químico de calidad, ya que el aumento de este disminuye el valor inmunológico y denota contaminación microbiológica (Sager, 2007).

Ésta acidez se realiza por triplicado, titulando con hidróxido de sodio 0.111 N, utilizando como indicador fenoftaleína a los tres tubos de ensayo, el punto final de la titulación ocurre cuando al agregar el indicador cambia a color rosado claro (Moreira, 2011). Posteriormente se corrige el valor, donde cada 0.1 ml ya corregido por el factor de hidróxido equivale a 1.0 grado Dornic. El límite de acidez Dornic aceptado para leche humana es de 1 a 8 grados Dornic. (Schanler & Hurts, 2005).

Para la determinación del crematocrito se utiliza el mismo procedimiento que para el hematocrito, donde se llena el capilares con leche humana centrifugándolos durante 15 minutos a la velocidad de 5000 RPM. Medir el resultado del suero de cada capilar y de la grasa precipitada anotando el resultado en el cuaderno y calcular el porcentaje de grasa. Calcular kilocalorías por litro de cada frasco de leche (Moreira, 2011).

### 4. Pasteurización

Este proceso es un tratamiento térmico, conducido a 62.5 °C por 30 minutos, aplicado a la leche humana, con el objetivo de inactivar el 100 % de los microorganismos patógenos y 99.99 % de la microbiota saprofitas. Posteriormente se promueve el enfriamiento rápido a una temperatura de 5°C por 15 minutos con agua desionizada y 20 % de alcohol al 95% (Moreira, 2011).

Las directrices de bancos de leche humana recomiendan el método de pasteurización Holder, descrito anteriormente, este proceso de la leche humana pierde algunos componentes biológicamente activos como lo son las inmunoglobulinas, IgA, IgG e IgM, lactoferrina, lisozima, linfocitos lipasa, fosfatasa alcalina, citoquinas y algunos factores del crecimiento; debido a que

estas proteínas cambian de estructura tridimensional, originando de esta manera la pérdida de función.

Un factor importante es la temperatura ya que cuando esta se eleva se aumenta la energía cinética de las moléculas, desorganizándose la energía acuosa y desnaturando las proteínas.

Este cambio de temperatura también destruye las interacciones débiles desorganizando la estructura de las proteínas. Normalmente la desnaturación con una temperatura elevada es irreversible debido a que se rompen los puentes débiles de enlace al aumentar la vibración térmica de los átomos componentes (Hanson, 1999).

Estudios realizados indican que durante la pasteurización se da lugar a la pérdida de varios componentes de leche humana, dentro de los que se pueden mencionar un 50% de inmunoglobulinas, 100% de linfocitos, 80% lipasa 65% lactoferrina (Ibáñez, 2008).

## 5. Análisis microbiológico

El procedimiento para el análisis microbiológico de las leches recolectadas es una modificación del método del número más probable, este se basa en la detección de coliformes totales.

Para realizar el análisis microbiológico de la leche humana pasteurizada, se inocula cuatro alícuotas de 1ml en cada uno de los tubos de 10 ml de caldo bilis verde brillante al 5 % p/V, con campanilla de Durham, posteriormente se incuban a 36 °C por 48 horas, observando la formación de burbujas de gas cada 24 horas. Si no hubiese formación de gas se reporta como coliformes negativo y el frasco es almacenado a -18 a -20°C para su distribución posterior.

Se debe observar a las 24 o 48 horas la formación de gas, si existe evidencia de esta, realizar el test confirmatorio para coliformes, inoculando en medio bilis verde brillante 0.01 ml del tubo del test primario. Este se incuba a 36°C por 24 o 48 horas. Si a las 24 o 48 horas se observa formación de gas se confirma la presencia de coliformes fecales, el frasco de leche humana debe descartarse inmediatamente (Moreira, 2011).

## 6. Distribución de la leche humana

El banco de leche humana debe distribuir solo el producto final que ha sido sometido al correcto procesamiento y control adecuado de calidad, este se distribuye a prematuros o recién nacidos de bajo peso o enfermos, especialmente a niños con entero-infecciones, diarreas o deficiencias inmunológicas (Moreira, 2011).

#### 1. Condiciones y uso de la leche

##### El uso de la leche humana almacenada

a. La leche fresca es mejor que la congelada; por tal motivo se debe utilizar primero la leche con más tiempo en el congelador.

b. El bebé puede tomar la leche fría, a temperatura ambiente o caliente. Los niños pueden mostrar una preferencia.

c. Una forma adecuada de descongelar la leche humana es colocarla en un recipiente que contenga agua caliente. Estudios hechos sobre descongelamiento de leche humana en el microondas muestran que es difícil controlar la temperatura en el microondas, lo que causa que la leche se caliente de manera desigual. A pesar de que el calentar la leche en el microondas disminuye las bacterias como lo hace la pasteurización, el ponerla en el microondas también disminuye significativamente la calidad anti-infecciosa de la leche humana, lo cual puede disminuir en general las propiedades saludables para el niño.

d. Una vez que la leche congelada llegue a la temperatura ambiente, su habilidad de inhibir el crecimiento bacteriano disminuye, especialmente después de 24 horas de ser descongelada.

e. El crecimiento bacteriano y la pérdida de la actividad antibacteriana en leche descongelada dependen de la técnica que se utilice para descongelarla, la duración de tiempo que la leche se ha mantenido descongelada y la cantidad de bacterias en la leche al momento de la extracción. En este momento no se pueden hacer recomendaciones acerca de recongelar la leche humana que ya ha sido descongelada.

f. Una vez que el niño comienza a tomar leche humana extraída, alguna contaminación bacteriana ocurre en la leche desde la boca del bebé. El tiempo de duración que la leche puede ser mantenida a una temperatura ambiente una vez que el bebé se haya alimentado parcialmente de una taza o biberón, dependería teóricamente de la carga bacteriana inicial en la leche.

No se han hecho estudios que provean recomendaciones al respecto. Basados en evidencia relacionada, hasta ahora parece razonable el tirar la leche restante dentro de 1-2 horas después de que el bebé haya terminado de comer.

g. La leche humana extraída no requiere cuidados especiales (tales como las precauciones universales), como es requerido para otros fluidos corporales como la sangre.

