



Trabajo Original

Epidemiología y dietética

Influencia del perfil de las donantes en la bacteriología pre- y postpasteurización de la leche humana donada

Influence of donor profile on pre and post-pasteurization bacteriology of donated human milk

Marta Padín Fontán, Montserrat Martín-Forero Maestre, Iván Rodríguez Otero, Cristina Durán Fernández Feijoo, María Suárez Albo, Ana Concheiro Guisán

Sección de Neonatología y Banco de Leche de Vigo (BLV). Hospital Álvaro Cunqueiro. Área Sanitaria de Vigo. Vigo, Pontevedra

Resumen

Introducción: la leche humana es el patrón oro en la nutrición de los neonatos. Por ello, los bancos de leche se convierten en elementos esenciales para garantizar su disponibilidad y seguridad cuando la leche materna no está disponible. La manipulación que se realiza de la leche es un punto crítico para asegurar la seguridad microbiológica de las muestras. Por ello, analizar la flora de la leche donada es fundamental para tomar medidas de mejora de los bancos de leche.

Objetivos: analizar los resultados microbiológicos positivos en un banco de leche humana entre las muestras de leche cruda donadas y tras su pasteurización y evaluar si existe relación entre los aislamientos, el perfil de la donante y los circuitos de leche donada.

Métodos: estudio observacional descriptivo que analiza las características de la leche donada y los resultados microbiológicos positivos de muestras de leche donadas en nuestro banco desde junio de 2016 hasta diciembre de 2020. Todas las donantes firmaron un consentimiento informado.

Resultados: durante el período de estudio fueron donados 1587 litros de leche cruda por 266 mujeres destacando que, a pesar de la pandemia, 2020 ha sido el año en el que más volumen se ha dispensado (280 L). Se obtuvieron 221 lotes de leche con al menos un aislamiento microbiológico positivo (14,2 % total), de ellos 149 previos y 46 posteriores a la pasteurización. La tasa de descarte pre y postpasteurización es variable a lo largo de los años con descenso en 2020 prepasteurización (3,9%) e incremento postpasteurización (5,3%). Los gérmenes más frecuentemente aislados fueron cocos grampositivos, seguidos por Enterobacterias prepasteurización detectándose un descenso en la positividad a *S. aureus* tras establecerse un protocolo de erradicación. En las muestras postpasteurización predomina el género *Bacillus*. Se ha encontrado una relación aunque no estadísticamente significativa ($p > 0,05$)

entre mujeres con mayor volumen de donación y/o ingreso de su hijo/a en Neonatología y una mayor frecuencia cultivos positivos.

Conclusiones: el análisis bacteriológico de las muestras es parte fundamental del control de calidad. Nuestros resultados traducen una buena sistemática de extracción y transporte, así como un buen entrenamiento de los profesionales del banco. No obstante, es necesario mejorar los procesos para reducir la tasa de contaminación y la cantidad de leche desechada.

Palabras clave:

Banco de leche. Donantes.
Perfil microbiológico.

Recibido: 03/01/2022 • Aceptado: 07/05/2022

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de interés.

Padín Fontán M, Martín-Forero Maestre M, Rodríguez Otero I, Durán Fernández Feijoo C, Suárez Albo M, Concheiro Guisán A. Influencia del perfil de las donantes en la bacteriología pre- y postpasteurización de la leche humana donada. *Nutr Hosp* 2022;39(5):1064-1067

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.04014>

Correspondencia:

Marta Padín Fontán. Sección de Neonatología y Banco de Leche de Vigo (BLV). Hospital Álvaro Cunqueiro. Estrada de Clara Campoamor, 341. 36312 Vigo, Pontevedra
e-mail: martapadin2@gmail.com

Abstract

Introduction: breastfeeding is the gold standard for infant's nutrition. Human milk bank is an essential tool to guarantee availability and safety in those situations when breastfeeding is not an option. The manipulation during the extraction of the human milk by the donors is a critical point to ensure an adequate microbiological safety. Therefore, knowing the bacterial flora that prevails in donated milk is essential to draw conclusions that can lead to taking measures in the management of the bank.

Objectives: to analyze the prevalence of microorganisms in milk samples donated to the milk bank and how the bacterial flora behaves according to the profile of the donors and the donor milk circuits.

Methods: the present work is a retrospective descriptive observational study that analyzes characteristics and the positive microbiological results within our milk bank samples from June 1, 2016 to December 31, 2020. All milk bank donors voluntarily signed an informed consent that authorizes the use of data to investigation.

