

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

“PROPIEDADES PROTECTORAS DEL CALOSTRO HUMANO”

(Disminución de la contaminación bacteriana
por calostro humano en el almacenaje de
leche humana madura, a temperatura ambiente
y 4 grados centígrados).

**MARZO - JUNIO
1985**

REMBERTO CANTORAL CHAVEZ

PLAN DE TESIS

Página

1.	INTRODUCCION	1
2.	DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA	3
3.	JUSTIFICACION	5
4.	OBJETIVOS	7
5.	METODOLOGIA	9
6.	REVISION DE LITERATURA	11
7.	PRESENTACION DE RESULTADOS	23
8.	ANALISIS DE RESULTADOS	31
9.	CONCLUSIONES	33
10.	RECOMENDACIONES	35
11.	RESUMEN	37
12.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	39
13.	ANEXOS.	47

INTRODUCCION

La contaminación bacteriana de leche humana madura donada es el mayor problema de bancos de leche (14,18,48,69). Si tomamos en cuenta las ventajas de la misma sobre la lactancia artificial y el efecto que tienen los diferentes tratamientos (refrigeración, pasteurización, etc.) sobre los factores específicos y no específicos. Teniendo el presente trabajo como objetivos determinar la variación existente en conteos bacterianos totales de leche humana madura sola y combinada con calostro en varias diluciones: 10 y 20o/o del mismo con 90 y 80o/o de leche madura, comparando este conteo en cultivo a temperatura ambiente y refrigeración.

Para el efecto se obtuvieron 30 muestras de leche madura y 30 muestras de calostro, madres jóvenes donantes del lactario de la Unidad de Neonatología del Hospital General San Juan de Dios, determinando conteos bacterianos totales a las 24 y 48 horas de obtención del seno materno cultivadas a temperatura ambiente y temperatura de refrigeración; realizando un análisis vectorial de los resultados para darle significancia estadística y diferencias entre tipos de tratamiento, temperatura y tiempos así como diluciones.

La importancia radica en establecer el resultado de agregar calostro a leche madura al almacenar y cuál es la temperatura más adecuada, así también como el tiempo. Comprobándose que no es adecuado agregar calostro a leche humana madura y que aunque sea la refrigeración lo mas adecuado al almacenar, no hay significativa variación estadística y el conteo al medio ambiente a las 24 horas de obtención; esto al comparar los resultados obtenidos por Lange (42).

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

Se trató de determinar el efecto que tiene el calostro humano para disminuir el crecimiento bacteriano de la leche humana madura (LHM) y demostrar que la misma no necesita refrigeración ni otro tipo de tratamiento antes de ser utilizada durante las primeras 24 horas que siguen a su obtención del seno materno.

Se obtuvieron 30 muestras de calostro (C) y 30 muestras de LHM de madres jóvenes 20 a 25 años de edad de los servicios de post-parto y niño sano del Hospital General San Juan de Dios (HGSJD), de Mayo a Junio 1985, el calostro de 1 a 5 días post-parto y la leche humana madura del décimo día de lactancia en adelante. Se hicieron 360 cultivos de LHM más C en tres diluciones, dos tiempos y dos tipos de tratamiento, (ver adelante).

JUSTIFICACION

En países subdesarrollados como el nuestro las enfermedades gastrointestinales y respiratorias ligadas a una mala nutrición son responsables principales de las altas tasas de mormibortalidad en los primeros años de vida.

La lactancia materna entre sus muchas bondades provee al lactante de un adecuado y natural aporte nutricional a la par que le protege contra una gran cantidad de agentes infecciosos (13, 19, 22).

La utilidad que se ha hecho en los últimos años de la LHM en la alimentación del recién nacido en servicios de neonatología ha ido aumentando, estableciéndose bancos de leche y lactarios; la conservación de los factores inmunológicos de LHM sin ningún tratamiento a temperatura ambiente sin peligro de contaminación bacteriana durante las primeras 24 a 48 horas de haber sido obtenida no ha sido estudiada; aunque es cierto que tampoco han sido reportadas epidemias por el uso de LHM en nuestro lactario -HGSJD-, tampoco se ha evitado el agregar pequeñas cantidades de calostro a LHM sin estimar efectos protectores o adversos del mismo y sin establecer la dilución adecuada para una mayor protección.

OBJETIVOS

- *Determinar la contaminación bacteriana de la LHM y C a las 24 y 48 horas, comparando el efecto de la incubación a temperatura ambiente y a cuatro grados centígrados.*
- *Determinar variaciones en el conteo bacteriano de LHM más calostro en tres diluciones: Leche humana madura sola, LHM más calostro, 90o/o y 10o/o y 80o/o y 20o/o respectivamente.*

METODOLOGIA

Se tomaron un grupo de madres jóvenes, 30 para obtener LHM y 30 para obtener calostro, este de madres lactantes uno a cuatro días post-parto y LHM del onceavo día de lactancia en adelante, no se tomaron madres del quinto al décimo día de lactancia por considerar esta como leche de transición. La edad comprendida fué de 20 a 25 años. Ambos grupos del lactario de la Unidad de Neonatología del HGSJD durante el período comprendido los meses de Mayo a Junio de 1985. Se tomó en cuenta que el parto haya sido eutócico simple, bebé a término y no haber recibido inducción del mismo, así como ausencia de lesiones de mama como: fisuras, mastitis; antecedentes de antibióticos o fiebre materna.

Las variables a determinar: — Conteo bacteriano total de: Leche humana sola, leche humana más calostro en dos grupos LHM y C 90 y 10o/o y LHM y C 80 y 20o/o respectivamente. Dos tipos de temperatura: ambiente (más o menos 20 grados centígrados) y refrigeración (4 a 6 grados centígrados). Dos tiempos: 24 y 48 horas de obtención del seno materno.

La toma de muestras se realizó siguiendo los parámetros establecidos para la recolección de leche en el lactario del HGSJD(64).

Se obtuvieron 10.8 cc de LHM y 1.2 cc de C realizando en 6 tubos de ensayo de plástico las siguientes diluciones:

- 2 con 2 cc de LHM sola
- 2 con LHM y C 90 y 10o/o respectivamente. (1.8 y .2ml LHM más C)
- 2 con LHM y C 80 y 20o/o respectivamente. (1.6 y .4 ml LHM más C)

De estos: uno de cada dilución se incubó al medio ambiente y otro a refrigeración, (aproximadamente 20 y 4 grados centígrados respectivamente). Habiéndose realizado siembras de los 6 especímenes a las 24 horas y 48 horas de incubación en Plate Cout Agar con adición de 5o/o de sangre de carnero desfibrinada; en Laboratorio Clínico

Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas, Edificio "O" de la Ciudad Universitaria zona 12.

Se recolecto estos conteos tabulándose hasta obtener del análisis factorial, el estadístico *F* calculado y teórico para luego el respectivo plantamiento de conclusiones.

REVISION BIBLIOGRAFICA

En los últimos tiempos el uso de LHM ha ido perdiendo popularidad. En Chile la tasa de alimentación al pecho bajó de 90o/o de los niños que eran alimentados así por 12 meses o más a 6o/o en la década de los sesenta (67). Pero en la última década en EEUU, Martínez, G.A. & Dodd, A.D., reportan que el porcentaje de lactantes alimentados al pecho aumentó significativamente; aproximadamente en 1971 los lactantes menores de 2 meses constituían un 13.9o/o, de 3 a 4 meses 8.2o/o y de 5 a 6 meses 5.5o/o; en 1981, los menores de 2 meses alimentados con LHM fué de 44.2o/o, 3 a 4 meses de 35.2o/o, 5 a 6 meses 26.8o/o, hasta 9o/o al año de vida (49).

Estudios realizados en Guatemala en 1981 reportan que un 95o/o y 88o/o de madres del área rural y urbana pobre alimentaban a sus hijos al pecho en el primer mes de vida; al año este porcentaje era de un 82o/o y 23o/o; a los 18 meses de un 61o/o y 29o/o respectivamente (78).

La importancia que la LHM tiene en la alimentación del niño ha sido estudiada desde hace algún tiempo en nuestro medio (13, 12, 52), aunque estos estudios han demostrado factores que dan protección al niño esto ha sido *in vitro*. La diferencia de los niños alimentados con fórmula si se ha podido ver (5); en grupos de nivel socio-económico bajo se benefician más con LH, por la disminución de problemas gastrointestinales y respiratorios (10). Esto de menor importancia en grupos que tienen mayor acceso a niveles de atención médica. Aunque se mencione que los niños amamantados sufren menos enfermedades infecciosas que los alimentados por medios artificiales y que no solo poseen resistencia contra desórdenes gastrointestinales, sino también contra infecciones agudas y crónicas (52), esto no ha podido ser comprobado.