Puede ser almacenada en el refrigerador del trabajo donde otros trabajadores guardan alimentos, aunque se debe etiquetar con nombre y día. Las madres puede que prefieran almacenar su leche en una hielera personal.

h. La leche humana no contaminada contiene naturalmente bacterias que no son patógenas y son importantes para establecer la flora intestinal neonatal. Estas bacterias son probióticos que crean en el intestino las condiciones desfavorables para que no crezcan organismos patógenos. Si la madre tiene dolor en el seno o en el pezón debido a lo que se considera una infección bacteriana o por hongos, no hay evidencia que muestre que su leche extraída deba ser desechada. No debe alimentarse al bebé con leche humana de apariencia fibrosa, fétida o purulenta (Englsh, 2010).

## **F. Estudios Realizados**

En un artículo publicado por Ortiz, K., Moreira, R., Soto, M. y Arroyo, G. (2014), donde se determinó la Inmunoglobulina A en leche humana antes y después de pasteurizar, llevado a cabo en el Banco de Leche Materna del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala, éste estudio logro identificar una reducción en los niveles de inmunoglobulinas producidos por la pasteurización.

La turbidimetría fue la metodología aplicada en el estudio, la cual determinó, que la concentración media de IgA antes del proceso de pasteurización fue de 18.86 mg/dL y la concentración media de IgA después del proceso de pasteurización fue de 9.94 mg/dL.

La disminución de la concentración de IgA fue significativa después del proceso de pasteurización ( $p < 0.0001$ ), con un porcentaje de reducción en la concentración de IgA de 48.28% (Ortiz et al., 2014).

También cabe mencionar que este artículo sirvió de base para el análisis del estudio (Concentraciones de Inmunoglobulina A en muestras de leche materna durante las fases de procesamiento en el Banco de Leche Humana del Hospital Nacional “Pedro Bethancourt” de la Antigua Guatemala, Sacatepéquez) llevado a cabo por Linares.

En el año 2013 se llevó a cabo un estudio titulado (Concentraciones de Inmunoglobulina A en muestras de leche materna durante las fases de procesamiento en el Banco de Leche Humana del Hospital Nacional “Pedro Bethancourt” de la Antigua Guatemala, Sacatepéquez), (Linares, 2013), en el cual se concluyó que las muestras de leche materna y sus concentraciones de IgA al iniciar cada una de las fases a las que se somete en el banco de leche humana del Hospital Nacional “Pedro de Bethancourt” de la Antigua Guatemala, son significativas, observándose que las concentraciones de las muestras analizadas fueron disminuyendo durante cada una de las fases de procesamiento. Así mismo las concentraciones IgA observadas al finalizar las fases del proceso de leche materna también existió diferencia entre las concentraciones de IgA en cada fase del proceso, debido a la formación de cristales y desnaturalización proteica.

Otro aspecto importante que se concluye en dicho estudio es que la leche procedente del banco de leche humana, antes de la administración al neonato contiene 48.5% de la concentración original de inmunoglobulina, esta reducción de 51.5% del total de IgA es debida a los procesos sometidos en el banco de leche, sin embargo continua siendo un aporte inmunológico importante para el lactante. Por otro lado se demostró que la fase de descongelación I fue la que más afectó las concentraciones de IgA, disminuyéndola un 19.6% de la concentración inicial, resultando un punto crítico en el procesamiento del banco de leche debido a la inestabilidad de las temperaturas de congelación y formación de cristales que destruyen la proteína (Linares, 2013).

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

La lactancia materna es un proceso único y un pilar fundamental que contribuye en el desarrollo y nutrición de la niñez, suficiente para satisfacer las necesidades nutricionales, reduciendo la incidencia y gravedad de enfermedades infecciosas, disminuyendo la morbilidad y mortalidad infantil.

Los bancos de leche juegan un papel importante y han ido cobrando importancia ya que su función primordial es la de brindar leche pasteurizada a niños prematuros, recién nacidos de bajo peso o enfermos que se encuentran hospitalizados, obteniendo con ello los beneficios inmunológicos que la leche humana ofrece.

La importancia de la realización de este trabajo es establecer el efecto de los puntos críticos del procesamiento de la leche humana sobre los valores de IgG e IgM en el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt. En donde se planea establecer las concentraciones de estos factores inmunes en las cuatro etapas del procesamiento; siendo estas las etapas: basal, descongelamiento I, pasteurización y descongelamiento II.

Conocer este efecto, permitirá identificar, planificar y llevar a cabo, modificaciones a las fases del procesamiento, las cuales tienden a provocar la reducción de los elementos proteicos inmunomoduladores, así como para garantizar un producto de calidad certificada.

## **V. OBJETIVOS**

### **A. General**

1. Establecer el efecto de los puntos críticos del procesamiento de leche materna sobre los valores de IgG e IgM, en un banco de leche de Guatemala.

### **B. Específicos**

1. Establecer el efecto de las fases de congelamiento/descongelamiento de la leche materna, sobre los valores de IgG e IgM.
2. Establecer el efecto de la fase de pasteurización de la leche materna, sobre los valores de IgG e IgM.

## **VI. HIPÓTESIS**

### **A. General de la investigación**

Los puntos críticos del procesamiento de la leche humana reducen más del 10 % los niveles basales de las concentraciones de IgG e IgM.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### a) Universo y muestra de trabajo

1. Lugar: El proyecto planteado se desarrolló en el laboratorio de inmunología del Hospital Roosevelt y el Banco de Leche Humana “Dr. Miguel Ángel Soto Galindo” del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.
2. Universo: El universo de este proyecto fue la leche donada y procesada en el Banco de Leche Humana del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.
3. Muestra: Veinticinco muestras de leche humana obtenidas del Banco de Leche Humana “Dr. Miguel Ángel Soto Galindo” del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.
  - a. Criterios de inclusión: Muestras frescas que contengan al menos de cinco onzas de leche, de color blanco o amarillento, colectadas de madres donadoras del Banco de Leche.
  - b. Criterios de exclusión: Muestras que contengan contaminantes visibles a la inspección ocular (separación grasa-proteína, elementos extraños). Valores de acidez Dornic mayores a 8.

### b) Recursos institucionales y humanos

#### 1. Institucionales:

Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Banco de Leche Humana “Dr. Miguel Ángel Soto Galindo” Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

2. Humanos:

Lic. Gerardo Arroyo Catalán, Msc.

Lic. Kevin Alexander Ortiz Barrientos.

Dr. Miguel Ángel Soto Galindo.