Results: during the study period, a total of 1,587 liters of raw milk were donated by 266 women, highlighting that, despite the SARS-CoV-2 virus pandemic, 2020 has been the year in which more volume of milk has been dispensed. The results show that 221 batches had at least one positive microbiological isolation (149 of them were before and 46 after pasteurization). Pre and post-pasteurization rate varies over the years with a decrease in the pre-pasteurization discard rate (3,9%) and increase in the post-pasteurization rate (5,3%). The most frequently isolated germs found in pre-pasteurization cultures were gram positive cocci and Enterobacter and a decrease in the positivity to *S. aureus* after establishing an eradication protocol. In post-pasteurization cultures, the most commonly found germs are *Bacillus*. Regarding the donor's profile, it was found a non statistically significant that those women with the highest donation volume and/or admission of their offspring in Neonatology were associated with higher frequency of positive cultures.

Conclusions: bacteriological analysis of milk samples is an essential part of quality control for a milk bank. Our results reflect a good extraction system and transportation, as well as good training from the bank's professionals. Nevertheless, improvement of processes is necessary to reduce the rate of contamination and the amount of discarded milk.

Keywords:

Milk bank. Donors.
Microbiological profile.

INTRODUCCIÓN

La lactancia materna (LM) es el método *gold standard* para la nutrición del recién nacido. Así, tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la Academia Americana de Pediatría (AAP) se reafirman en su recomendación del uso de la LM como método de alimentación exclusivo durante los seis primeros meses de vida, iniciando entonces la alimentación complementaria, manteniendo la LM como una fuente nutricional fundamental y poniéndole fin siempre que el lactante y la madre así lo deseen (1). Por ello, los bancos de leche se convierten en elementos esenciales para garantizar su disponibilidad y seguridad cuando la leche de la propia madre no está disponible. Esta afirmación cobra especial relevancia en aquellos neonatos con riesgo de enterocolitis necrotizante (2), fundamentalmente, pacientes prematuros menores de 32 semanas y/o de peso menor de 1.500 g y aquellos intervenidos de cirugía abdominal o cardiopatías congénitas de manera precoz.

Además, la OMS establece desde 2005 que, "cuando no se disponga de la leche de la propia madre, la siguiente opción para la alimentación del niño es la leche pasteurizada de madres donantes seleccionadas, sobre todo si se trata de niños enfermos o prematuros" (3).

En España, en 2001 aparece el primer banco de leche, establecido en Palma de Mallorca, y en el año 2008 se crea la Asociación Española de Bancos de Leche Humana (AEBLH) con la finalidad de promover la LM y la colaboración entre los distintos bancos de leche humana.

En el Hospital Álvaro Cunqueiro, la actividad del banco de leche se inicia en junio de 2016, convirtiéndose así en el noveno a nivel nacional y siendo, además, la referencia para las provincias de Pontevedra y Ourense.

Si bien en el momento actual todavía no existe legislación en Europa que regule la donación de leche humana (4), existen di-

versos grupos de expertos que se reúnen para desarrollar una serie de recomendaciones con el objetivo de ser el órgano de referencia para la creación y el funcionamiento de los bancos de leche materna en Europa a través de la European Milk Bank Association (EMBA) (5,6).

No obstante, cada banco de leche ha de elaborar sus propios protocolos de trabajo en base a estos consensos internacionales y a la evidencia científica disponible, buscando como objetivos principales garantizar la disponibilidad de una cantidad de leche suficiente para sus potenciales receptores y asegurar un óptimo control de calidad que garantice un perfil microbiológico seguro y una alta calidad de la leche desde el punto de vista nutricional.

El proceso de selección de las donantes se lleva a cabo mediante una entrevista de idoneidad, así como un cuestionario de salud general. Además, se deben realizar estudios serológicos de las donantes de forma sistemática. Es necesario explicar a las nuevas donantes los procedimientos de lavado de manos e higiene local del pecho, así como las técnicas de extracción de leche manual o mediante extractor eléctrico (siendo en este caso válidos los extractores propios de la donante y los prestados por el banco), así como los procesos de almacenamiento (refrigeración y congelación), etiquetado y transporte de la LM.

La leche congelada es custodiada en el banco de leche y procesada en un tiempo que, idealmente, es inferior a tres semanas. Además, se debe realizar una descongelación controlada al baño maría evitando que la leche supere los 8 °C.

Los controles de calidad del banco de leche son llevados a cabo por personal experto de una manera sistemática y metódica. Así, tras la descongelación, se realiza una prueba de acidez Dornic (7,8) previa obtención de 4 ml de cada lote, llevando a cabo posteriormente una serie de controles microbiológicos pre-pasteurización fundamentales, sobre todo en aquellas muestras de madres donantes en las que exista algún cultivo positivo para *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). En este caso, se lleva a cabo

una búsqueda del estado de portador nasal para lograr la erradicación de dicho germen. Una vez demostrada la seguridad microbiológica inicial, se lleva a cabo la pasteurización de la leche donada mediante el método Holder (9). Se analizará, además, el contenido de proteínas y, si es posible, de otros micronutrientes y macronutrientes. Finalmente, es necesario realizar un nuevo análisis microbiológico de cada lote de leche tras la pasteurización y se deben desechar aquellos lotes con un contenido microbiológico que no garantice su seguridad.