La presente revisión bibliográfica se realizó con un estudio de la última década en lo que se refiere a composición, factores de defensa, aspectos bacteriológicos y alteraciones con los diferentes tratamientos

para su almacenaje.

COMPOSICION

La producción del seno materno en los primeros cinco días consiste en una secreción amarillenta clara denominada calostro, el cual se diferencia de la leche madura, posterior a este período de tiempo por su alto contenido protéico, bajo de grasa y lactosa (28). Período de transición se denomina a la leche obtenida entre el 5to. y el 10mo. de lactancia, posterior a este se denomina leche humana madura.

La LHM consiste en una emulsión de grasa y una dispersión coloidal de proteínas, junto con la lactosa en disolución verdadera (42), conteniendo elevado número de leucocitos viables (24); minerales: Ca y P, vitaminas (38); diferentes factores inmunológicos descritos posteriormente; algunos compuestos orgánicos también están presentes. El color opaco, lechoso es debido principalmente a la dispersión de sus proteínas y de las sales de calcio (42).

La proteína existente es de alta calidad por su relación lactalbúmina/caseína, lo que permite la formación de un cuajo blando más floculento. Los elevados niveles de cistina ayudan en la deficiencia del recién nacido en convertir metionina en cistina. La relación metionina/cistina es baja con elevados de cistina y bajos de metionina; los niveles de fenilalanina y tirosina son más bajos que en la leche de vaca (32).

La grasa de LHM consiste en ácidos grasos de cadena larga insaturados y poliinsaturados, en la de vaca los saturados predominan (33). Contiene una lipasa, capaz de digerir la grasa así como aumentar su absorción (36). Los lactantes alimentados con LHM pierden menos grasas por las heces, en contraste con aquellos que lo son con leche de vaca.

La relación Ca:P de la LHM es ideal para una mejor absorción del calcio 2:1. La de vaca es de 1.3:1 dándole niveles de fosfatos elevados, pudiendo ser la respuesta a la hipocalcemia que se observa des-

pués de varios días de alimentación con leche de vaca, así como de la absorción deficiente de calcio (28).

El contenido de carbohidratos es a expensas de la lactosa 70/o vs. 4.80/o de la de vaca. El valor calórico total es de 67 kcal/100 ml, similar a la leche de vaca y fórmula comercial.

La leche humana madura tiene menos sodio y potasio que la de vaca 7 y 13 meq/lt para la LH de Na y K respectivamente y 20 y 35 meq/lt de Na y K para la de vaca. Variaciones que pueden darse con la evolución de la lactancia en los valores del sodio estudiados recientemente (35), encontrándose en los primeros dos días una media de 19.8 meq/lt, 4to día de 18 meq/lt 5to día 16.3 meq/lt, 8vo al 13avo día 13.1 meq/lt, 5ta semana 8.5 meq/lt, 9na semana 6.2 meq/lt, 17ava semana 5.7 meq/lt permaneciendo estables hasta la 25 semana.

La media total de folatos encontrada por Tamura, T. y col., fué de 141 mg/ml con un rango de 62 a 280, el 40o/o folato libre (72).

Aunque la LHM tiene niveles adecuados de vitaminas para recién nacidos a término, estos pueden no ser adecuados para el lactante prematuro; es pobre en vitamina D, pero adecuada para prevenir raquitismo (41). Es deficiente también en vitamina K por lo que debe suplementarse rutinariamente tanto en alimentación a pecho como biberón (28). El ácido ascórbico disminuye en la LHM después de 24 horas de almacenaje, aproximadamente 40o/o después de calentar por 8 minutos (47).

La concentración de hierro es menor de 0.5 mg/lt y la absorción 40 veces mayor que el suplemento, comparándole con solo el 4o/o de la de vaca. Esta variabilidad ha dado discusión al momento de agregar suplemento de Fe en infantes, recomendación para el momento de empezar sólidos en la dieta porque la actividad bactericida de la lactoferrina sobre E. coli es bloqueada por la adición de Fe (75).

Fransson & Lönnnerdal estudiaron las variaciones que sufre el Fe

con el progreso de la lactancia; encontrando en madres de tres días a 19 meses post-parto una variación de 0.26 a 0.73 microgramos/ml (21).

La forma como el aspecto socio-económico afecta la composición se ha estudiado; según Lönnerdal B. y col., quienes compararon el contenido protéico en un grupo de madres jóvenes pobres de Etiopía con uno del nivel privilegiado de Suecia, no encontrando variaciones en los dos grupos (47).

La LHM varía su composición con el progreso de la lactancia. Lauber y Reinhart estudiaron esta en una comunidad rural, encontrando que el contenido protéico decrece aproximadamente 30% durante los primeros siete meses, Fe, Cu Zn, también decrecen durante la lactancia. Una elevación de ácido mirístico y caída de ácido oleico, lípidos totales 25% más bajo pero elevados niveles de ácido mirístico y láurico (4).

FACTORES DE DEFENSA DE LA LECHE HUMANA:

La LHM da al lactante protección específica e inespecífica como se describirá más adelante.

En Guatemala, informes realizados en niños de Santa María Cauqué por Mata y col., desde las primeras horas de vida hasta que cumplieran dos años, reportan que la inmensa mayoría de ellos eran criados al pecho; en estos niños alimentados exclusivamente de LHM, el aislamiento de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal fue escaso; los cataminados por sus madres en el momento de nacer y durante los primeros días subsiguientes al parto, se observó que estos microorganismos desaparecieron rápidamente una vez normalizada la lactancia (50).

Buller y Willis destacan la presencia de un factor de crecimiento para lactobacilos bífidos en LHM(5), el lactante alimentado así es colonizado rápidamente por estos mientras que con otra alimentación

la flora intestinal es mixta (75). El alto contenido de lactosa, bajo contenido protéico, baja capacidad buffer y producción de ácido acético por los fermentos de lactosa favorecen esta colonización (5).

La lisozima en concentraciones de 0.29 a 0.39 mg/ml; 300 veces más abundante en LHM que en leche de vaca encontrada por Goldman & Smith, Wels & May (24,75). El efecto antiinfeccioso se debe a la capacidad de destruir los pectodoglicanos presentes en las paredes celulares de las bacterias gram positivas y enterobacterias; además que la lisis bacteriana producida por IgA no ocurre en ausencia de lisozima.

Se mencionan niveles de lactoferrina en LHM de 1 a 6 mg/ml (75), mencionando que la capacidad para inhibir E. coli depende de la presencia de enteroquelina, la cual quela Fe pero en presencia de bicarbonato y anticuerpos, ejerce efecto bacteriostático, probablemente por deformación en el RNA de transferencia (75).

El sistema de lactoperoxidasa le confiere actividad antimicrobiana, aunque los niveles en leche de vaca sean 20 veces mayores, la humana es más estable al tratamiento con el jugo gástrico, mostrando actividad in vitro contra estreptococo, pseudomonas, E. coli y S. Typhmurin. Esta actividad es mayor en la saliva que en la leche (24).

Chandra, RK. concluye al estudiar los aspectos inmunológicos de la LHM que solo los constituyentes celulares e inmunológicos son los responsables de la disminución de incidencia de infecciones, particularmente gastrointestinales y respiratorias, desórdenes alérgicos, enterocolitis necrotizante y muerte súbita del infante (10).

La población de leucocitos presente en la LHM está constituido por 80-90% de macrófagos (62), macrófagos espumosos, polimorfonucleares, linfocitos T y B, ocasionalmente células epiteliales. Murillo y Goldam observaron capacidad en las células del calostro de producir IgA y B1c (54). El macrófago de la LHM es similar en sus funciones al tisular, capaz de fagocitar, destruir bacterias hongos así como sintetizar proteínas inflamatorias, modular actividad mitogénica

postexposición a un antígeno, secreción de lisozima, C_3 y C_4 (11) y liberación de IgA en cultivo de tejido.

El macrófago sintetiza en la LHM niveles elevados de proteína, prostaglandinas E_2 hacia el medio extracelular y además activa fagocitosis según estudios realizados por Blan, H., y col, quienes concluyen que la fagocitosis y las secreciones de los macrófagos de LHM e se ve alterada de acuerdo al medio existente puesto que diversos estímulos variaban la concentración de los componentes mencionados (6).