Br. María Gabriela Miss Mas, Seminarista

Br. Silvia Pamela Lam Aguilar, Seminarista

3. Materiales:

a. Físicos:

i. Equipo de campo

Cuadernos

Calculadora

Lapiceros

Tubos de ensayo

Gradillas

Tips o puntas para pipetas automáticas

Guantes desechables

Bata

ii. Equipo de laboratorio

Espectrofotómetro

Mechero de Bunsen

Pipetas automáticas

iii. Reactivos

1 Kit de IgG (Biosystems)

1 Kit de IgM (Biosystems)

### c) Procedimientos

Proceso de la leche humana en el Banco de Leche e identificación de puntos críticos. El proceso de la leche humana en el Banco de Leche incluye los siguientes pasos:

1. Recolección y Almacenamiento (punto basal): Las madres donadoras de leche humana fueron entrevistadas en el banco de leche, donde se llenaron formularios de datos generales y firmaron un consentimiento informado sobre la donación de cada madre (ver anexo 1). Posteriormente en las clínicas de donación procedieron con la ayuda de bombas de succión automáticas o bombas manuales a la recolección de leche en recipientes estériles. La donación de cada madre oscila regularmente entre 1 - 7 onzas de leche. Las muestras de leche que cumplieron con los criterios establecidos por el banco de leche, son entonces congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Previo al congelamiento se recolectó una alícuota de 5 ml de leche donde se determinó las concentraciones de IgG e IgM, considerando este valor como el basal.

2. Descongelamiento I (punto crítico I): En esta fase se llevó a cabo dos procedimientos siendo estos: descongelamiento, análisis macroscópico.

a. Descongelamiento:

- i. Se introdujeron en baño María los frascos con la leche humana cruda, contenidos dentro del congelador con agitación constante.
- ii. Se controló el tiempo y temperatura de descongelamiento de la leche, de 15 a 20 minutos a  $40^{\circ}\text{C}$ .
- iii. Ya descongelada la leche se trasladó los frascos de leche con cuidado al área de pasteurización

b. Análisis Macroscópico:

- i. Se realizó el análisis macroscópico y off- flavor de la leche, revisando cuerpo extraño, color, olor y embalaje del frasco.
- ii. Se descartaron los frascos que no cumplían con los parámetros establecidos.
- iii. Anotando en un cuaderno si algún frasco fue descartado y su justificación.
- iv. Se trabajó cerca del mechero Bunsen, a una distancia no mayor a 30 cm para la inhibición de los microorganismos.
- v. Se pipeteo 4 ml en cuatro tubos de ensayos, (1 ml por cada tubo) para la realización del crematocrito y la acidez Dornic.

3. Pasteurización (punto crítico II): Esta fase consistió en someter las muestras de leche a una temperatura de 62.5 °C para la eliminación de microorganismos y luego la introducción de la muestra a un choque térmico a una temperatura de – 5 °C para detener la desnaturalización de proteínas.

- a. Se introdujeron 25 frascos de 5 onzas de leche materna; para esto se agregaron los frascos de poca cantidad a los frascos de mayor cantidad para complementar 5 onzas por frasco.
- b. Se cargó el baño María con los frascos conteniendo la leche a ser pasteurizada, 25 frascos de vidrio de 5 onzas cada uno, más 1 frasco con agua que contiene 5 onzas de agua y un termómetro calibrado para verificar que la temperatura llegue a 62.5°C en 15 minutos.
- c. Se inició la marcación del tiempo de 15 minutos a partir del momento en que la temperatura de la leche humana alcanzó los 62.5°C y después 30 minutos consecutivos a 62.5°C ± 0.5°C.
- d. Transcurridos los 30 minutos de la letalidad térmica, se colocaron los frascos en el baño de Enfriamiento Rápido hasta que la leche humana alcanzó una temperatura de 0 a 5°C durante 15 minutos.

e. Se recolecto una alícuota de 5ml de leche para el análisis.

4. Descongelamiento II (punto crítico III): En esta fase se realizó la segunda descongelación, posteriormente que el cultivo microbiológico de coliformes fecales saliera negativo, las muestras de leche se distribuyeron en el servicio de recién nacido, donde se descongela.

- a. Se introdujeron en baño María los frascos con leche humana ya pasteurizada.
- b. Se controló el tiempo y temperatura de descongelamiento de la leche, hasta que llegó a su temperatura óptima.
- c. No dejar a temperatura ambiente por más de unas cuantas horas la leche materna que previamente ha sido descongelada.
- d. Se distribuyeron las muestras de leche.

5. Número de muestras: Se obtuvieron un total de 25 muestras de leche humana que cumplieron con los criterios de inclusión procedentes de donadoras del Banco de Leche Humana del Hospital Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala, durante la etapa de recolección y almacenamiento (Etapa basal), y se procedió a dar seguimiento a las muestras para obtener alícuotas de las mismas durante los puntos críticos I, II y III. (anexo I: ficha de recolección de datos).

La determinación de la concentración de IgG se llevó a cabo utilizando la técnica de punto final por turbidimetría, marca Biosystems, S.A., que descrita brevemente incluye:

a. Determinación IgG

i. Blanqueo de muestra y/o calibradores

- Se precalentó el reactivo y muestra/calibradores a 37 °C.
- Pipeteó de 440 µL de reactivo en cubeta de reacción.
- Pipeteó de 3 µL de muestra/calibrador en cubeta de reacción.
- Se leyeron y anotaron las absorbancia inmediatamente a 340 nm y 670 nm.

ii. Preparación de muestras/calibradores

- Precalentamiento de reactivo y muestras/calibradores a 37 °C.
- Pipeteo de 440 µL de reactivo en cubeta de reacción.
- Pipeteo de 3 µL de muestra/calibrador en cubeta de reacción.
- Se leyó las absorbancias a 340 nm a los 8 minutos de haber agregado la muestra/calibrador.

iii. Cálculo de concentración

- Para el cálculo de la absorbancia de la muestra/calibrador se utilizó la siguiente fórmula:

$$Abs_{Mx} = Abs''_{340} - \left( \frac{Abs'_{340} + Abs'_{670}}{2} \right)$$

Dónde:

- $Abs_{Mx}$  = Absorbancia de la muestra/calibrador
  - $Abs''_{340}$  = Absorbancia a 340 nm a los 8 minutos
  - $Abs'_{340}$  = Absorbancia a 340 nm en el tiempo 0
  - $Abs'_{670}$  = Absorbancia a 670 nm en el tiempo 0
- 
- Curva de calibración: Se representó gráficamente los valores de absorbancia de cada calibrador frente a la respectiva concentración de IgG. Se utilizó el Blanco como calibrador de concentración 0.
  - La concentración de IgG en la muestra se calculó por interpolación de su absorbancia en la curva de calibración.

