Artículo original

Contaminación en la leche de biberones por las técnicas de preparación empleadas

Contamination in bottle milk due to the preparation techniques used

Agustina B. Jauregui
Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Morón (UM), Buenos Aires, Argentina.
Laboratorio de Calidad de la leche (LACLE), CABA, Argentina.

Manuscrito recibido: 5 de agosto de 2021; aceptado para publicación: 5 de abril de 2022

Autor de Contacto: Agustina Belén Jáuregui. Dirección Postal: Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales (UM), Cabildo 134, (1708) Morón, Buenos Aires, Argentina. E-mail: *aguus.farm@gmail.com*

Resumen
Las técnicas de preparación y manipulación han sido identificadas como una fuente importante de contaminación cuando son utilizadas incorrectamente en el momento de preparar los biberones de leche de los niños. El objetivo del presente estudio fue conocer cuáles son las técnicas de preparación y manipulación empleadas y el grado de contaminación en leche de biberones preparados artesanalmente por madres que asisten a las consultas pediátricas en el Hospital municipal "Dr. Hector J. D'Agnillo", en la localidad de Marcos Paz, durante los meses de febrero y octubre/noviembre del 2020. Para ello se realizó un estudio descriptivo transversal. Se analizaron las encuestas realizadas a 30 padres o personas autorizadas en la preparación y manipulación de los biberones y se detectó contaminación por bacterias coliformes totales (CT) en 30 biberones de leche. Se detallaron técnicas involucradas en el proceso. Los resultados arrojados fueron que 22 muestras obtenidas de (18) mujeres y (4) hombres resultaron positivas en el recuento microbiológico y 8 negativas; 6 muestras utilizaron agua de la canilla sin filtro para la preparación de la leche en los biberones encontrándose todas contaminadas por CT; 24 muestras utilizaron agua de la canilla con filtro, comercial envasada y mineral, 16 de ellas arrojaron resultados positivos. De la totalidad contaminada, 10 muestras fueron contaminadas por coliformes fecales (CF). A mayor manipulación en el lavado del biberón, así como de la superficie de preparación, mayor índice de contaminación. De los 30 encuestados, 27 utilizó el lavado de manos en el proceso y 3 no; de estos 3 últimos 2 estaban contaminados por CF. De las 30 muestras 9 presentaron *Escherichia coli*, así como también del total de muestras solo 1 presentó *Staphylococcus aureus*. Debido a esto se concluyó que las técnicas de higiene, así como la utilización de agua sin filtro para la preparación de leche de biberones son una fuente importante de contaminación.

Palabras clave: biberones, contaminación, leche, bacterias, técnicas de preparación.

Abstract

The techniques of preparation and manipulation have been identified as an important source of contamination when utilized incorrectly while preparing children feeding bottles. The Objective of the present study was learning the techniques of preparation and manipulation used and the degree of contamination in milk from feeding bottles prepared manually by mothers who seek pediatric attention at the Dr. Hector J. D'Agnillo municipal hospital, in Marcos Paz town, between the months of February and October/November of 2020. For this a descriptive cross-sectional study was conducted. The surveys from 30 parents or authorized personal in preparation and manipulation were analyzed and the degree of contamination by total coliform bacteria (CT) of 30 feeding bottles was detected. The techniques involved were detailed in the process. The results were that 22 samples obtained from (18) women and (4) men resulted positive in the microbiological count and 8 negative; 6 samples used tap water without filter for the preparation, all contaminated with CT; 24 tap water with filter, commercial and mineral water; 16 yielded positive results. From the total of contaminated samples, 10 were from fecal coliform (CF). The more complex the bottle and surface cleaning technique becomes, the higher the contamination index. From the 30 subjects surveyed, 27 used washed hands in the process and 3 didn't; of the last 2 were contaminated with CF. From 30 samples 9 presented Escherichia coli*. From the total of samples only 1 contained* Staphylococcus aureus*. Due to this it was concluded that the hygiene techniques, as well as the use of unfiltered water for the preparation of milk for feeding bottles are a great source of contamination.*

Key words: *milk bottles, contamination, milk, bacteria, techniques for preparation.*

DOI: http://doi.org/10.34073/285

INTRODUCCIÓN

Muchas son las ventajas que aporta la lactancia materna (LM): una nutrición óptima, una alta protección contra enfermedades respiratorias, digestivas, inmunológicas e infecciones intestinales; es también una experiencia de vida, de intercambio y reciprocidad entre el niño y quien le brinda, además del alimento, cuidados y afecto, generando formas sutiles de integración social y cultural. Sin embargo, las situaciones que pueden dificultar esta práctica, por lo general, están vinculadas a la compatibilidad con el estilo de vida de las madres y razones laborales, entre otras causas, por las cuales se ven obligadas a utilizar sucedáneos de leche materna y derivados de leche de vaca (Vázquez-Román et al., 2014). En este sentido:

> *Los sucedáneos de la leche materna son productos alimenticios que se presentan como un sustituto parcial o total de la leche humana, sea o no adecuado para ese fin. Son «fórmulas lácteas» cuando los nutrimentos proceden principalmente de la leche de vaca, y «fórmulas especiales» cuando el origen es múltiple (uso sólo bajo prescripción médica).* (Vazquez-Garibay, 2016, p.16)

Se hace sumamente necesario ofrecer a las madres una adecuada información, centrada en los beneficios que la LM aporta, como en la correcta preparación de biberones, teniendo en cuenta las enfermedades infecciosas intestinales en menores de cinco años, como la diarrea infantil. Esta es una de las principales causas de morbi-mortalidad en nuestro país, según un informe del Ministerio de Salud de la Nación (Ministerio de Salud, 2011).