Recientes estudios sugieren que la actividad de los leucocitos de la LHM podría verse restringida por sustancias existentes en el mismo calostro, por cuanto su actividad es menor que los leucocitos sanguíneos *in vitro* (59,60,61).

Se ha especulado que las células del calostro parecen tener funciones antivirales, basados en los siguientes mecanismos: A. Secreción de Interferón. B. Fagocitosis indirecta. C. Producción de IgA específica. Hay sin embargo muy poca evidencia directa que demuestre que la infección viral *in vitro* sea controlada por las células de la leche, por alguno de estos mecanismos (75).

Como otras secreciones: saliva, lágrimas, la LHM contiene niveles significativos de inmunoglobulinas, donde predomina JgA secretoria, con poca cantidad de IgG e IgM; siendo el calostro el más rico en ellas. La IgA presente difiere de la sérica por ser un dímero que incluye dos cadenas polipeptídicas suplementarias con el constituyente secretor (CS) y la cadena de unión (J) que le confiere propiedades antigénicas especiales así como resistencia a cambios de pH y lisis por enzimas pancreáticas (75).

Hanson (34) menciona que la relación de anticuerpos de leche/ anticuerpos séricos se halla más elevada en el caso de IgA. lo que lleva a suponer una producción local. Tomasi (73), encontró que menos del 100/o de la IgA de la leche es de tipo sérico. Los anticuerpos

cumplen función contra enterobacterias, *E. coli* enteropatógeno y toxigénico (13); shigella, salmonella, *V. cólera* (31); rotavirus (69,71); infecciones por virus sincitial respiratorio (15), botulismo (1).

Estimulados por la presencia de virus los linfocitos de la leche podrían producir interferon (34). Los lípidos presentes se ha visto que pueden reducir *in vitro* e *in vivo* alfavirus, flavivirus y herpes simple (70); sugiriendo la disrupción de su cubierta viral según lo ha demostrado la microscopía electrónica como mecanismo de acción. Kabara y col., mencionan que puede haber relación entre la actividad de la lipasa y la actividad de la LHM (40). Actividad antirotavirus ha sido reportada por diferentes investigadores (69,71).

La prevalencia en la LHM de los 9 factores del complemento ha sido demostrada (57). Mata y col, encontraron valores de C_3 en calostro de uno a cuatro días post-parto de 0.044 mg/dl y que estos disminuían en cuanto progresaba la lactancia en un intervalo de 0 a 0.028 a la tercera semana post-parto (52).

La capacidad hemolítica del complemento en calostro reportada por Baba (57) fué del rango de 0.03 a 70/o de la encontrada en el suero humano.

La forma como bajan los niveles de complemento con el progreso de la lactancia estudiada por inmunodifusión radial (56) según Mc Clelland, D.B.L., y col, reportando que las concentraciones de C_3 en LHM fueron iguales a las concentraciones séricas solo en muestras tempranas, siendo indetectables posterior al sexto día, en tanto que C_4 baja pero permanece detectable durante un mes.

CONSERVACION DE LECHE HUMANA:

El tratamiento de la LHM para almacenarla y poder utilizarla posteriormente ha hecho que se lleven cambios en su composición bioquímica. Lo que se ha tratado es conservar en lo posible este contenido por sus efectos beneficiosos sobre el recién nacido tanto normal como

de alto riesgo, siendo un factor limitante la contaminación, pudiendo ser dañina (14,18,48).

Björkstén B., y col., compararon los efectos de la pasteurización, refrigeración y congelación junto con un reporte de crecimiento bacteriano durante su almacenamiento a diferentes temperaturas; habiendo evidenciado que la pasteurización no solo elimina bacterias patógenas sino también daña los constituyentes antimicrobianos, siendo la leche más susceptible a contaminación. Las células viables de la leche son destruidas aún por poco calor, sufriendo sustancial disminución la actividad de lactoferrina, lisozima e IgA a 62.5 grados centígrados (g C), (7).

Gaffin, S.O., y col., reportan que al tratar la leche con calor produce: tratándole bajo 40 a 60 g C leve porcentaje de pérdida de la actividad anticuerpo antitoxinas de bacterias gram-negativas; pero estos ocurren en 80o/o si está bajo 80 g C por 5 minutos o bajo 90 g C por 2 minutos (22).

Calentando la leche por corto tiempo y bajas temperaturas de calor produce: tratándole bajo 40 a 60 g C leve porcentaje de pérdida de la actividad anticuerpo antitoxinas de bacterias gram-negativas; pero esos ocurren en 80o/o si está bajo 80 g C por 5 minutos o bajo 90 g C por 2 minutos (22).

Calentando la leche por corto tiempo y bajas temperaturas de calor se preserva más sustancialmente la actividad de proteínas antimicrobianas presente (77), estos autores establecen que calentando la LHM a 62.5 g C por 5 minutos se destruyeron completamente: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus B-hemolíticos* del grupo B y calentándole a 56 g C por 15 minutos destruye el 99o/o de los organismos (77).

Liebhaber, M., y col., congelaron, liofilizaron y pasteurizaron LHM encontrando que la IgA con la pasteurización disminuía 33o/o y bajo la liofilización perdía un 21o/o con la congelación no hubo

cambios significativos. Este cambio se observó en los niveles de IgG e IgM después de los 3 métodos. Los linfocitos descendieron 85o/o después de una semana y 100o/o después de dos (46).

La pasteurización disminuye la absorción de lípidos; el congelamiento destruye las células viables en leche pero no destruye las proteínas como la lactoferrina. Estudios realizados en Suecia, han demostrado que después de algunos años de alimentar a recién nacidos con leche de banco cruda sugieren que la pasteurización es innecesaria. La LHM puede ser guardada seguramente a 4 - 6 g C por 72 horas (7).

Goldblum & Goldman estudiaron leche madura y posteriormente calostro, encontrando que los componentes del calostro son más estables en almacenamiento a 4 g C por 24 horas, comparándola con aquella. La causa de esto se desconoce y de esta manera tratar de establecer el valor que tenga agregar pequeñas cantidades de calostro a leche madura aumentando la capacidad de conservación de factores inmunológicos (27).

Asquith, M.T., & Harrod, J.R., encontraron que el conteo bacteriano mayor en la leche de los primeros 5 ml, concluyendo que descartando los primeros 5 ml, se disminuye esa contaminación (2).

Carrol & Osman estudiaron lo mismo encontrando que el conteo bacteriano existente en ambas muestras no era significativo estadísticamente y que en cambio sí disminuye la cantidad de leche disponible a los bancos de leche (9).

Paxon, CH.L., & Cress, C.C. mencionan que el uso de vidrio en el almacenamiento reduce el número de células viables pero la fagocitosis se afecta aproximadamente 40o/o; la adhesión al vidrio por las células de la leche fue mayor que la adhesión al plástico (58).

Pittard, W.B., & Bill estudiando los efectos de la refrigeración en los componentes celulares, observó que las células disminuían significativamente después del almacenamiento en contenidos de vidrio por

48 horas a 4 g C. La concentración de macrófagos y neutrófilos (pero no la de linfocitos) disminuían significativamente con el almacenamiento presumiblemente por adhesión al vidrio o por citólisis (63). Y pueden ser elevadas dependiendo del tiempo (27).

ASPECTOS BACTERIOLÓGICOS:

La contaminación bacteriana de LHM donada es el mayor problema de bancos de leche (14,18,48,68), sin embargo la mayoría de bacterias representan flora de la piel, aunque organismos potencialmente patógenos son aislados frecuentemente (14,48), algunos consideran la disminución del número de microorganismos antes de su uso (68).