b. Determinación IgM:

i. Blanqueo de muestra y/o calibradores

- Precalentamiento de reactivo y muestra/calibradores a 37 °C.
- Pipeteo de 440 µL de reactivo en cubeta de reacción.
- Pipeteo de 3 µL de muestra/calibrador en cubeta de reacción.
- Se leyeron y anotaron la absorbancia inmediatamente a 340 nm y 640 nm.

ii. Preparación de muestras/calibradores

- Precalentamiento de reactivo y muestras/calibradores a 37 °C.
- Pipeteo de 300 µL de reactivo en cubeta de reacción.
- Pipeteo de 5 µL de muestra/calibrador en cubeta de reacción.
- Se leyó las absorbancias a 340 nm a los 10 minutos de haber agregado la muestra/calibrador.

iii. Cálculo de concentración

- Para el cálculo de la absorbancia de la muestra/calibrador se utilizó la siguiente fórmula:

$$Abs_{Mx} = Abs''_{340} - \left( \frac{Abs'_{340} + Abs'_{640}}{2} \right)$$

Dónde:

$Abs_{Mx}$  = Absorbancia de la muestra/calibrador

$Abs''_{340}$  = Absorbancia a 340 nm a los 10 minutos

$Abs'_{340}$  = Absorbancia a 340 nm en el tiempo 0

$Abs'_{640}$  = Absorbancia a 640 nm en el tiempo 0

- Curva de calibración: Se representó gráficamente los valores de absorbancia de cada calibrador frente a la respectiva concentración de IgM. Se utilizó el Blanco como calibrador de concentración 0.
- La concentración de IgM en la muestra se calculó por interpolación de su absorbancia en la curva de calibración.

6. Diseño experimental: El diseño experimental de este proyecto fue de bloques completos no aleatorios sin repetición, en donde cada bloque estaba constituido por las muestras de leche a las que se les aplicó en forma secuencial los tratamientos. Estos fueron los puntos críticos del proceso.

El nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ . Se asumió una diferencia mínima entre los grupos en función de la desviación estándar que se obtuvo al realizar las mediciones, con un error de diseño= 1.5, siendo un total de 20 bloques los que se analizaron con cuatro determinaciones, que representaron las cuatro fases de procesamiento de la leche durante su estancia en el banco de leche humana. Para una mejor validez a la investigación se analizaron 5 bloques más siendo un total de 25 bloques.

7. Análisis de datos: Los datos obtenidos para las concentraciones de IgG e IgM fueron analizados por medio de estadística descriptiva (medidas de tendencia central) y los tratamientos comparados inicialmente utilizando un análisis de varianza (ANDEVA). Para establecer si existió diferencia estadísticamente significativa entre los puntos críticos se compararon los promedios de cada tratamiento entre sí utilizando la prueba de Fisher para mínima diferencia significativa.

a. Hipótesis estadística

i. Hipótesis general:

Ho:  $\mu$  punto basal =  $\mu$  punto crítico I =  $\mu$  punto crítico II =  $\mu$  punto crítico III

Estadístico: Análisis de varianza

Donde  $\mu$  representa el promedio de las concentraciones de las muestras de leche para cada uno de los factores inmunomoduladores evaluados, IgG e IgM.

No se incluye hipótesis alterna por ser comparación de varios grupos.

ii. Hipótesis específicas:

Ho:  $\mu_{\text{grupo } j} = \mu_{\text{grupo } i}$

Ha:  $\mu_{\text{grupo } j} \neq \mu_{\text{grupo } i}$

Estadístico: Prueba de Fisher de la mínima diferencia significativa entre grupos pareados.

Donde el  $\mu$  de grupo corresponde al promedio de cada factor inmunomodulador evaluado (IgG e IgM) para cada punto crítico incluyendo el basal y se hacen comparaciones pareadas de los diferentes grupos.

## VIII. RESULTADOS

Se recolectó un total de 25 muestras de leche materna, procesadas en sus diferentes puntos críticos (fase I: basal, fase II: descongelamiento I, fase III: pasteurización y fase IV: descongelamiento II), provenientes del Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala, a las cuales se les cuantificó la concentración de IgG e IgM.

Se obtuvieron los resultados después de cada fase del procesamiento, los cuales se muestran en el cuadro 1 donde se observan los promedios por fase para la IgG. En la fase I se obtuvo un promedio basal de 87.9 mg/dL (DE= 52.0 mg/dL), en la fase II el promedio fue de 61.2 mg/dL (DE= 37.9 mg/dL), por otro lado la fase III mostró un promedio de 69.7 mg/dL (DE= 24.5 mg/dL) y la fase IV disminuyó su promedio con un 63.9 mg/dL (DE= 22.7 mg/dL). Así mismo se muestran los Intervalos de confianza (IC) al 95% en cada fase, donde se observa que el intervalos más amplio fue de 60.4 – 79.9 correspondiente a la fase III. Por otro lado se establece los valores p de la prueba de Fisher, donde se muestra un valor global de  $p= 0.0004$ .

**Cuadro 1** Valores descriptivos de IgG en leche materna durante los puntos críticos del procesamiento del Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala

<b>FASE</b>	<b>Promedio (mg/dL)</b>	<b>Concentración (%)</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Intervalo de Confianza al 95%</b>
<b>Fase I *</b>	87.9	100	52.0	78.7 – 97.0
<b>Fase II</b>	61.2	69.6	37.9	52.0 – 70.3
<b>Fase III</b>	69.7	79.3	24.5	60.4 – 79.2
<b>Fase IV</b>	63.9	72.7	22.7	54.7 – 73.0

*Fuente:* Datos experimentales, obtenidos en el Laboratorio de Inmunología del Hospital Roosevelt.  
Fase I: extracción de leche, Fase II: descongelación I, Fase III: pasteurización, Fase IV: descongelación II.