Este proyecto de investigación intenta dar una respuesta a esta problemática, asesorando a las madres en las prácticas de preparación de biberones artesanales para evitar su contaminación.

Por esta razón, surge la necesidad de conocer y analizar las técnicas de manipulación y preparación de los biberones que las madres preparan en forma artesanal y su posible asociación con agentes contaminantes en la leche y que son lle-

vados a las salas de pediatría del "Hospital Municipal Dr. Héctor J. D'Agnillo" de la localidad de Marcos Paz (Provincia de Buenos Aires).

Dado que existen escasos estudios que desarrollen el tema investigado, se considera necesario aportar más información acerca de su relevancia dentro del ámbito académico de los profesionales de la salud, como así también generar conciencia y conocimiento en las madres sobre las técnicas seguras de preparación de biberones, con la finalidad de evitar enfermedades derivadas de la mala praxis en su elaboración.

El amamantamiento, la crianza natural y hasta el vínculo afectivo entre madres e hijos se ha ido perdiendo con el correr de los años, sin embargo, es importante destacar las ventajas de la leche materna según recomendaciones de la OMS (2017) y de UNICEF (2019) como un intento más de disminuir el consumo de sustitutos:

- Al contener anticuerpos, protege de enfermedades frecuentes, como son la diarrea y neumonía.
- Reduce la morbimortalidad.
- Alimento accesible que está disponible siempre que lo necesita.
- Creación del vínculo madre-hijo, el proceso de sociabilización comienza en este momento.
- Llega en forma estéril, a temperatura ideal evitando todo tipo de peligro contaminante para el niño.
- Ayuda a desarrollar el sistema inmunológico; permite la colonización de *Lactobacilus bifidus*.
- Proporciona los nutrientes esenciales, especialmente para el Sistema Nervioso Central
- Disminuye la muerte súbita en niños menores de 6 meses.

De la misma manera que emerge la necesidad de conocer sus ventajas, se hace necesario mencionar algunas posibles desventajas que ineludiblemente se deben tener en cuenta:

- Condiciones inadecuadas de higiene de la mamá, que vectoricen bacterias patógenas.
- Cuando se utilizan extractores manuales o mecánicos, no se tiene en cuenta pautas higiénicas, como el uso de agua potable.
- Situaciones en las que la madre presente algún tipo de patología: VIH, drogas anticancerígenas, etc.
- Situaciones en las que el niño presente algún tipo de patología: Galactosemia, Fenilcetonuria, etc.

Resumiendo lo antedicho y afirmando que toda lactancia natural siempre y a pesar de alguna posible desventaja es mejor que "lo artificial", se debe tener en cuenta que cuando la primera opción no es viable se recurre al uso de leche de vaca y sucedáneos de la leche materna entendiéndose como leche de vaca al producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la Autoridad Sanitaria Bromatológica Jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie. Si la leche proviniera de otros animales, se deberá denominar con el nombre de la especie productora (CAA, 1995). Para consumirlo, requiere otros procesos, como, por ejemplo: la pasteurización, que no se describirá en este trabajo.

Derivados de la leche de vaca y sucedáneos de la leche materna

Los sustitutos de leche materna, en su mayoría son elaborados, empleando como materia prima la leche de vaca, haciendo ajustes prácticamente en todos los nutrientes, obteniendo así, un producto semejante a la leche humana, es decir, un sucedáneo de la leche materna es todo alimento comercializado presentado como sustitutivo parcial o total de la leche materna, sea o no adecuado para ese fin. Los sucedáneos no igualan las propiedades de la leche materna y sólo serán indicados en los pocos casos clínicos que lo justifiquen (OMS, 2020). Para cuidar la salud de las niñas y los niños, la Organización Mundial de la Salud (OMS) promulgó en 1981 el Código Internacional de Comercialización de Sucedáneos de la leche materna, que rige en todos los estados que son miembros. En nuestro país forma parte del Código Alimentario Argentino (CAA) que es una Ley Nacional Nro. 18284 y la Ley 26873 de lactancia Materna, Promoción y Concientización Publica.