El conteo bacteriano total y las bacterias más frecuentemente aisladas han sido estudiados por varios autores: Gavin & Ostover, 1977, estudiando 10 muestras encontraron que el conteo bacteriano total inicial era de 6.1×10^2 unidades formadoras de colonias por mililitros (UFC/ml) en muestras antes de alimentar al bebé, aislando en 100o/o *S. epidermidis*, *S. mitis* 86o/o, *Gaffkya tetragena* 29o/o, *S. salivarius* 29o/o, *Lactobacillus acidophilus* 14o/o, *Corynebacterium pseudodiphthericum* 14o/o (23). West y col., 1979, estudiaron 21 muestras encontrando que el conteo bacteriano total oscilaba entre 1.5×10^2 a 1.3×10^7 UFC/ml, *S. epidermidis* en 95o/o, *S. aureus* 24o/o, *Micrococcus* spp. 38o/o, *Streptococcus* spp. 71o/o, *Bacillus* spp. 1o/o, *Lactobacillus* sp. 5o/o, *Difteroides* 5o/o, *E. coli* 5o/o, *Pseudomonas* sp. 15o/o, *Moraxella* sp. 33o/o, *Flavobacterium* sp. 15o/o, *Acinetobacter* sp. 10o/o, alcaligenes sp. 10o/o (76). Eidelman & Szilagyi, 1979, estudiando 44 muestras encontraron que el conteo bacteriano total era de 1.94×10^4 UFC/ml aislando en 98o/o *S. epidermidis*, en 27o/o *S. viridans*, en 20o/o *S. aureus*, en 5o/o *Enterococcus*, en 2o/o *estreptococo* grupo A, 2o/o *Klebsiella* sp. en 2o/o *A. calcoaceticus anitratum* y *E. coli* 2o/o (17). Guevara y col., en 1979, estudiando 100 muestras encontraron que el conteo bacteriano total era de 1.2×10^5 UFC/ml aislando en 72o/o *S. epidermidis*, en 43o/o *Pseudomonas* sp., *E. coli* en 41o/o, *Klebsiella* sp. 27o/o, *Bacillus* sp. 11o/o, *Enterobacter* sp. 3o/o *Streptococcus hemolítico* 2o/o, *S. aureus* 1o/o (29).

En Guatemala, en 1983, Lange, estudiando 101 muestras encontró que el recuento bacteriano total era de 8.0×10^4 , aislando en 100o/o *S. epidermidis*, 19o/o *S. aureus*, 18o/o *E. coli*, 10o/o *A. calcoaceticus* sp., 8o/o *Bacillus* sp., *E. cloacae*, 6o/o, *Lactobacillus* sp. 5o/o, *Streptococcus hemolítico* 5o/o, *Klebsiella* sp. 3o/o, *Proteus* sp. 3o/o, *P. Aureoginosa* 1o/o, *P. cepacia* 2o/o, *difteroides* 2o/o, alcaligenes sp. 1o/o, (42). Este estudio realizado en el lactario del HJSJD, concluyendo que el almacenamiento a 4 g C por 72 horas, es un método adecuado para preservar la calidad bacteriológica de la LHM, debido a que no se observó una diferencia significativa de incremento entre el conteo aerobio total inicial y después de su almacenamiento; resultando más adecuada bacteriológicamente la leche extraída por expresión manual directa, que con tiraleches y biberones; la flora aislada fué similar a reportes extranjeros (42).

No existiendo criterios bacteriológicos en nuestro medio, únicamente los recomendados del estudio realizado por Lange:

- conteo aerobio mesófilo inicial: no mas de 8×10^4 UFC/ml. En el cual predominan bacterias de la flora normal de piel.
- conteo total de *S. aureus*: no mayor de 5×10^2 .
- No contenga bacterias coliformes. (42).

PRESENTACION DE RESULTADOS

Se presentan a continuación los resultados obtenidos del estudio "Propiedades protectoras del calostro humano" realizado en el Lactario de la Unidad de Neonatología del Hospital General "San Juan de Dios", durante los meses de Marzo a Junio de 1985 y para lo cual se incluyeron 30 muestras de leche humana madura y 30 muestras de calostro. Los resultados son los siguientes:

TABLA No. 1:

Esta incluye la presentación general de resultados: conteos bacterianos totales de muestras incubadas a temperatura ambiente (A1), temperatura refrigeración (A2); en dos tiempos: a 24 horas de su obtención del seno materno (B1) y a las 48 horas del mismo (B2); así como las tres diluciones en que se hizo: leche humana sola (C1), leche humana más calostro, 90 y 10o/o respectivamente (C2) y leche humana más calostro, 80 y 20o/o respectivamente (C3).

CUADRO No. 1:

Este incluye la suma de las repeticiones (N) al cuadrado para la temperatura (A) y tiempo (B), así como la suma de cuadrados para temperatura y tiempo (AB).

CUADRO No. 2:

Se presenta la suma de cuadrados para temperatura (A) y diferentes diluciones (C), así como la suma de cuadrados para la temperatura y diluciones (AC).

CUADRO No. 3:

Se presenta la suma de cuadrados para tiempo (B) y diluciones (C), así como la suma de cuadrados de tiempo y diluciones (CB).

TABLA No 2:

En esta se realiza el análisis de varianza después de obtener los datos recopilados en los cuadros 1,2,3 como lo es la suma de cuadrados tanto temperatura, tiempos y diluciones, se establece los grados de libertad para cada fuente de variación y con esto se obtiene el cuadrado mínimo para cada fuente de variación y poder obtener el estadístico F observado o sea (F*)

Se presenta también el estadístico F teórico o sea (F) obtenido del anexo No 1 "Distribución de F al 95o/o" luego de determinar los grados de libertad de la fuente de variación, los grados de libertad del error y alfa de 0.05

TABLA No 1

Conteos bacterianos totales de LHM y C en tres diluciones, LHM sola y esta más C en relación 90 a 10's y 80 a 20's, así: C1, C2 y C3 respectivamente; dos tiempos: 24 y 48 horas: B1 y B2 y dos temperaturas: Ambiente y Refrigeración: A1 y A2.
Lactario Hospital General San Juan de Dios - Universidad de San Carlos de Guatemala
Marzo - Junio 1985.