\*p: prueba de Fisher de la mínima diferencia significativa. Entre fases:  $p= 0.0004$

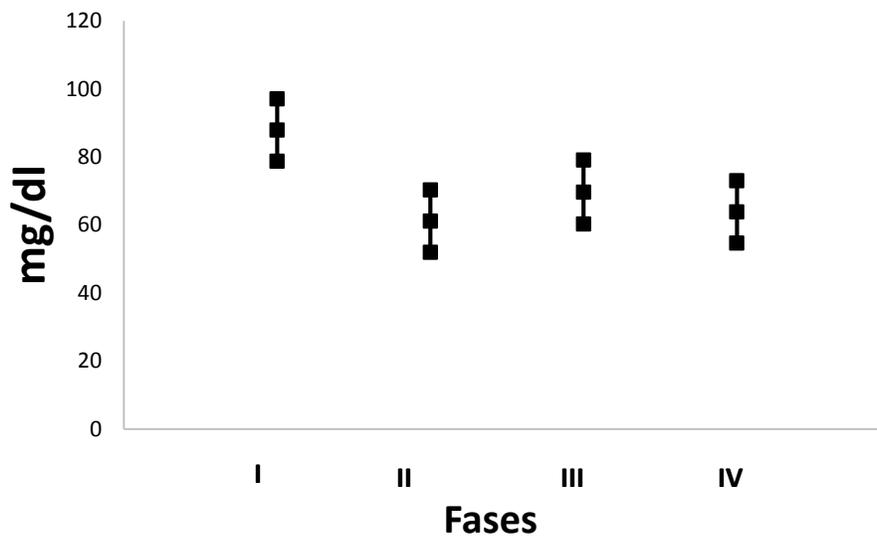
p Fase I – II= < 0.001

p Fase II - III= 0.197

p Fase III - IV= 0.378

En la gráfica 1 se observa los valores promedios de IgG en cada fase del procesamiento de leche humana, donde se puede observar que existe un patrón lineal descendente, donde el máximo descenso es después de la fase I (Descongelamiento I).

**Gráfica 1** Valores promedio e Intervalos de confianza (IC) al 95% de IgG, de cada fase del procesamiento del Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala



*Fuente:* Datos experimentales, obtenidos en el Laboratorio de Inmunología del Hospital Roosevelt.  
Fase I: extracción de leche, Fase II: descongelación I, Fase III: pasteurización, Fase IV: descongelación II.

En el cuadro 2 se puede observar que se obtuvo un promedio basal de IgM de 48.5 mg/dL (DE= 32.4 mg/dL) (fase I), la leche al ser sometida al congelamiento alcanzó un promedio de 46.8 mg/dL (DE= 55.9 mg/dL) (Fase II), en la fase de pasteurización se logró un promedio de 31.3 mg/dL (DE= 17.2 mg/dL) (Fase III) y por último en la fase IV se obtuvo un promedio de 27.8 mg/dL (DE= 19.5 mg/dL). Observando que durante todo el proceso llevado a cabo en el banco de leche, esta inmunoglobulina disminuyó un 57.4%.

Los datos obtenidos se compararon utilizando la prueba de ANDEVA para controlar las variaciones y diferencias significativas entre fases, indicando diferencias significativas con un  $p=0.0039$ , la comparación entre las fases I – II ( $p=0.800$ ) y las fases III – IV ( $p=0.608$ ) no se logró establecer diferencia estadística y para la fase II – III ( $p=0.025$ ) se logró establecer diferencia significativa.

**Cuadro 2** Valor de IgM en leche materna durante los puntos críticos del procesamiento del Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala

Fases	Promedio (mg/dL)	Concentración (%)	Desviación Estándar	Intervalo de Confianza (IC) al 95%
<b>Fase I *</b>	48.5	100	32.4	38.9 – 58.0
<b>Fase II</b>	46.8	96.5	55.9	37.2 – 56.3
<b>Fase III</b>	31.3	64.6	17.2	21.8 – 40.9
<b>Fase IV</b>	27.8	57.4	19.5	18.3 – 37.4

*Fuente:* Datos experimentales, obtenidos en el Laboratorio de Inmunología del Hospital Roosevelt.

Fase I: punto basal, Fase II: descongelamiento I, Fase III: pasteurización, Fase IV: descongelamiento II.

\*p: prueba de Fisher de la mínima diferencia significativa. Entre fases:  $p= 0.0039$

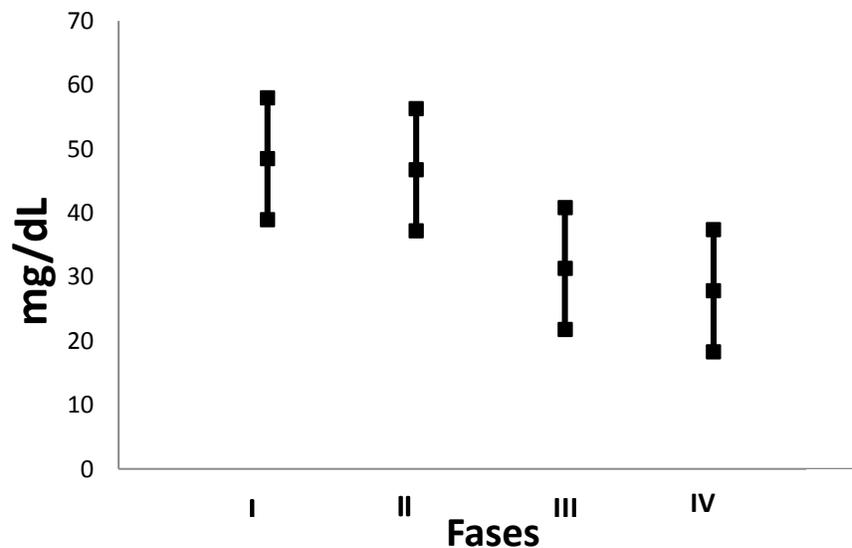
p Fase I - II= 0.800

p Fase II - III= 0.025

p Fase III - IV= 0.608

En la gráfica 2 se observa los valores promedios e intervalos de confianza de IgM en cada fase del procesamiento de leche humana, en donde las fases I - II y las fases III - IV existe un entrecruzamiento indicando que no existe una diferencia significativa entre estas fases.

**Grafica 2** Valores promedio e Intervalos de confianza (IC) al 95% de IgM, de cada fase del procesamiento del Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala



*Fuente:* Datos experimentales, obtenidos en el Laboratorio de Inmunología del Hospital Roosevelt.

Fase I: extracción de leche, Fase II: descongelación I, Fase III: pasteurización, Fase IV: descongelación II.

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se determinaron las concentraciones de dos inmunoglobulinas importantes presentes en la leche humana, siendo estas la inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina G (IgG), para ello un total de 25 muestras de leche humana fueron analizadas y procesadas en el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro Bethancourt. El proceso llevado a cabo en el banco de leche, donde se determinaron las concentraciones de estas inmunoglobulinas consta de cuatro fases: fase I: recolección y almacenamiento, fase II: descongelamiento I, fase III: pasteurización y fase IV: descongelamiento II), en el cual se pudieron identificar tres puntos críticos que pueden destruir componentes inmunológicos presentes en la leche humana, siendo estos las fases de congelamiento/descongelamiento I y II, y la de pasteurización.