En la actualidad hay grandes avances en la manufactura y formulación de los sucedáneos de la leche humana:

> *"a) definición de los límites de seguridad de la mayoría de los nutrimentos; b) modificaciones en el perfil de proteínas de forma que se asemejen más a las de la leche humana; c) uso de grasas vegetales en lugar de la grasa de la leche de vaca; d) diversidad en la proporción de los lípidos, con mayor contenido de ácidos grasos indispensables; e) adición de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y muy larga como el ácido araquidónico y el ácido docosahexaenóico, indispensa-*

> *bles en el desarrollo del sistema nervioso central, la retina y la respuesta inmune. Otras innovaciones han sido: la adecuación en el contenido de vitaminas y nutrimentos inorgánicos; la adición de aminoácidos condicionalmente indispensables (vg. Taurina); la adición de nucleótidos, probióticos, prebióticos, etcétera."* (Vázquez-Garibay, 2016, p.16)

En el contexto actual, una gran mayoría de madres utiliza preparados reconstituidos, por eso es de vital importancia conocer a qué se refiriere cuando se dice preparado en polvo. "Se entiende por Leche en Polvo al producto que se obtiene por deshidratación de la leche, entera, descremada o parcialmente descremada y apta para la alimentación humana, mediante procesos tecnológicamente adecuados" (CAA, 2019) También en este reglamento se afirma que: "Se entiende por Leche reconstituida, el producto fluido y homogéneo obtenido por incorporación de agua potable a leche en polvo entera, parcialmente descremada o descremada, mediante un proceso tecnológicamente adecuado, sometida a posterior tratamiento térmico" (CAA, 2019)

Desde la década del 80, se plasma en el CAA, una forma de regulación de Sucedáneos de Leche Materna, resultado del esfuerzo incesante de organismos internacionales como la OMS y UNICEF (Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia), que proponen como objetivo proteger y promover la LM asegurando el uso correcto de sucedáneos cuando estos sean necesarios, sobre la base de una información adecuada y mediante métodos apropiados de comercialización y distribución.

> *"Todo sucedáneo de la leche materna preparado industrialmente, de conformidad con las normas aplicables del Codex Alimentarius, para satisfacer las necesidades nutricionales normales de los lactantes hasta la edad de 4 a 6 meses y adaptado a sus características fisiológicas, esos alimentos también pueden ser preparados en el hogar, en cuyo caso se designan como tales"* (CAA, 2006).

El CAA en el capítulo XVII, articulo 1.340, plantea que los alimentos dietéticos o alimentos para Regímenes Especiales deberán ajustarse a ciertas normas microbiológicas en determinados casos (CAA, 2006):

A. Productos que se consumen después de añadir un líquido
B. Productos que deben cocerse antes del consumo
C. Productos sometidos a esterilización técnica, industrial o comercial y comercializados en envases herméticos
D. Productos listos para consumo, no comprendidos en A), B) o C)
E. Productos para lactantes y niños de corta edad.

Ventajas y desventajas de sucedáneos de la leche materna

En el mercado se encuentra disponible una gran variedad de presentaciones. Dependiendo de la edad del niño, existen: fórmulas de inicio para los primeros 6 meses de vida; fórmulas de continuación desde 6 meses hasta 1 año de vida, y fórmulas adaptadas a diferentes patologías, a saber: fórmulas antirreflujo, deslactosadas, preparados para prematuros, entre otras.

Cuando no es posible la lactancia materna por alguna de las desventajas nombradas anteriormente, se recurre a estas opciones.

Las probabilidades de desarrollar intolerancia alimentaria, alergia a las proteínas de la leche, hemorragias intestinales acompañadas de cuadros de anemia, así como diarreas gastrointestinales; son algunas de las consecuencias que se pueden dar, cuando se decide incorporar la leche de vaca tempranamente y en forma exclusiva. Además, la contaminación asociada es cuando no se utilizan correctamente técnicas de higiene y esterilización y se preparan los biberones contaminando la leche (OMS, 2011).

Pautas para la elaboración

El Comité de Nutrición de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición (ESPGHAN), en consenso con la OMS y UNICEF crearon una serie de recomendaciones sobre aspectos relacionados con el preparado de las mamaderas que se deben seguir estudiando tanto a nivel hospitalario como en el domicilio.

Si bien fue preciso diferenciar anteriormente entre la leche materna y sus sucedáneos para desarrollar las ventajas y desventajas, a continuación, las mismas compartirán las características asociadas a los procesos de preparación y manipulación y las fallas acarreadas cuando no se siguen acciones preventivas.

La contaminación asociada se desprende cuando no se uti-

lizan correctamente técnicas de higiene, esterilización y se preparan los biberones contaminando la leche.

Puntos críticos de control

El CAA establece a partir del Artículo 18 bis, siete principios para obtener productos más seguros para el consumo, aplicando un Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) que si bien, no están aplicados exclusivamente a los biberones, permiten identificar la conservación, limpieza, esterilización, refrigeración y transporte. De esta manera se puede evitar un peligro contaminante antes que ocasione una enfermedad o si este es inminente, poder corregirlo mediante acciones correctoras (CAA, 2008). Los principios que implementa el APPCC son los siguientes:

Principio 1: Se deben analizar los peligros y sus posibles causas.

Principio 2: Determinar los puntos críticos de control (PPC); esto significa identificar el peligro relacionado con la inocuidad de un alimento para eliminarlo o reducirlo

Principio 3: Establecer los límites críticos para cada PCC

Principio 4: Establecimiento de un sistema de vigilancia una vez identificados los peligros

Principio 5: Desarrollar medidas correctoras para utilizar cuando se detectan peligros significativos para la inocuidad de los alimentos. Se entiende por inocuidad a la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan (OMS, 2016)

Principio 6: Comprobar y verificar que todo se aplique correctamente

Principio 7: Establecer un sistema de documentación y registro de todo el proceso.