N	A1						A2					
	B1			B2			B1			B2		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
1	1.4x10 ⁸	6x10 ⁵	1x10 ⁸	1x10 ⁸	3x10 ⁶	2.5x10 ⁶	1x10 ⁴	6x10 ⁵	2.5x10 ⁶	0	3x10 ⁶	2.5x10 ⁶
2	1x10 ⁷	1x10 ⁸	1x10 ⁸	2.4x10 ⁸	2.9x10 ⁸	5.5x10 ⁸	1.5x10 ⁸	1x10 ⁵	2.6x10 ⁸	6x10 ⁵	3x10 ⁶	1.5x10 ⁸
3	3.1x10 ⁶	2x10 ⁶	2.3x10 ⁶	2.2x10 ⁶	2.2x10 ⁶	3.3x10 ⁶	3x10 ⁵	2.4x10 ⁶	1x10 ⁵	2x10 ⁶	1x10 ⁵	5x10 ⁴
4	3x10 ⁸	2.4x10 ⁸	2.6x10 ⁸	2x10 ⁸	3x10 ⁸	4x10 ⁸	2x10 ⁸	3x10 ⁸	2x10 ⁸	3x10 ⁸	1x10 ⁸	5x10 ⁸
5	2x10 ⁸	4x10 ⁸	2.3x10 ⁸	1.4x10 ⁸	1.4x10 ⁸	1.8x10 ⁸	8x10 ⁸	3x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁸	1.3x10 ⁸
6	5x10 ⁸	2.4x10 ⁸	4x10 ⁸	3.7x10 ⁸	5.2x10 ⁸	4x10 ⁸	1x10 ⁶	1x10 ⁶	1x10 ⁶	8x10 ⁶	1x10 ⁶	1x10 ⁶
7	4.9x10 ⁸	2x10 ⁸	4.1x10 ⁸	7.6x10 ⁸	3x10 ⁸	1.6x10 ⁸	4x10 ⁸	1x10 ⁸	3x10 ⁸	8x10 ⁸	2x10 ⁸	3x10 ⁸
8	7x10 ⁸	5.7x10 ⁸	4.7x10 ⁸	8.5x10 ⁸	8x10 ⁸	4x10 ⁸	4x10 ⁸	3x10 ⁸	4x10 ⁸	2x10 ⁸	1x10 ⁸	5.5x10 ⁸
9	5.3x10 ⁸	2x10 ⁸	5x10 ⁸	1.8x10 ⁸	1.5x10 ⁸	6x10 ⁸	2x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁸	2x10 ⁸	2x10 ⁸
10	2.3x10 ⁸	2.2x10 ⁸	2x10 ⁸	5x10 ⁸	2.3x10 ⁸	7x10 ⁸	2.5x10 ⁸	2.3x10 ⁸	1.8x10 ⁸	5.6x10 ⁸	5x10 ⁸	5x10 ⁸
11	3.4x10 ⁸	1.8x10 ⁸	4x10 ⁸	3.4x10 ⁸	5x10 ⁸	2.5x10 ⁸	2.7x10 ⁸	5x10 ⁸	1.4x10 ⁸	4.8x10 ⁸	5.5x10 ⁸	3x10 ⁸
12	1x10 ⁶	6x10 ⁷	5.7x10 ⁷	6x10 ⁶	6.8x10 ⁶	6x10 ⁷	1x10 ⁵	1x10 ⁵	4x10 ⁴	1x10 ⁶	2.5x10 ⁵	1x10 ⁵
13	3x10 ⁷	3.8x10 ⁶	1.6x10 ⁶	9.4x10 ⁶	6.7x10 ⁶	1.4x10 ⁶	5x10 ⁵	1x10 ⁵	3x10 ⁵	1x10 ⁶	1x10 ⁶	1x10 ⁵
14	3.5x10 ⁸	5.2x10 ⁸	4.1x10 ⁸	1.8x10 ⁸	7x10 ⁸	5.8x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁸	2.5x10 ⁸	2x10 ⁸	1x10 ⁸
15	7x10 ⁸	8x10 ⁸	7.3x10 ⁸	1x10 ⁸	1.1x10 ⁸	9x10 ⁸	5x10 ⁸	2x10 ⁸	3x10 ⁸	1.5x10 ⁸	1x10 ⁸	2x10 ⁸
16	5.7x10 ⁸	4.5x10 ⁸	1.5x10 ⁸	3.7x10 ⁸	3.7x10 ⁸	7.7x10 ⁸	3.7x10 ⁸	1.2x10 ⁸	1.2x10 ⁸	6.8x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁸
17	4.3x10 ⁸	5x10 ⁸	6.8x10 ⁸	4x10 ⁸	6x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁴	1x10 ⁴	1x10 ⁴	3x10 ⁴	0	1x10 ⁸
18	4.9x10 ⁸	4.7x10 ⁸	8.5x10 ⁸	5.4x10 ⁸	1.2x10 ⁸	1.2x10 ⁸	2x10 ⁶	3x10 ⁶	8x10 ⁵	3.1x10 ⁶	3.7x10 ⁶	3.3x10 ⁶
19	1.6x10 ⁶	9.3x10 ⁶	7.9x10 ⁶	1x10 ⁶	9.8x10 ⁶	2.6x10 ⁶	4x10 ⁵	2x10 ⁵	3x10 ⁵	5.2x10 ⁵	2x10 ⁵	3.4x10 ⁵
20	4.4x10 ⁶	7.6x10 ⁶	8.9x10 ⁶	9x10 ⁶	5x10 ⁶	8x10 ⁶	1.6x10 ⁶	5x10 ⁶	1x10 ⁶	9x10 ⁶	8x10 ⁶	2.2x10 ⁶
21	2.5x10 ⁶	1.7x10 ⁶	1x10 ⁶	1.3x10 ⁶	1.3x10 ⁶	4.5x10 ⁶	1x10 ⁶	4x10 ⁶	7x10 ⁶	3.9x10 ⁶	4x10 ⁶	1.3x10 ⁶
22	7x10 ⁶	6.2x10 ⁶	7.5x10 ⁶	1.4x10 ⁶	1.7x10 ⁶	1.3x10 ⁶	1.7x10 ⁶	1x10 ⁶	2x10 ⁶	3.7x10 ⁶	2.4x10 ⁶	4.5x10 ⁶
23	5.6x10 ⁶	3.3x10 ⁶	6.5x10 ⁶	9x10 ⁶	8x10 ⁶	5.6x10 ⁶	2.9x10 ⁶	4x10 ⁶	8x10 ⁶	1.2x10 ⁶	3.5x10 ⁶	2.7x10 ⁶
24	3x10 ⁶	8.4x10 ⁶	6x10 ⁶	1.3x10 ⁶	3.8x10 ⁶	4.6x10 ⁶	3x10 ⁶	1x10 ⁶	3x10 ⁶	3.4x10 ⁶	1x10 ⁶	4x10 ⁶
25	3.4x10 ⁶	7.3x10 ⁶	2.1x10 ⁶	1.1x10 ⁶	1.2x10 ⁶	8.5x10 ⁶	8.4x10 ⁶	1x10 ⁶	1x10 ⁶	1x10 ⁶	6.2x10 ⁶	2.1x10 ⁶
26	6x10 ⁶	8x10 ⁶	8x10 ⁶	5.8x10 ⁶	2.4x10 ⁶	1.5x10 ⁶	1x10 ⁶	1x10 ⁶	1.7x10 ⁶	4x10 ⁶	1x10 ⁶	1.2x10 ⁶
27	3.8x10 ⁶	5.6x10 ⁶	4x10 ⁶	8.3x10 ⁶	4.4x10 ⁶	3.4x10 ⁶	1x10 ⁶	3x10 ⁶	7x10 ⁶	2.6x10 ⁶	2.4x10 ⁶	1.3x10 ⁶
28	6.8x10 ⁶	4x10 ⁶	4.2x10 ⁶	9.9x10 ⁶	4.6x10 ⁶	1.6x10 ⁶	5x10 ⁶	1x10 ⁶	6x10 ⁶	6x10 ⁶	1.3x10 ⁶	1x10 ⁶
29	1.6x10 ⁶	1x10 ⁶	8x10 ⁶	1.6x10 ⁶	2.7x10 ⁶	4.6x10 ⁶	1x10 ⁶	6x10 ⁶	5x10 ⁶	2x10 ⁶	1x10 ⁶	5x10 ⁶
30	3.5x10 ⁶	9.8x10 ⁶	6x10 ⁶	2.5x10 ⁶	1.3x10 ⁶	6.2x10 ⁶	4x10 ⁶	1.4x10 ⁶	4x10 ⁶	3.8x10 ⁶	6.36x10 ⁶	1.7x10 ⁶

Fuentes: Datos obtenidos de la investigación del autor.

TABLA No. 2

Análisis de varianza para conteos bacterianos LHM más C
Lactario del HGSJD – Universidad de San Carlos de Guatemala
Marzo – Junio 1985

Fuente de Variación	SC	Gl	Cm	F*	F
A	2458	1	2458.	39.42	3.8675
B	213	1	213	3.46	3.8675
C	31.8	2	15.9	.258	3.0150
AB	60.8	1	60.8	.99	3.8675
AC	18.76	2	9.36	.15	3.0150
BC	364.4	2	182.2	2.96	3.0150
ABC	6702.8	2	98497.1	1599.08	3.0150
error	22174.725	349	61.596		
total	8761.115	360			

Fuente: Datos obtenidos de Cuadros 1, 2, 3.

Nota: SC: Suma de cuadrados Gl: Grados de libertad
Cm: Cuadrado medio F*: Estadístico F calculado
A: Temperatura B: Tiempo
C: Diluciones AB: Temperatura/Tiempo
AC: Temperatura/diluciones BC: Tiempo/diluciones
ABC: Temperatura/tiempo/diluciones F: Estadístico F teórico

CUADRO No. 1

Suma de cuadrados para A (temperatura) y B (tiempo)
Lactario del HGSJD – Universidad de San Carlos de Guatemala
Marzo – Junio 1985

	A		
	A1	A2	SC _B
B1	427.8	33.32	461.12
B2	640.98	95.32	736.3
SC _A	1068.8	128.64	1197

Fuente: Datos obtenidos de tabla No. 1

SC_B : 213

SC_{AB} : 60.8

SC_A : 2458

CUADRO No. 2

Suma de cuadrados para A (temperatura) y C (diluciones)
Lactario del HGSJD – Universidad de San Carlos de Guatemala
Marzo – Junio 19865

		A		
		A1	A2	SC _C
C	C1	373,09	50.28	414
	C2	390.28	42.39	432.67
	C3	314.48	35.97	350.45
SC _A		1068.8	138.64	1197

Fuente: Datos de tabla No. 1.

SC_C : 31.8

SC_A : 2458

SC_{AC} : 18.76

CUADRO No. 3

Suma de cuadrados para B (tiempos) y C (diluciones)
Lactario del HGSJD – Universidad de San Carlos de Guatemala
Marzo – Junio 1985

		B		
		B1	B2	SC _C
C	C1	174.4	239.36	414
	C2	151.7	280.97	432.68
	C3	134.48	215.97	350.45
SC _B		461.1	736.3	1197

Fuente: Datos obtenidos de tabla No. 1

SC_C: 31.8

SC_B: 213

SC_{CB}: 364.4

ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Tomando en cuenta que la importancia del estudio es establecer la diferencia significativa de conteos bacterianos totales tanto de leche humana madura sola como leche humana mas calostro al 10 y 20o/o, al observar los resultados obtenidos en la tabla No. 1 se deduce que no varían de los reportados tanto en estudios nacionales como extranjeros; luego de obtener con los datos de esta misma tabla la tabla No. 2 en donde se reporta el estadístico F calculado y F teórico interpretado de la siguiente manera: Si F calculado es mayor que F teórico si hay diferencias significativas dependiendo de la fuente de variación que comparemos y si es menor no hay diferencia; así:

Al ser mayor el F calculado para el factor temperatura se dice que existen diferencias entre los conteos bacterianos obtenidos al medio ambiente y los incubados en refrigeración, como lo reportado por la literatura.