La IgG es la tercera inmunoglobulina de mayor importancia en la leche humana, esta se encuentra en mayor proporción en el suero y estructuralmente es un monómero que la hace más lábil a procesos como hidrólisis y desnaturalización. Se obtuvo una concentración basal promedio (Fase I) 87.9 mg/dL (DE= 52.0 mg/dL), esta fase no es considerada como un punto crítico ya que durante la misma la leche no sufre ningún proceso que altere su composición ya que únicamente ha sido extraída de la madre. En general se estableció que la concentración de IgG disminuyó 20.7 % (fase IV) durante todo el proceso llevado a cabo en el banco de leche. Estudios reportados con anterioridad han obtenido menores pérdidas que las obtenidas en este estudio (Hahn-Zoric, Carlsson, Björkander, Mellander, Friman, Padyukov & Hanson, 1997; Saraswathy, 1990).

La concentración media basal de IgM (Fase I) fue de 48.5 mg/dL (DE= 32.4 mg/dL) y después del procesamiento (fase IV) se obtuvo una reducción de 42.6 %. Estudios reportados con anterioridad obtuvieron una destrucción total de IgM aunque en estos estudios se utilizó el método de inmunodifusión radial para la cuantificación de inmunoglobulinas (Ford, Law, Marshall & Reiter, 1977; Koenin, Albuquerque, Correira & Costa, 2005). Ambas inmunoglobulinas son afectadas parcialmente por los procesos físicos y químicos llevados a cabo en los bancos de leche humana (Ingraham, 1998).

En la Fase II (congelamiento/ descongelamiento I) se obtuvieron concentraciones para IgG de 61.2 mg/dL (DE= 37.9 mg/dL) y para IgM de 46.8 mg/dL (DE= 55.9 mg/dL). En esta fase se redujo la concentración de inmunoglobulinas, posiblemente a las variaciones de temperatura que

dan lugar a la formación de cristales grandes que ocasionan el rompimiento de proteínas y al crecimiento bacteriano que provoca la destrucción de inmunoglobulinas (Pittard, 2011).

Al comparar la fase I (Medición Basal) y fase II (congelamiento/descongelamiento I) se logró establecer una diferencia estadísticamente significativa para la IgG con un valor  $p < 0.001$ , en cambio IgM ( $p = 0.800$ ) no mostró diferencia estadísticamente significativa. Un estudio previo realizado por Linares (2013) reportó diferencia significativa para IgA durante esta fase.

La reducción de la concentración de la fase I a la fase II de IgG fue de 30.4% y de IgM 3.5%. Linares (2013) obtuvo una reducción de 19.6% de IgA, como puede observarse la reducción de IgG es mayor, esto parcialmente debido a que la IgA es más estable por poseer un componente secretor la cual la hace menos susceptible a degradación por procesos físicos (Ingraham, 1998).

La tercera fase consiste en la pasteurización, en esta fase la IgG presentó 69.7 mg/dL (DE= 24.5 mg/dL) e IgM 31.3 mg/dL (DE= 17.2 mg/dL). Esta fase mostró un aumento anormal en la concentración de IgG el cual se puede atribuir a errores durante el proceso de almacenamiento previo a la pasteurización y durante el mismo proceso de pasteurización. De los tres puntos críticos estudiados esta fase reduce considerablemente la concentración de IgM (31.4%), esto debido a que la pasteurización eleva la temperatura a 62.5°C por 30 minutos, provocando la desnaturalización de las proteínas. Estudios realizados en bancos de leche de Estados Unidos de la Human Milk Banking Association, han demostrado que se elimina el 99.9% de patógenos, conservando cerca del 40 al 50% de proteína (Pittard, 2011). Otro estudio realizado por Czank et al (2009) evaluó el tiempo de pasteurización y la temperatura concluyendo que a 57°C por 30 min. se logra la retención de más del 90% de proteínas, con una destrucción bacteriana del 99%, estableciendo que el tiempo adecuado para la destrucción del 99% de microorganismos a 62.5°C por 20 minutos, concluyendo que se podría obtener una menor destrucción de los componentes inmunológicos contenidos en la leche humana si se utilizara ese tiempo.

Al comparar los resultados obtenidos durante la fase II (congelamiento/descongelamiento I) y fase III (Pasteurización), no se observó una diferencia significativa en la concentración de IgG ( $p = 0.197$ ), mientras que para IgM ( $p = 0.025$ ) se observó diferencia significativa; Al igual que lo reportado por Linares en 2013 donde se observó diferencia significativa para IgA. También Slöllözy, Marjai & Lantos en 1974 describieron este efecto de la pasteurización sobre distintos

componentes de la leche humana, que posteriormente fueron aplicados a los bancos de leche humana (Evans et al., 1978; Elliott, Howie & Farmer, 1978; Wills Han Harris & Baum, 1982).

La última fase del proceso consiste en la descongelación II, se observó una concentración promedio de 63.9 mg/dL (DE= 22.7 mg/dL) para IgG, y 27.8 mg/dL (DE= 19.5 mg/dL) para IgM. El porcentaje de pérdida de IgG para la fase IV (descongelamiento II) es menor que la fase dos (descongelamiento I), esto debido a que el congelador donde se almacenan las muestras pasteurizadas no se abre constantemente, manteniendo estable la temperatura (-18 a -20°C), impidiendo la formación de cristales de hielo o que estos sean tan mínimos que no provocan la destrucción de proteínas. Otro aspecto importante es que la leche se encuentra pasteurizada por lo que no existen bacterias que puedan consumir la proteína (Moreira, 2011).

La diferencia de concentración no es significativa entre la fase III y fase IV (IgG  $p= 0.378$  IgM  $p= 0.0608$ ). Linares (2013) reportó diferencia significativa entre estas fases para la IgA.

Queda claro que algunos de los procesos llevados a cabo dentro del Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro Bethancourt, reducen significativamente las concentraciones de los componentes inmunológicos contenidos en la leche humana, por lo que permite planificar acciones para una menor destrucción de proteínas y obtener un producto con mayor valor inmunológico.

## **X. CONCLUSIONES**

1. El procesamiento de la leche humana en el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, redujo más del 10 % las concentraciones de IgG 20.7% e IgM 42.6%.
2. La Fase de congelamiento/descongelamiento llevado a cabo en el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, produjo una reducción significativa de la concentración de IgG.
3. La pasteurización de la leche humana llevada a cabo en el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, produjo una reducción significativa de la concentración de IgM.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Se requiere llevar a cabo más investigaciones que incluyan diferentes tiempos y temperaturas de pasteurización con el fin de establecer una menor reducción de los componentes inmunológicos contenidos en la leche humana, tomando en cuenta que se reduzcan los patógenos en un porcentaje aceptable.
2. Es recomendable utilizar un refrigerador para uso exclusivo de almacenamiento de la leche recolectada (congelamiento/descongelamiento I), para disminuir el porcentaje de pérdida de los componentes inmunológicos contenidos en la leche humana.