Los métodos de evaluación de riesgos, como los PCC, sirven como guía para organizar datos e información y poder conocer y comprender mejor la interacción microorganismos-alimentos y enfermedades humanas; también permiten estimar el riesgo para la salud humana (Vargas-Leguás et al, 2009)

El Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias de la Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y el Departamento de Inocuidad de los Alimentos de la OMS son las dos dependencias principales que se ocupan de esta iniciativa.

La salud y la vida de las personas dependen en gran parte de la calidad nutricional de los alimentos que consumen diariamente, que a su vez dependen de la calidad higiénica y sanitaria a los cuales estos son sometidos. Si bien, la falta de higiene y de sanidad en el procesamiento y preparación de los alimentos es un problema que puede ocurrir en cualquier lugar del mundo, la incidencia de enfermedades causadas por los alimentos mal procesados o pobremente preparados es un problema crítico, severo.

Esta carencia de conocimiento técnicos básicos sobre la inocuidad parte de quienes preparan alimentos, se puede considerar como uno de los factores que más contribuyen a las contaminaciones alimenticias, donde indirectamente se ven afectados los grupos más vulnerables.

Como se dijo anteriormente, estas normas deben utilizarse en todas las etapas y se encuentran afectadas tanto las fórmulas en polvo, fluidas como la leche materna.

1. Lavado de manos y uñas antes de la preparación del biberón: Se lavarán las manos y uñas con agua y jabón y luego se secarán con un paño limpio. La utilización de buenas prácticas de higiene reduce el riesgo de que se contaminen las muestras durante la preparación, lo mismo para las superficies y mesadas. Se considera como PCC (Vargas-Leguás et al, 2009).

2. Limpieza y esterilización de los biberones, saca leche y recipientes para almacenamiento: Los peligros detectados en esta etapa están relacionados con la persistencia de restos de fórmulas o contaminantes químicos provenientes de detergentes que se utilizan para la limpieza previa tanto del biberón como de la tetina; esta etapa se considera PCC y la medida preventiva estará orientada a establecer directrices para los procesos de lavado como ser: utilización de agua caliente previo hervido por no menos de 5-10 minutos, y un cepillo especial para retirar los residuos de fórmula (Vargas-Leguás et al, 2009).

En el caso de la extracción materna, antes de comenzar deben higienizarse las manos, el pezón del cual se extraerá la leche con agua y jabón, descartar siempre las primeras gotas, si se utiliza saca leche se debe lavar con agua potable y sanitizante todas las piezas del mismo. Se deben descartar las primeras gotas y el frasco estéril donde se colocará la misma también debe someterse a un proceso de higienización. Para esterilizarlo es necesario llevarlo a temperatura de ebullición por 10 minutos; estos puntos mencionados

también se consideran PCC. Una vez extraída, se colocará en recipientes estériles, de vidrio previamente esterilizados con discos selladores y rotulados con fecha y hora de extracción, o utilizando frasco de PP (polipropileno) sin BPA (bisfenol A, compuesto orgánico, sospechoso de ser dañino para los humanos) disponible en el mercado (Vargas-Leguás et al, 2009).

3. Reconstitución de las fórmulas en polvo: la temperatura con la cual se reconstituye la fórmula en polvo no debe ser menor a los 70°C, por eso esta etapa es considerada PCC; en caso de que la temperatura del agua esté por debajo del límite crítico, esta no se debe utilizar para reconstituir la leche. También es importante mencionar que los envases o latas en polvo deben permanecer cerrados en un lugar donde la temperatura ambiental no supere los 22°C. Es conveniente desechar todos los productos que no garanticen la esterilidad del contenido (Vargas-Leguás et al, 2009).

4. Refrigeración y conservación de la leche materna y sucedáneos: Las temperaturas en esta etapa también son consideradas PCC. Esto se constata en la **Tabla I** (Vargas-Leguás et al, 2009).

5. Cómo descongelar y calentar la LM: Sacar la leche la noche anterior y dejar en la heladera; la misma puede ser administrada en las 24 hs siguientes. Y lo que sobre, debe desecharse (PCC).

No se debe hervir ni poner en el horno microondas si se quiere evitar la desnaturalización de vitaminas y proteínas. Una vez descongelada se puede calentar en un recipiente a baño María (35°C) o directamente debajo del chorro de agua caliente de la canilla (Vargas-Leguás et al, 2009).

6. Almacenamiento y transporte: Si se decide almacenar la leche materna recién extraída es conveniente llenar cada recipiente con 60 o 120 ml y dejar lugar en él, en el caso de que se vaya a congelar, debido a que la leche expande su volumen.

El recipiente se debe rotular con fecha y hora de extracción antes de guardarlo.

Cuando se deja la leche a temperatura ambiente, debe ser en un lugar limpio, seco, protegido de la luz solar y el calor. No se debe almacenar la leche en la puerta del congelador, dado que la temperatura es inestable. La leche que ha estado en la heladera durante 2 días puede ser congelada; si ha estado más de 2 días y menos de 5 días puede darse al bebé, pero no congelarse (Vargas-Leguás et al, 2009). Los biberones que hayan permanecido a temperatura ambiente más de una hora, deben desecharse.