Para el factor de variación tiempo (24 y 48 horas) no hay diferencia significativa en conteos bacterianos obtenidos no siendo estadísticamente significativos con 24 horas de diferencia.

Tampoco hay diferencias significativas en los conteos obtenidos al ambiente y refrigeración al comparar los tiempos a los que se realizaron, 24 y 48 horas, así también las diferentes diluciones no evidencian diferencia entre una temperatura y otra y entre un tiempo y otro.

Así podemos decir que es mejor almacenar la leche humana madura en refrigeración si se va a usar por mas de 24 horas pero que no necesita este tratamiento si este tiempo es menor de 24 horas, siendo los conteos bacterianos obtenidos no significativamente estadísticos y similares a los obtenidos por otros autores reportados en la literatura.

CONCLUSIONES

1. Si hay diferencia en la calidad bacteriológica de la leche almacenada al medio ambiente (aproximadamente 20° C) y en refrigeración (4-6° C), siendo más adecuada la refrigeración si la leche será almacenada más de 24 horas.
2. No hay diferencias en la calidad bacteriológica de la leche humana al agregar pequeñas cantidades de calostro, no demostrándose utilidad de tal conducta.

RECOMENDACIONES

1. Que el procedimiento de recolección de leche en el lactario sea constantemente supervisado por personal del servicio, médico residente, para que se cumpla en una forma adecuada, teniendo especial interés en cuidados higiénicos.
2. Que no se agreguen pequeñas cantidades de calostro obtenidas a muestras de leche madura, por que se sabe que pequeñas cantidades, los primeros mililitros están mas contaminados.
3. Que cuando la leche humana madura se va a utilizar en las primeras 24 horas, no necesita ningún tipo de tratamiento especial ni refrigeración siendo más confiable el período si es de menos de 12 horas, aun estando a temperatura del lactario.
4. Incrementar el interés por el personal médico y paramédico para la recolección de leche humana y que el lactario del hospital pueda dar suficiente al servicio de neonatología.
5. Seguir fomentando la lactancia materna en madres de post-parto haciendo énfasis en que el trabajo no es problema para no darle este alimento a su hijo, al poder realizar extracción manual y dejarla en biberón para el bebé en el transcurso del día.

RESUMEN

Considerando la contaminación de la leche humana madura como un problema de los bancos de leche y lactarios, tratando disminuir esta contaminación y determinar qué tipo de tratamiento de los propuestos por la literatura es el más adecuado poniendonos como hipótesis que la leche humana madura no necesita refrigeración para su almacenamiento, que puede ser almacenada a temperatura ambiente sin aumentar su contaminación bacteriana y el calostro puede disminuir esta contaminación con el objetivo de determinar conteos bacterianos totales en leche humana madra sola y esta más calostro.

Para el efecto se realizó una recolección de leche madura y calostro y se cultivó en dos tiempos a dos distintas temperaturas; el número de muestra fue de 30 para leche humana sola, 30 para calostro más leche humana 10 y 90o/o respectivamente y 30 para calostro más leche humana sola, 30 para calostro más leche humana 10 y 90o/o respectivamente y 30 para calostro más leche humana 20 y 80o/o respectivamente calculado con asesoría del Ing. Ricardo Sibrian del INCAP y por parte de la USAC el Ing. Henry Piedrasanta y Arq. Glenda de Rodríguez. Se sembró los especímenes en Plate Cout Agar con adición de 5o/o de sangre desfibrinada de carnero. Las muestras se recolectaron en el lactario del Hospital General San Juan de Dios y procesadas en el laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas, Edificio "O" de la Ciudad Universitaria Zona 12. Se realizó un análisis factorial y obtención del estadístico "F" utilizado para establecer diferencias entre los distintos tratamientos, tiempos y diluciones, nuestras fuentes de variación.

Las conclusiones a las que se llegó fueron que si hay diferencia en la calidad bacteriológica de la leche almacenada al medio ambiente siendo más adecuada la refrigeración si la leche será almacenada más de 24 horas; y que no hay diferencia en la calidad bacteriológica de la leche humana al agregar pequeñas cantidades de calostro, no demostrándose utilidad de tal conducta.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arnon, S.S. et al. Protective role of human milk against sudden death from infant botulism. *J Pediatr* 1982 Apr; 100(4): 568-573
2. Asquith, M.T. y J.R. Harrod. Reduccion of bacterial contamination in banked human milk. *J Pediatr* 1979 Dec; 95(6): 993-994
3. Behrman, R.E. y V.C. Vaughan. *Textbook of pediatrics*. 12th ed. Philadelphia, Saunders, 1983. 1899p. (pp.149-158)
4. Boediman, D. et al. Composition of breast milk beyond one year. *J Trop Pediatr* 1979 Aug; 25(4):107-110
5. Bullen, C.L. y A.T. Willis. Resistance of the breast-fed infant to gastroenteritis. *Br Med J* 1971 Aug 7; 3(5770):338-343
6. Blau, H, et al. Studies on human milk macrophages: effect of activation on phagocytosis and secretion of prostaglandin E_2 y lysozime. *Pediatr Res* 1983 Apr; 17(4):241-245
7. Björksten, B. et al. Collecting and banking human milk; to heat or, not to heat?. *Br Med J* 1980 Sep 20; 281(6243): 765-769
8. Carlsson, B. et al. Antibodies against *Escherichia coli* capsular (k) antigens in human milk and serum. Their relation on the *E. coli* gut flora of the mother and neonate. *Acta Paediatr Scand* 1982 Mar; 71(2):313-318
9. Carrol, L. et al. Does discarding the first few millilitres breast milk improve the bacteriological quality of bank breast milk?. *Arch Dis Child* 1980 Nov; 55(11):898-899
10. Chandra, R.K. Immunological aspects of human milk. *Nutr Rev*

1978 Sep; 36(9):265-272

11. Cole, F.S. et al. Complement biosynthesis in human breast macrophages and blood monocytes. **Immunology** 1982 Jun; 46(2):429-441
12. Cruz, J.R. et al. Food antibodies in milk human from guatemalan women. **J Pediatr** 1981 Oct; 99(4):600-602
13. Cruz, J.R. et al. Studies in human milk 111. Secretory IgA quantity and antibody levels against *E. coli* in colostrum and milk from underprivileged and privileged mothers. **Pediatr Res** 1982 Apr; 16(4):272-276
14. Davidson, D.C. et al. Bacteriological monitoring of unheated human milk. **Arch Dis Child** 1979 Oct; 54(10):760-764
15. Downhan, M.A. et al. Breast-feeding protects against respiratory syncytial virus infections. **Br Med J** 1976 Jul 31; 2(5):274-276
16. Dworsky M. et al. Cytomegalovirus infection of breast milk and transmission in infancy. **Pediatrics** 1983 Sep; 72(3):295-299
17. Eidelman, A.J. y G. Szilagyi. Patterns of bacterial colonization of human milk. **Obstet Gynecol** 1979 May; 53(5):550-552
18. Evans, T.J. et al. Effect of storage and heat on antimicrobial proteins in human milk. **Arch Dis Child** 1978 Mar; 53(3):239-241
19. Ford, J.E. et al. Influence of the heat treatment of human milk on some of its protective constituents. **J Pediatr** 1979 Jan; 90(1):29-35