## XII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Almeida, J. A. G. (1986). *Qualidade do Leite humano Coletado e Processado em Bancos de Leite*. (Tesis de Maestría): Facultad de Ingeniería de Alimentos, Universidad Federal de Viçosa. Brasil.
- Almeida, J.A.G., Novak, F. R. & Sandoval, M.H. (1998). Recomendaciones técnicas para los bancos de leche humana II – Control de calidad. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 61(1), 12-15
- Alonso, V., Melchor, A., López, R., Gómez, I., Zulueta, O., Hernández, et al. (2004). Ensayo inmunturbidimétrico para la cuantificación de IgA, IgG e IgM en suero humano. *Bioquímica*, 29(2), 45-54.
- Álvarez, N., Otero, O., Falero, G., Cádiz, A., Marcet, R., Carbonell, A., et al. (2010). Purificación de inmunoglobulina A secretora a partir de calostro humano. *VacciMonitor*. 19(3), 26-29.
- Ayela, Ma. (2009). *Lactancia Materna*. España: Editorial Club Universitario.
- Bernt, K & Walker, W.A. (2001). Human milk and the response of intestinal epithelium to infection. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 501, 11-30.
- Bilrup-Jensen, S. (2001). Protein Standardization III: Method Optimazation Basic Principles for Quantitative Determination of Human Serum Proteins on Automated Instruments Based on Turbidimetry or Nephelometry. *Clinical Chemistry Laboratory Medecine*, 39(11), 59-63.
- Calixto, R., González, M.A., Bouchan, P., Paredes, L.Y., Vásquez Rodríguez, S., Cébulo Vázquez, A. (2011). Importancia clínica de la leche materna y transferencia de células inmunológicas al neonato. *Perinatología y Reproducción Humana*. 25(2), 109-114.

- Castillo Belén, J.R., Ramos Veranes A., Castillo Belén A., Rizo Rodríguez R. & Cádiz Lahens A. (2009). Lactancia materna e inmunidad. Impacto social. *MEDISAN*. 13(1), 15-20.
- Chaney, M. & Ross, M.L. (1971). *Nutrition*. Boston, Houghton Mifflin Company.
- Comite de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría (AEP). (2004). *Lactancia Materna: guía para profesionales*. Madrid: Arboleda.
- Cregan, M.D. & Hartman, P.E. (1999). Computerized breast measurement from conception to: clinical implications. *Journal Human Lactation*, 15(2), 89 – 96.
- Delgado Panta, A. (2011). *Organización para la implementación del banco de leche humana en el área de neonatología del hospital Rafael Rodríguez Zambrano de Manta” Marzo a Agosto del 2011*. (Tesis de Maestría) Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador.
- Díaz-Argüelles, V. (2005). Lactancia materna: evaluación nutricional en el recién nacido. *Cubana Pediátrica* 77(2), 39-48.
- Drogo Serrano, M.E. (2007). Lactoferrina: Producción industrial y aplicaciones. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. 38(3), 30-38.
- Englsh, A. (2010). ABM Protocolo clinico # 8 : Almacenamiento de leche humana. *Medicina de la lactancia materna*, 5(3), 115-119.
- Evans, T.J., Ryley, H.C., Neale, L.M., Dodge, J. A. & Lewarne V. M. (1978). Effect of storage and heat on antimicrobial proteins in human milk. *Archives of Disease in childhood*, 53,239-241.
- Eyres, R., Elliott, R. B., Howie, R. N. & Farmer, K. (1978). Low-temperature pasteurisation of human milk. *The New Zealand Medical Journal*, 87(606), 134-135
- Ford, J. E., Law, B. A., Marshall, V. E. S & Reiter, B. (1977) Influence of the heat treatment of human milk on some of its protective constituents. *The Journal Of Pediatrics (Sao Paulo)*, 23(3), 258-263.
- García Lara, N. R., García-Algar, O. & Pallás-Alonso, C.R. (2012). Sobre bancos de leche humana y lactancia. *Anales de Pediatría*, 76(5), 247-249.

- García-López, R. (2011). Composición e inmunología de la leche humana. *Acta Pediátrica de México*, 32(4), 223-230.
- Gavilanes Parra, S., Manjarrez Hernandez, A. & Cravioto, A. (2002). Inmunoprotección por leche humana. *Revista Mexicana de Pediatría*, 69(3), 111-119.
- Hahn-Zoric M., Carlsson B., Björkander J., Mellander L., Friman V, Padyukov L & Hanson LA. (1997). Variable increases of IgG and IgM antibodies in milk of IgA deficient women. *Pediatr Allergy Immuno*. 8, 127-133.
- Hanson, LA. (1999). *Human milk and host defence: immediate and long-term effects*. Estados Unidos: Editorial Asociativa AIEC.
- Hurley WL. & Theil PK. (2011). Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*. 3(4), 442-474.
- Ibañez, R. (2008). *Manual de Lactancia Materna De la teoría a la práctica*. Madrid, España: Médica Panamericana.
- Ingraham, J.L. & Ingraham, C.A. (1998). *Introducción a la microbiología*. España: Barcelona. Editorial, Reverté, S.A.
- Juárez Fernández, B. M. (2007) *Situación de la lactancia materna en el menor de dos años que asiste a los centros de atención integral (CAI) del área metropolitana de la secretaria de bienestar social de la presidencia*. (Tesis de licenciatura) Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Kent, J.C. (2007). How Breastfeeding Works. *Journal Midwifery Womens Health*. 52(6), 564-570.
- Koenig, A., Diniz, E., Correia, S.F. & Costa, F.A. (2005). Immunologic Factors in Human Milk: The Effects of Gestational Age and Pasteurization. *Journal Human Lactation*. 21(4), 439-443.
- Lawrence, R. (2003). *Lactancia materna. En: Lawrence RA. Curso de Medicina Naturista*. Barcelona: Mosby.