Tabla I: *Influencia de la temperatura en la conservación de la leche.*

Temperatura	Leche materna recién extraído y sucedáneos de leche materna	Leche materna descongelada (previamente congelada)
T° ambiente (25°C)	2-4 hs	No almacenar
T° ambiente (15°C)	12 hs	No almacenar
Refrigerador (4°C parte trasera del refrigerador)	Hasta 5 días (las fórmulas en polvo solo se deben refrigerar por 24 hs)	24 hs
Congelador (dentro del refrigerador-15°)	2 semanas	Nunca se vuelve a congelar la leche descongelada
Congelador con puertas separadas	3 a 6 semanas	Nunca se vuelve a Congelar la leche descongelada
Congelador profundo (rara vez se abre)	6 a 12 semanas	Nunca se vuelve a congelar la leche descongelada

En esta tabla se observa la temperatura apropiada y el tiempo de consumo de la leche materna y sucedánea recién extraída y congelada.

Es posible almacenar en un mismo recipiente la leche que se extrae en distintos momentos del día hasta reunir el volumen deseado; para ello se debe tener en cuenta que la leche debe permanecer refrigerada o congelada y, antes de adicionar la cantidad de leche recién extraída, es necesario dejarla enfriar hasta que alcance temperatura ambiente, luego sí añadirla (Vargas-Leguás et al, 2009).
Las fórmulas reconstituidas no deben almacenarse, es conveniente llevar por un lado el agua caliente y el preparado en polvo y reconstituirlo en el momento de la toma.
La leche se puede transportar en heladeras portátiles que funcionan con pilas refrigerantes o con una botella de agua congelada.
7. Preparación de los biberones hasta su utilización: En esta etapa, al igual que las anteriores, también está el peligro de proliferación de agentes contaminantes. Las medidas preventivas son las siguientes: los biberones se deben retirar de la heladera solo en el momento en que se van a calentar para el consumo; una vez calentados se deberán consumir inmediatamente. Este es un PCC y su límite se ha establecido en el que el tiempo total desde que el biberón se saca del refrigerador hasta acabar el consumo, no debe ser mayor de 2 horas. (Vargas-Leguás et al, 2009)

Microorganismos indicadores de contaminación

Se entiende a la contaminación como la presencia de cualquier materia anormal en el alimento que comprometa su calidad para el consumo humano (Rosas, 2007).
La creciente incidencia de enfermedades transmitidas por los alimentos (en adelante ETAS) durante los últimos decenios está relacionada con un aumento de las enfermedades causadas por microorganismos presentes en los productos alimenticios, en nuestro caso particular, la leche.
La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) en el año 2003 incorporó al CAA (art. 156 tris, 255 y 302), una guía para interpretar los resultados microbiológicos que se encuentran en los alimentos, y que tiene como objetivo consensuar criterios para la detección de microorganismos, evaluar la calidad microbiológica y clasificarlos en relación con los riesgos significativos para la salud y el desarrollo de enfermedades en niños (ANMAT, 2003).
Si bien estas no se usan exclusivamente para leche de mamaderas, algunos criterios para detectar microorganismos en preparación/reconstitución de alimentos pueden ser de gran utilidad.
Criterio microbiológico: se define como la aceptabilidad que tiene un alimento, basándose en la presencia o ausencia, o cantidad de microorganismos.
Dos tipos de microorganismos componen el criterio microbiológico:

1. Organismos indicadores: Su utilización es muy frecuente para evaluar la inocuidad de los alimentos. El análisis microbiológico de alimentos permite evaluar:

- Cantidad de la materia prima, almacenamiento, temperatura, vida útil: se utiliza recuento de aerobios mesófilos (ram)
- Potencial contaminación fecal o posible presencia de patógenos: a través de la presencia de *E. coli*, coliformes fecales.
- Contaminación por manipulación humana a través de: *S. aureus coagulasa positiva*.
- Contaminación post tratamiento térmico utilizando: coliformes, enterobacterias, *Staphilococus coagulasa positiva*, *Streptococcus fecales*.

2. Organismos patógenos: Aquellos que se encuentren en el alimento que puedan convertirlo en un potencial vehículo de enfermedad a quien lo consuma.
Solo se analizaran los microorganismos que son objeto de la investigación: coliformes totales y fecales, *E. coli y S. aureus*.
Las Enterobacterias, nombre que agrupa a los organismos nombrados anteriormente, a excepción de *S. aureus*, son un vasto grupo heterogéneo de bacilos Gram negativos que habita tanto en el intestino de los animales como de los seres humanos; también puede encontrarse en suelo y agua.
En la higiene de los alimentos su presencia indica que han sido manipulados en malas condiciones. Son indicadores de calidad. Dentro del grupo de Coliformes totales es preciso diferenciar a los microorganismos que son sólo de origen intestinal: Coliformes Fecales; fermenta la lactosa a una temperatura entre 44-45,5°C. Aproximadamente 95 % está integrado por *E. coli*. A esta última, la podemos clasificar en los siguientes grupos (Fernández y Marcia-Fuentes, 2021):

- *E. coli enteropatogénica*
- *E. coli enterotoxigénica*
- *E. coli enteroinvasiva*
- *E. coli enterohemorrágica*
- *E. coli enteroagregativas o enteroadherente*

El *S. aureus* es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el humano y en los animales. Es la especie tipo del grupo, considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida. Forma parte de la flora normal del humano, entre 25 y 50% de la población sana está colonizada por esta bacteria, constituyendo un riesgo por su diseminación. Éste puede ser adquirido a través del contacto con otras personas o por exposición al ambiente. Es uno de los microorganismos que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones hospitalarias y comunitarias.