20. Friend, B.A. et al. The effect of processing and storage on key enzymes, B vitamins, and lipids of mature human milk 1. Evaluation of fresh samples and effects of freezing and frozen storage. **Pediatr Res** 1983 Jan; 17(1):61-64
21. Fransson, G.B. y B. Lönnerdal. Iron in human milk. **J Pediatr** 1980 Mar; 96(3):380-384
22. Gaffin, S.L. et al. Effect of heat treatment of human breast milk on its anti-endotoxin antibody activities. **S Afr Med J** 1983 Jun 25; 63(26):1014-1015
23. Gavin, A. y K. Ostover. Microbiological characterization of human milk. **Journal Food Protection** 1977 Sep; 40(9):614-616
24. Goldman, A.S. y C.W. Smith. Host resistance factors in human milk. **J Pediatr** 1973 Jun; 82(6):1082-1090
25. Goldman, A.S. et al. Immunologic factors in human milk during the first year of lactation. **J Pediatr** 1982 Apr; 100(4):563-567
26. Goldman, A.S. et al. Effects of prematurity on the immunologic system in human milk. **J Pediatr** 1982 Dec; 101(6):901-906
27. Goldblum, R.M. et al. Human milk banking 11. Relative stability of immunologic factors in stored colostrum. **Acta Paediatr Scand** 1982 Jan; 71(1):143-144
28. Goldford, J. y E. Tibbetts. **Breastfeeding handbook**. Hillside, Enslow, 1980. 256p. (pp.28-45)
29. Guevara, J. et al. Prevalencia de flora bacteriana en leche materna y su tolerancia en neonatos. **Hospital Nacional de**

Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera" Costa Rica 1978 Jul-Dic;
14(2):107-114

30. Gross, S.J. et al. Nutritional composition of milk produced by mothers delivering preterm. *J Pediatr* 1980 Apr; 96(4): 641-644
31. Glass, R.J. et al. Protection against cholera in breast fed children by antibodies in breast milk. *N Eng J Med* 1983 Jun 9; 308(23):1389-1392
32. György, P. Biochemical aspects from the uniqueness of human milk. *Am J Clin Nutr* 1971 Aug; 24(8):970-975
33. Hambraeus, L. Proprietary milk versus human milk in infant feeding. A critical appraisal from the nutritional point of view. *Pediatr Clin North Am* 1977 Feb; 24(1):17-36
34. Hanson, L.A. et al. Immune defense factors in human milk. *Modern Problems in Paediatrics* 1975 Jan; 15(1):63-72
35. Hazebroek, A. et al. Sodium content of breast milk in the six months after delivery. *Acta Paediatrics Scand* 1983 May; 72(3):459-460
36. Hernell, O. et al. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. IV. Milk lipases. *Am J Clin Nutr* 1977 Apr; 30(4):508-511
37. Hernell, O. et al. Digestion of human milk lipids: physiologic significance of su-2 monoacylglycerol hidrolisis by bile salt stimulated lipase. *Pediatr Res* 1982 Oct; 16(10):882-885
38. Jelliffe, D.B. y E.F. Jelliffe. The volume and composition of human milk poorly nourished communities, a review. *Am J Clin Nutr* 1975 Mar; 31(3):492-515

39. Jones, C. Ll et al. Bacterial contamination of expressed breast milk. *Br Med J* 1979 Nov 24; 2(6201):1320-1322
40. Kabara, J.J. Lipids as host-resistance factors of human milk. *Nutr Rev* 1980 Feb; 38(2):65-73
41. Lakdawala, D.R. y E.M. Widdowson. Vitamin D in human milk. *Lancet* 1977 Jan 22. 1(8004):167-168
42. Lange, R.F. Evaluación bacteriológica de la leche materna de un lactario de un hospital. Tesis (Químico biólogo)-Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1983. 59p.
43. Lauber, E. et al. Studies on the quality of breast milk during 23 months of lactation in a rural community of the Ivory Coast. *Am J Clin Nutr* 1979 May; 32(5):1159-1173
44. Legge, M. y K.C. Richards. Biochemical alterations in human breast milk after heating. *Austr Paediatr J* 1978 Jan; 14(2): 87-90
45. Lennette, E.H. et al. *Manual of clinical microbiology*. 2nd. ed. Washington, American Society for Microbiology, 1974. 970p. (pp.45-108)
46. Liebhaber, M. et al. Alterations of lymphocytes and of antibody content of human milk after processing. *J Pediatr* 1977 Dec; 91(6):897-890
47. Lönnerdal, B. et al. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. II. Lactosa, nitrogen and protein contents. *Am J Clin Nutr* 1976 Oct; 29(10):1134-1141
48. Lucas, A. y C.D. Roberts. Bacteriological quality control in human milk banking. *Br Med J* 1979 Jan 13; 1(6156): 80-82

49. Martínez, G.A. et al. Milk feeding patterns in the United States during the first 12 months of life. *Pediatrics* 1981 Dec; 68(6):863-868
50. Mata, L.J. et al. Influence of recurrent infections on nutrition and growth of children in Guatemala. *Am J Clin Nutr* 1972 Nov; 25(11):1267-1275
51. Mata, L.J. et al. Anti rotavirus antibody in human colostrum. *Lancet* 1978 Jan 7; 1(8054):39-40
52. Mata, L.J. y R.G. Wyatt. El valor incomparable de la leche humana; amamantamiento y resistencia del huésped a la infección. *Bol Of Sanit Panam* 1971 Jan; 71(1):60-70
53. Merson, M.H. et al. Maternal colera immunization and secretory IgA in breast milk. *Lancet* 1980 Apr 26; 1(8174):931-932
54. Murillo, G.J. y A.S. Goldman. The cells of human colostrum II. Synthesis of IgA and B1c. *Pediatr Res* 1970 Jan; 4(1):71-75
55. Murphy, J.F. et al. Antimicrobial properties of preterm breast milk cells. *Arch Dis Child* 1983 Mar; 58(3):198-200
56. McClelland, D.B.L. et al. Antimicrobial factors in human milk. *Acta Paediatr Scand* 1978 Supplement 271. 20p.
57. Nakajima, S. et al. Complement system in human colostrum. Presence of nine complement components and factors of alternative pathway in human colostrum. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1977 May; 54(5):428-433
58. Paxon, Ch.L. et al. Survival of human milk leukocytes. *J Pediatr* 1979 Jan; 94(1):61-63

59. Pickering, et al. Human colostrum cytotoxicity II. Relative defects in colostrum leukocyte cytotoxicity and inhibition of peripheral blood leukocyte cytotoxicity by colostrum. *J Infect Dis* 1980 Jun; 142(6):884-891
60. Pick, L.K. et al. Inhibition of human polymorphonuclear leukocyte function by components of human colostrum and mature milk. *Infect Immun* Jan; 40(1):8-15
61. Pick, L.K. et al. Polymorphonuclear leukocytes of human colostrum I. Oxidative metabolism and kinetics of killing of radiolabeled *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1980 May; 142(5):1685-1693
62. Pitt, J. The milk mononuclearphagocyte. *Pediatrics* 1979 Nov; 64(5):745-749
63. Pittard, B.W. y B.S. Kathleen. Human milk banking. *Clin Pediatr* 1981 Jan; 20(1):31-33
64. Prado, D. Necesidad de bancos de leche humana y de lactarios como un servicio hospitalario. *Guatemala Pediátrica* 1981 Ag-Sep; 3(3):153-163
65. Raptopoulou-Gigi, M. et al. Antimicrobial proteins in sterilised human milk. *Br Med J* 1977 Jan 1; 1(6054):12-14
66. Renshaw, et al. Alternative and classical complement pathway activity in sera from colostrum fed and colostrum-deprived neonatal pigs. *Immunology* 1980 Jan; 41(1):203-209
67. Roy, C.C. y J. Lescop. Human milk banking. *Am J Dis Child* 1979 Mar; 133(3):255-256
68. Siimes, M.A. y N. Hallman. A prospective on human milk banking. *J Pediatr* 1979 Jan; 94(1):173-174

69. Simhon, A. y L. Matta. Antitrotavirus antibody in human colostrum. *Lancet* 1978 Jan 7; 1(8054):39-40

70. Suzuki, S. et al. Immunoglobulin concentrations and bacterial antibody titres in breast milk from mothers of preterm and term infants. *Acta Paediatr Scand* 1983 Sep; 72(5):671-677

71. Steinhoff, M.C. Rotavirus: the first five years. *J Pediatr* 1980 Apr; 96(4):611-622

72. Tamura, et al. Human milk folate and folate status in lactating mothers and their infants. *Am J Clin Nutr* 1980 Feb; 33(2):193-197

73. Tomasi, T.B. Secretory immunoglobulins. *N Eng J Med* 1972 Sep 7; 287(10):500-506

74. Walker, W.A. Host defenses a mechanisms in the gastrointestinal tract. *Pediatr* 1976 Jun; 57(6):901-913

75. Welsh, J.K. y J.T. May. Anti-infective properties of breast milk. *J Pediatr* 1979 Jan; 94(1):1-9

76. West, P.A. et al. The influence of methods of collection and storage on the bacteriology of human milk. *J Appl Bacteriol* 1979 Apr; 46(2):269-277