- Linares, M.S.L. (2013). *Concentración de inmunoglobulina A en muestras de leche materna durante las fases de procesamiento en el banco de leche humana del Hospital Nacional “Pedro de Bethancourt” de la Antigua Guatemala, Sacatepéquez*. (Tesis de licenciatura) Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Macías, S. M. (2006). Leche materna: composición y factores condicionantes de la lactancia. *Archivo Argentino de Pediatría*. 104(5), 423-430.
- Maury, E., Sequera, S., Sánchez, O., Bravo, A., Romero, M. & Vizcarra, M. (2010). Variaciones en la composición proteica de la leche materna madura durante el almacenamiento por congelación. *Pediátrica*, 37(3), 187-1994.
- Miranda, R., Hernández, M.B. & Cruz, Y. (2011). *Lactancia Materna*. Generalidades y Aplicación. Práctica en Pediatría. La Habana.
- Moreira, R. (2011). *Curso, procesamiento y “control de calidad de la leche humana”* (1ra ed.). Guatemala: Editorial Figueira.
- Muller C.A. (2005). Autenrieth IB, Peschel A. Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cell Mol Life Sci*, 62: 1297-307.
- Neville, M.C. & Morton, J. (2001). Physiology and Endocrine Changes Underlying Human Lactogenesis II. *Journal Nutrition*. 131(11), 3005-3008.
- Newburg DS. & Walker WA. (2007). Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. *Pediatric*; 61(1), 1-8.
- Organización Mundial de la Salud. (2010). Bancos de Leche. Recuperado de: [http://www.brasil.gov.br/sobre/programas-y-campanas/bancos-de-leche-1/br\\_video?set\\_language=es](http://www.brasil.gov.br/sobre/programas-y-campanas/bancos-de-leche-1/br_video?set_language=es), [17/11/2014].
- Ortíz, K., Moreira, R., Soto, M. y Arroyo, G. (2014). Determinación de Inmunoglobulina A en leche humana antes y después de pasteurizar. Antigua Guatemala, Sacatepéquez. (Artículo

Científico) Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.

Peaker, M., Wilde, C.J., & Knight, C.H. (1998). Local control of the mammary gland. *Biochemical Society symposium*. 63, 9-71.

Pittard, W. & Bill, K. (2011). Effect of Refrigeration on cellular components. *Journal of de Human Milk Banking*. 44106, 89-104.

Riveron Corteguera, R. (1995). Valor inmunológico de la leche materna [artículo en línea]. . *Cubana Pediatra*; 67 (2) <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75312005000200005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312005000200005)>, [18/04/2013].

Sabillon, F. & Abdu, B. ( 1997). Composición de la leche materna. *Honduras Pediátrica*, XVIII(4), 120-124.

Sager, G. (2007, Enero). Banco de leche humana pasteurizada. Lactancia y Pediatría La Plata. Argentina. Disponible en WWW: <http://lactanciaypediatrialaplata.blogspot.com/search/label/IBANCO%20DE%20LECHE%20HUMANA%20PASTEURIZADA>

Samayoa Calderón, L. M. (2008). *Conocimientos, apoyo patronal y actitud de las madres como factores determinantes para brindar lactancia materna*. (Tesis de Licenciatura) Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.

Saraswathy, C.P. and Jabanabai, G. (1990) A comparative study on the immunological properties of breast milk and cow's milk. *Ancient Science Life*. 9(4), 209-211

Saz P. (2003). *Composición y propiedades de la leche materna*. Curso de Medicina Naturista. Universidad de Zaragoza: España.

Scariati PD, Grummer-Strawn LM, Fein SB. (1977) A longitudinal analysis of infant morbidity and extent of breastfeeding in the United States. *Pediatrics*. 99(6), e5

- Schanler RJ, Hurst NM (2005). The use of human milk and breastfeeding in premature infants. *Clínica Perinatología* 26:379-98 pp.
- Soto Galindo M.A. (2008) Lactario en Hospitales de provincia. Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.
- Soto, M. & Moreira, R. (2007) Manual Técnico y Funciones del Banco de Leche Materna, Hospital Nacional Pedro de Bethancourt. Guatemala.
- Szöllosy, E., Marjai, E. & Lantos, J. (1974). Bacterial contamination and sparing heat treatment of mother's milk. *Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 21,319-325.
- Rocha, G. Orihuela, A. y Pozzo, M. (2009) Lactancia Materna. *Paceña de medicina familiar*. 6(9), 26-29.
- Wills, M. E., Han, V. E. M., Harris, D. A. & Baum, J. D. (1982). Short-time low-temperature pasteurisation of human milk. *Early Human Development*, 7(1), 71-80
- Xanthou, M., Bines J. & Walker, WA. (2005). *Human milk and intestinal host defences in newborns*. Estados Unidos: Editorial Pediátrico.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo 1.



#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



Seminario “Efectos de los puntos críticos del procesamiento de la leche humana sobre los valores de IgG e IgM, en el Banco de Leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala”

#### Datos Generales

No de muestra: \_\_\_\_\_

Volumen: \_\_\_\_\_

Fecha toma de muestra: \_\_\_\_\_

Fecha de Pasteurización: \_\_\_\_\_

Fecha de Despacho: \_\_\_\_\_

Acidez Dornic: \_\_\_\_\_

#### Resultados e iniciales de responsables

	Basal	PC 1	PC 2	PC 3
IgG				
IgM				

Observaciones:

---

---

---

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma del Responsable

## Anexo 2.

### Flujograma del procesamiento de leche humana en el Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

#### Recolección de leche humana a través de bombas succionadoras



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

#### Almacenamiento de leche humana



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

## Descongelamiento en baño maria de leche humana



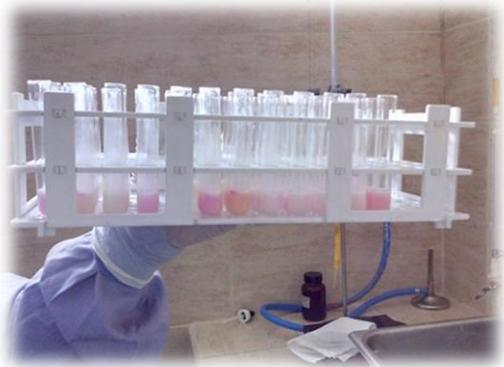
Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala

## Selección y Clasificación



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

## Determinación de Acidez Dornic de leche humana



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

## Determinación de Crematocrito de leche humana



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

## Pasteurización de leche humana a 62.5°C por 30 minutos



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala

## **Análisis microbiológico de leche humana**



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

## **Congelamiento de leche humana**



Fuente: Banco de leche del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, Antigua Guatemala.

María Gabriela Miss Mas

Autora

Silvia Pamela Lam Aguilar

Autora

MSc. Gerardo Arroyo Catalán

Asesor

Lic. Kevin Alexander Ortiz Barrientos

Co asesor

MA. Ana Margarita Paz

Revisora

MSc. Alba Marina Valdés de García

Directora de Escuela

PhD. Rubén Daríel Velásquez Miranda

Decano