Con lo expuesto anteriormente, se hace necesario poder identificar errores en cuanto a las técnicas de preparación, almacenamiento, conservación y transporte de los biberones de los padres y personas autorizadas en el proceso, para evitar posibles factores contaminantes que actúen desencadenando enfermedades que afecten la salud de los niños.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizó la leche de 30 biberones que las madres o personas autorizadas preparan artesanalmente en el Hospital Héctor José D'Agnillo de la localidad de Marcos Paz durante los meses de febrero, octubre y noviembre del año 2020. Cabe aclarar que hubo un receso debido a la pandemia por Covid-19 y la cuarentena obligatoria, lo que impidió avanzar con la investigación. Por tal motivo las muestras fueron tomadas con tanta diferencia de tiempo.

Como resultado la muestra quedó conformada por 30 padres y/o personas autorizadas en la preparación de biberones. Se elaboró una encuesta que se le realizó a estas personas con el objeto de averiguar cuáles son las técnicas utilizadas en la manipulación, conservación, almacenamiento y transporte de leche en las mamaderas. A los encuestados se les pidió detallar edad, sexo, nivel de escolaridad, tipo de agua y fórmula utilizada. Contó, además, con una columna de observaciones para detallar otros datos que surgieran y fuesen útiles para su mejor comprensión. La información obtenida fue tabulada en una planilla de Excel.

La toma de leche de las mamaderas al igual que las encuestas se realizó por cuota siendo en febrero las primeras 15 muestras y en el mes de octubre/noviembre las 15 restantes, en el Hospital Municipal "Dr. Héctor J. D'Agnillo" del partido de Marcos Paz.

Se analizaron las encuestas realizadas y se detectó contaminación por bacterias coliformes totales (CT) en 30 biberones de leche El diseño del trabajo es de tipo descriptivo transversal.

Para la toma de la muestra se tuvo en cuenta el uso de guantes de látex estériles, frasco estéril, jabón líquido bactericida, solución de alcohol al 70%.

La recolección se hizo a través del siguiente procedimiento:

1. Antes de tomar la muestra en la sala de espera se lavó previamente las manos con agua y sanitizante
2. Colocación de guantes de látex.
3. Desinfección de la superficie de los biberones sin tocar las tetinas con alcohol 70%
4. Colocación de 30 ml de leche en frasco estéril.
5. Rotulado de la muestra y almacenado en freezer de las mismas durante 4 días para luego, transportarlas hasta el laboratorio en recipiente refrigerado acondicionado para el traslado.

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio Lacle (Complet Agro). Primero se procedió al descongelamiento de las muestras a 2-5 °C dentro de las 18hs. Se homogeniza las muestras agitándolas. Se toma 1 ml de leche de la muestra y se hace una dilución 1:10 en solución agua peptonada buffereada. Para determinar la presencia de bacterias coliformes se utilizó la técnica del Número Más Probable (NMP), que consistió en realizar diluciones seriadas de la solución antes mencionada. Se colocó 1 ml en 3 tubos de caldo lactosado invertido para determinar la presencia de gas. Los tubos se incubaron 24 hs a 37°C; transcurrido este tiempo, se procedió a la lectura de los resultados. Se seleccionó la dilución más alta en la que se observó la presencia de gas en los tres tubos con caldo lactosado simple, y se tomó una asada de los tubos con gas para sembrar en un medio de cultivo ENDO-Les, y se incuba a 37°C en estufa durante 24-48 hs.

La lectura de las pruebas revela que las colonias rosas o ro-

sadas son características de coliformes (enterobacterias lactosa positivas). Las colonias incoloras y traslúcidas son características de bacterias Gram-lactosa negativo.

Las pruebas positivas se volvieron a incubar para la detección de *E. coli*, utilizando agar Mac Conkey incubando las placas invertidas por un periodo de 18-72 hs a 37 °C y dando como resultado colonias rojas, grandes rodeadas de un halo turbio.

Para *S. aureus* se siembra por agotamiento en agar manitol salado, y se incuba utilizando mismos parámetros que el anterior (ANMAT, 2016). Y se observan como resultado, colonias con halo amarillo luminoso. Para un estudio futuro, sería importante contar con la colaboración de algún instituto microbiológico para un mayor tamaño muestra. y con un instrumento de medición validado que permita reproducir los resultados y minimizar los sesgos, dando una mayor confiabilidad a los estudios que se lleven adelante.