77. Wills, M.E. et al. Short-time low temperature pasteurisation of human milk. *Early Hum Dev* 1982 Oct; 7(1):71-80

78. World Health Organization. Contemporary patterns of breast feeding; report on the WHO collaborative study on breast feeding. Geneva, 1981. 214p. (pp.1-46)

no so
Eduyadillo

Unidad de San Carlos de Guatemala
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
OPCA - UNIDAD DE DOCUMENTACION

DISTRIBUCION DE F al 95%

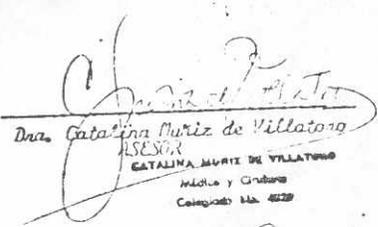
GL₆ (0 GL₆t).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	243	244	245	245	246	246	247	247
2	18.5	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4
3	10.1	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.76	8.74	8.73	8.71	8.70	8.69	8.68	8.67
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.94	5.91	5.89	5.87	5.86	5.84	5.83	5.82
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.70	4.68	4.66	4.64	4.62	4.60	4.59	4.58
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.98	3.96	3.94	3.92	3.91	3.90
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.60	3.57	3.55	3.53	3.51	3.49	3.48	3.47
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.26	3.24	3.22	3.20	3.19	3.17
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.10	3.07	3.05	3.03	3.01	2.99	2.97	2.96
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94	2.91	2.89	2.86	2.85	2.83	2.81	2.80
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.82	2.79	2.76	2.74	2.72	2.70	2.69	2.67
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.72	2.69	2.66	2.64	2.62	2.60	2.58	2.57
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.63	2.60	2.58	2.55	2.53	2.51	2.49	2.48
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.57	2.53	2.51	2.48	2.46	2.44	2.43	2.41
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.51	2.48	2.45	2.42	2.40	2.38	2.37	2.35
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.46	2.42	2.40	2.37	2.35	2.33	2.32	2.30
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.38	2.35	2.33	2.31	2.29	2.27	2.26
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.31	2.29	2.27	2.25	2.23	2.22
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.34	2.31	2.28	2.26	2.23	2.21	2.20	2.18
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.31	2.28	2.25	2.22	2.20	2.18	2.17	2.15
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.25	2.22	2.20	2.18	2.16	2.14	2.12
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.26	2.23	2.20	2.17	2.15	2.13	2.11	2.10
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.23	2.20	2.18	2.15	2.13	2.11	2.09	2.07
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.21	2.18	2.15	2.13	2.11	2.09	2.07	2.05
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.20	2.17	2.14	2.11	2.09	2.07	2.05	2.04
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.12	2.09	2.07	2.05	2.03	2.02
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.17	2.13	2.10	2.08	2.06	2.04	2.02	2.00
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.55	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.15	2.12	2.09	2.06	2.04	2.02	2.00	1.99
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.14	2.10	2.08	2.05	2.03	2.01	1.99	1.97
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.13	2.09	2.06	2.04	2.01	1.99	1.97	1.96
32	4.15	3.29	2.90	2.67	2.51	2.40	2.31	2.24	2.19	2.14	2.10	2.07	2.04	2.01	1.99	1.97	1.95	1.94
34	4.13	3.28	2.88	2.65	2.49	2.38	2.29	2.23	2.17	2.12	2.08	2.05	2.02	1.99	1.97	1.95	1.93	1.92
36	4.11	3.26	2.87	2.63	2.48	2.36	2.28	2.21	2.15	2.11	2.07	2.03	2.00	1.98	1.95	1.93	1.92	1.90
38	4.10	3.24	2.85	2.62	2.46	2.35	2.26	2.19	2.14	2.09	2.05	2.02	1.99	1.96	1.94	1.92	1.90	1.89
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.04	2.00	1.97	1.95	1.92	1.90	1.89	1.87
42	4.07	3.22	2.83	2.59	2.44	2.32	2.24	2.17	2.11	2.06	2.03	1.99	1.96	1.93	1.91	1.89	1.87	1.86
44	4.06	3.21	2.82	2.58	2.43	2.31	2.23	2.16	2.10	2.05	2.01	1.98	1.95	1.92	1.90	1.88	1.86	1.84
46	4.05	3.20	2.81	2.57	2.42	2.30	2.22	2.15	2.09	2.04	2.00	1.97	1.94	1.91	1.89	1.87	1.85	1.83
48	4.04	3.19	2.80	2.57	2.41	2.29	2.21	2.14	2.08	2.03	1.99	1.96	1.93	1.90	1.88	1.86	1.84	1.82
50	4.03	3.18	2.79	2.56	2.40	2.29	2.20	2.13	2.07	2.03	1.99	1.95	1.92	1.89	1.87	1.85	1.83	1.81
55	4.02	3.16	2.77	2.54	2.38	2.27	2.18	2.11	2.06	2.01	1.97	1.93	1.90	1.88	1.85	1.83	1.81	1.79
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.95	1.92	1.89	1.86	1.84	1.82	1.80	1.78
65	3.99	3.14	2.75	2.51	2.36	2.24	2.15	2.08	2.03	1.98	1.94	1.90	1.87	1.85	1.82	1.80	1.78	1.76
70	3.98	3.13	2.74	2.50	2.35	2.23	2.14	2.07	2.02	1.97	1.93	1.89	1.86	1.84	1.81	1.79	1.77	1.75
80	3.96	3.11	2.72	2.49	2.33	2.21	2.13	2.06	2.00	1.95	1.91	1.88	1.84	1.82	1.79	1.77	1.75	1.73
90	3.95	3.10	2.71	2.47	2.32	2.20	2.11	2.04	1.99	1.94	1.90	1.86	1.83	1.80	1.78	1.76	1.74	1.72
100	3.94	3.09	2.70	2.46	2.31	2.19	2.10	2.03	1.97	1.93	1.89	1.85	1.82	1.79	1.77	1.75	1.73	1.71
125	3.92	3.07	2.68	2.44	2.29	2.17	2.08	2.01	1.96	1.91	1.87	1.83	1.80	1.77	1.75	1.72	1.70	1.69
150	3.90	3.06	2.66	2.43	2.27	2.16	2.07	2.00	1.94	1.89	1.85	1.82	1.79	1.76	1.73	1.71	1.69	1.67
200	3.89	3.04	2.65	2.42	2.26	2.14	2.06	1.98	1.93	1.88	1.84	1.80	1.77	1.74	1.72	1.69	1.67	1.65
300	3.87	3.03	2.63	2.40	2.24	2.13	2.04	1.97	1.91	1.86	1.82	1.78	1.75	1.72	1.70	1.68	1.66	1.64
500	3.85	3.01	2.62	2.39	2.23	2.12	2.03	1.96	1.90	1.85	1.81	1.77	1.74	1.71	1.69	1.66	1.64	1.62
1000	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.11	2.02	1.95	1.89	1.84	1.80	1.76	1.73	1.70	1.68	1.65	1.63	1.61
2000	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.79	1.75	1.72	1.69	1.67	1.64	1.62	1.60

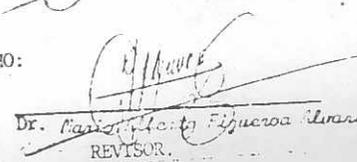
CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS
DE LA SALUD
(C I C S)

CONFORME:


Dr. Carlos Cassich Marquez
ASESOR.


Dra. Catalina Muriz de Villatoro
ASESORA
CATALINA MURIZ DE VILLATORO
Médica y Cirujana
Colegiada No. 4229

SATISFECHO:

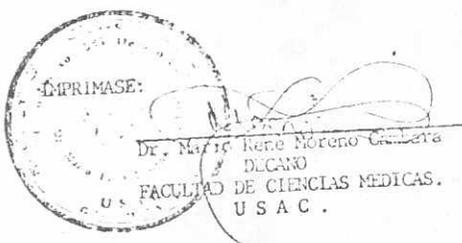

Dr. Mario A. Figueroa A.
REVISOR.

DR. MARIO A. FIGUEROA A.
MEDICO Y CIRUJANO

APROBADO:


DIRECTOR DEL CICS

EXPRIMASE:


Dr. Mario René Moreno Cámara
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS.
U S A C .

Guatemala, 11 de octubre de 1985

Los conceptos expresados en este trabajo
son responsabilidad únicamente del Autor.
(Reglamento de Tesis, Artículo 23).