Los objetivos del presente trabajo son: a) analizar los resultados microbiológicos positivos en un banco de leche humana entre las muestras de leche cruda donadas y tras su pasteurización; y b) evaluar si existe relación entre los aislamientos identificados con el perfil de la donante y los circuitos de leche donada.

POBLACIÓN Y MÉTODOS

Este es un estudio observacional descriptivo retrospectivo que analiza las características de la leche donada y los resultados microbiológicos positivos de muestras de leche donadas en nuestro banco desde el 1 de junio de 2016 hasta el 31 de diciembre de 2020. Todas las donantes firmaron un consentimiento informado que autoriza el uso de muestras para investigación.

Para la elaboración de este trabajo se analizaron todos los lotes elaborados en el Banco de Leche de Vigo (BLV) en el periodo de estudio y se recogieron los datos microbiológicos de todas las muestras que habían obtenido un resultado positivo en cultivos prepasteurización o postpasteurización a partir del análisis de los lotes.

Además, se utilizó el programa estadístico SPSS 22 para realizar los análisis de estadística descriptiva y los test de Chi-cuadrado y t de Student para analizar la diferencia de frecuencias en tabla de contingencia y de medias, respectivamente, entre las mujeres con mayor número de muestras contaminadas frente al resto, en cuanto a las variables "hijo/a ingresado en Neonatología" y "volumen total de leche donada".

RESULTADOS

En el periodo de estudio, donaron leche materna 266 mujeres, que entregaron un total de 1.587 litros de leche cruda. Así, se procesaron 1.487 lotes de leche cruda donada y se dividieron los litros de leche cruda donada que fue aceptada tras ser recogida en el BLV (descartando en un primer momento las muestras en las que se percibían malas condiciones del envase, características organolépticas inadecuadas, etc.).

La distribución anual de los lotes se muestra en la tabla I. Así, cabe destacar que, a pesar de la pandemia SARS-CoV-2, en 2020 se objetiva un incremento de leche donada, así como de leche procesada en nuestro banco de leche (30 litros más, un 11,9 % más respecto al año previo). Además, 2020 es el año en que se ha repartido un mayor volumen de leche.

Se han obtenido 221 lotes de leche donada con al menos un aislamiento microbiológico positivo (14,2 %); de ellos, 149 eran previos y 46 eran posteriores a la pasteurización. En cuanto a la tasa de descarte prepasteurización y postpasteurización en función de los litros descartados por aislamiento microbiológico, es variable a lo largo de los años, con un descenso entre 2019 y 2020 del descarte prepasteurización (3,7 %) tras la modificación del protocolo y un incremento postpasteurización (5,3 %).

En el análisis microbiológico prepasteurización, se obtuvieron 254 aislamientos bacterianos entre los 149 lotes en los que se obtuvo un cultivo con resultado positivo, puesto que en algunos de los cultivos se halló un recuento polimicrobiano. Los grampositivos suponen el 59,4 % del total de aislamientos obtenidos. Los gérmenes coagulasa-negativo suponen el 34,2 % del total y representan el germen más frecuentemente aislado en los cultivos prepasteurización. El *S. aureus* supuso un 12,5 % del total de aislamientos.

En el análisis microbiológico postpasteurización, se obtuvieron 46 aislamientos bacterianos positivos de los 1.528 lotes en los que se realizó cultivo postpasteurización. El género *Bacillus* supone el 73,9 % del total de aislamientos obtenidos y es el *Bacillus cereus* la especie más frecuentemente aislada.

Tabla I. Distribución anual de leche donada

Indicador/año	2016	2017	2018	2019	2020
Volumen donado	120	370	415	379	403
Volumen pasteurizado	115	318	376	313	365
Volumen dispensado	111	227	267	252	280
Volumen descartado Prepasteurización (%)	4,8 (4 %)	37 (10 %)	93 (23 %)	29,4 (7,7 %)	20,1 (4,9 %)
Volumen descartado Postpasteurización (%)	3,7 (3,3 %)	13,8 (4,3 %)	9,5 (2,3 %)	14 (4,4 %)	26,7 (7,3 %)

De un total de 266 mujeres donantes en el periodo de estudio, menos de un 25 % tuvo algún cultivo positivo durante su periodo de donación (n = 65). No obstante, la lectura destacada es que un 75,5 % de las mujeres donantes (n = 201) no tuvieron ningún cultivo positivo durante el periodo de estudio.