RESULTADOS

El 87% (n=26) de la muestra fueron mujeres y el 13% (n=4) hombres; con edades que oscilaron entre los 20 y 41 años y con una media de 28 años.

En relación al número de hijos, el resultado quedó establecido de la siguiente manera: el 43% (n=13) tenía 1 hijo, el 47% (n=14) tenía entre 2 a 4 hijos, y el 10% tenía más de 4 hijos (n=3).

Con respecto al nivel de escolaridad, la distribución de la muestra quedó integrada por: el 3% poseía primario incompleto (n=1), el 17% primario completo (n=5), el 13% secundario incompleto (n=4), el 34% secundario completo (n=10), el 3% terciario incompleto(n=1), el 7% terciario completo (n=2), el 20% universitario incompleto (n=6), y el 3% universitario completo (n=1).

De las 30 personas incluidas en el estudio, el 44% (n=13) utilizó para la preparación de las mamaderas leche de vaca fluida, el 23% (n=7) fórmulas especiales, el 30% (n=9) leche de vaca en polvo. Solo una de las muestras recolectadas refirió utilizar leche materna.

Solo una de las 30 muestras dio positivo para *S. aureus*, fue la muestra con mayor carga bacteriana. La madre encuestada comentó utilizar agua potable, pero no utilizaba ningún método para hacerla más segura, solo lavaba el biberón con agua y detergente y posteriormente lo dejaba secar sobre la mesada. Sí afirmó lavarse las manos antes de la manipulación con agua de la canilla, así como también lavar la mesada con la misma. Conservó el biberón en la heladera si este no se administró inmediatamente, y aludió dejarlo alejado de alimentos, transportándolo en un termo de Telgopor. Por último, desechaba los restos que no fueron consumidos.

Con respecto al tipo de agua utilizada en el hogar, de la muestra en estudio (n=30) se evidenció que el 46,6% utiliza agua de la canilla (n=14), de este porcentaje, 8 encuestados la manipulan con filtro, y 6, sin él. El 30% que corresponden a 9 personas expresó utilizar agua envasada y el 23%, es decir 7 personas, agua mineral.

Es necesario señalar que las personas que refirieron usar agua de la canilla sin filtro se encuentran domiciliadas en zonas rurales que solo tienen acceso a agua directamente de pozo diferenciándose así de las que utilizan agua con filtro (agua corriente), residentes de hogares ubicados en el centro del partido de Marcos Paz (Buenos Aires).

Cuando se analizó la técnica utilizada para potabilizar el agua, casi el 50% (n=14), manifestó no utilizar ningún método para garantizar su seguridad, mientras que el 43% hierve el agua por 10 minutos, solo el 7% agrega 3 gotitas de lavandina por litro de agua y el 3% utiliza otros métodos (**Fig. 1)**.

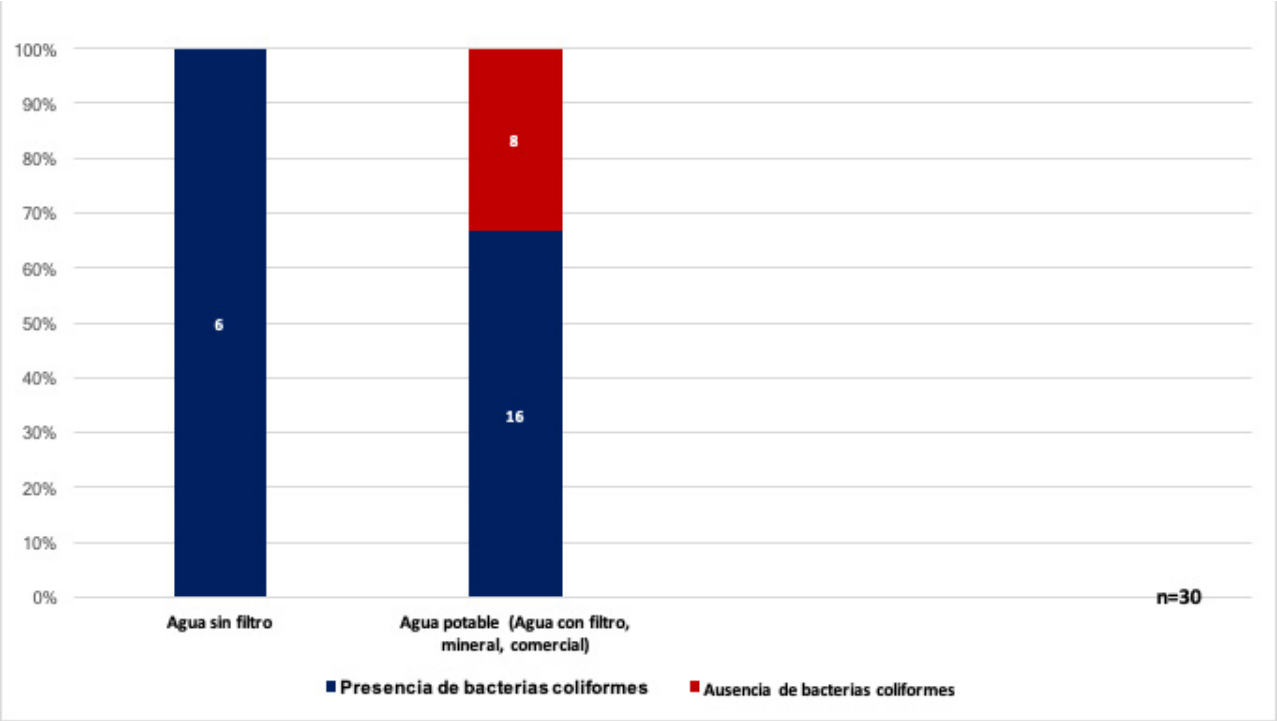

Figura 1. *Relación entre el agua utilizada en el hogar y la presencia o ausencia de bacterias coliformes. Fuente: Elaboración propia.*