De nuestras donantes, 38 tuvieron a su hijo/a ingresado en la Unidad Neonatal. Además, dentro del grupo de donantes con al menos un cultivo positivo, el 23 % (n = 15) tenía a su hijo/a ingresado en la Unidad Neonatal durante el periodo de donación. El motivo del ingreso mayoritario en los neonatos hijos de estas donantes era la prematuridad. Un 26,6 % de estos neonatos ingresados fueron, además, receptores de leche de banco (n = 4). Todas estas madres han mantenido su donación al banco de leche por un periodo de tiempo superior al ingreso de sus hijos.

Si establecemos grupos comparativos, un 7,6 % (n = 15) de mujeres con al menos un cultivo positivo tuvieron a su hijo/a ingresado frente a un 11,4 % (n = 23) sin ningún cultivo positivo, sin que se evidencien diferencias entre la bacteriología aislada. Aplicando la tabla de contingencia y el estadístico de Chi-cuadrado, se objetiva una diferencia no estadísticamente significativa ($p > 0,05$) en cuanto a un mayor porcentaje de madres con hijos ingresados en la Unidad de Neonatología en donantes con lotes con aislamiento microbiológico positivo frente a aquellas sin dichos aislamientos.

DISCUSIÓN

La manipulación que realizan tanto las donantes como el personal de los bancos de la leche donada es un punto crítico para asegurar su seguridad microbiológica. Por tanto, conocer la flora que predomina en la leche donada es fundamental para tomar medidas que puedan mejorar la educación de las donantes en este proceso, así como los procedimientos técnicos que se lleven a cabo en el banco de leche.

El control de calidad y los procesos técnicos en los bancos de leche son así puntos fundamentales para garantizar la seguridad de los receptores, jugando el análisis microbiológico un papel esencial.

El BLV utiliza un sistema mixto donde se combina la medición de acidez en grados Dornic y el empleo de cultivos prepasteurización según criterios determinados junto con cultivos pospasteurización.

Además, se ha detectado una tasa de cultivos positivos postpasteurización del 5,3 %, es decir, inferior a la tasa general descrita en otros estudios (10), siendo la gran mayoría de microorganismos aislados *Bacillus cereus*. Esto demuestra la eficacia de la pasteurización mediante el método Holder, ya que las toxinas de este microorganismo son termorresistentes.

Casi el 80 % de las donantes no ha tenido nunca un resultado de cultivo positivo, lo cual implica, en general, una buena sistemática de extracción y transporte por parte de las donantes y un buen entrenamiento en los procesos de asepsia por parte de los profesionales del banco de leche.

Aunque el ingreso o no del hijo/a de la donante en la Unidad de Neonatología no implique un cambio en el tipo de flora bacteriana detectada en la leche, sí podría implicar un mayor descuido de las medidas de higiene en probable relación al estrés, la falta de tiempo y los continuos desplazamientos al hospital, convirtiéndose de esta forma en una posible diana de refuerzo del proceso educativo en medidas de asepsia para reducir el número de pérdidas de leche.

BIBLIOGRAFÍA

- Gartner LM, Morton J, Lawrence RA, Naylor AJ, O'Hare D, Schanler RJ, et al.; American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 2005;115(2):496-506.
- Boyd CA, Quigley MA, Brocklehurst P. Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007;92(3):F169-75.
- Infant and young child nutrition. Global strategy on infant and young child feeding. *LV World Health Assembly*; 2002.
- Moro GE. History of milk banking: from origin to present time. *Breastfeed Med* 2018;13(S1):S16-S7.
- Calvo J, García Lara NR, Gormaz M, Peña M, Martínez Lorenzo MJ, Ortiz Murillo P, et al. Recomendaciones para la creación y el funcionamiento de los bancos de leche materna en España. *An Pediatr* 2018;89(1):65.e1-e6.
- Weaver G, Bertino E, Gebauer C, Grovslie A, Mileusnic-Milenovic R, Arslanoglu S, et al. Recommendations for the establishment and operation of human milk banks in Europe: a consensus statement from the European Milk Bank Association (EMBA). *Front Pediatr* 2019;7:53.
- Novak FR, Cordeiro DM. The correlation between aerobic mesophilic microorganism counts and Dornic acidity in expressed human breastmilk. *J Pediatr (Rio J)* 2007;83(1):87-91.
- Vázquez-Román S, García-Lara NR, Escuder-Vieco D, Chaves-Sánchez F, De la Cruz-Bertolo J, Pallas-Alonso CR. Determination of Dornic acidity as a method to select donor milk in a milk bank. *Breastfeed Med* 2013;8(1):99-104.
- Peila C, Moro GE, Bertino E, Cavallarín L, Giribaldi M, Giuliani F, et al. The effect of holder pasteurization on nutrients and biologically-active components in donor human milk: a review. *Nutrients* 2016;8(8):477.
- Landers S, Updegrave K. Bacteriological screening of donor human milk before and after Holder pasteurization. *Breastfeed Med* 2010;5(3):117-21.