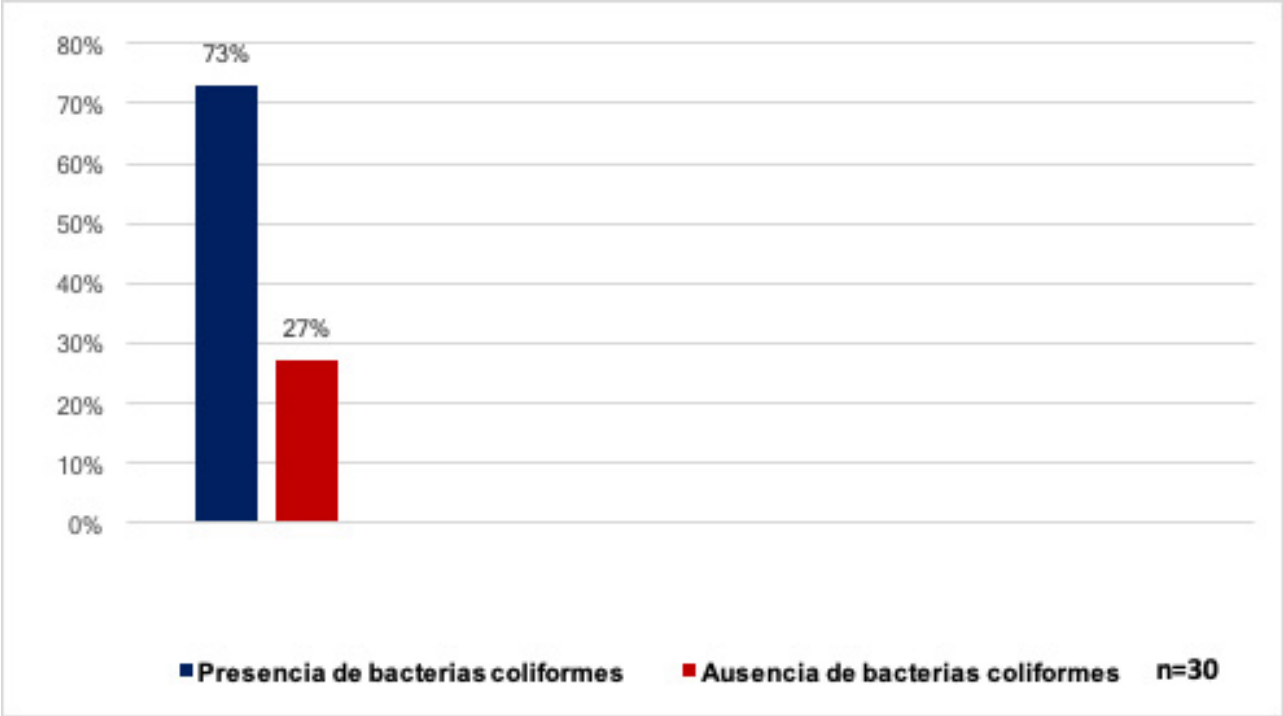

Figura 2. *Distribución de la muestra según la carga de bacterias coliformes totales presentes en los biberones de leche. El 73% de las muestras estaba contaminado. Fuente: elaboración propia.*

Al analizar la variable referida a la presencia o ausencia de bacterias coliformes en la leche de los biberones, la muestra resultante quedó conformada de la siguiente forma: del total recolectados (n=30), se encontró contaminación en 22 muestras, mientras que las que presentaron ausencia de bacterias coliformes fueron 8 muestras (**Fig. 2**).

Del total de muestras analizadas (n=30), el 73,3% (n=22) estaban contaminadas por bacterias coliformes, pero no se especificó a qué grupo corresponden, por lo cual fue preciso interiorizar y discriminar el microorganismo prevalente en el foco de estudio. Se destaca que, del total de las muestras que presentaron evidencia de dichas bacterias (n=22), 15

Tabla II: *Relación entre la forma del uso del agua y la contaminación de biberones lavados con agua de la canilla. Fuente: elaboración propia.*

	Hervida por 10 minutos		Agrega 3 gotas de lavandina/litro		No utiliza ningún método		Otro	
Bacterias Coliformes	N	%	N	%	N	%	N	%
Presencia	9	69,23%	1	100%	10	71,43%	2	100%
Ausencia	4	30,77%	0	0%	4	28,57%	0	0%
Total	13	100%	1	100%	14	100%	2	100%

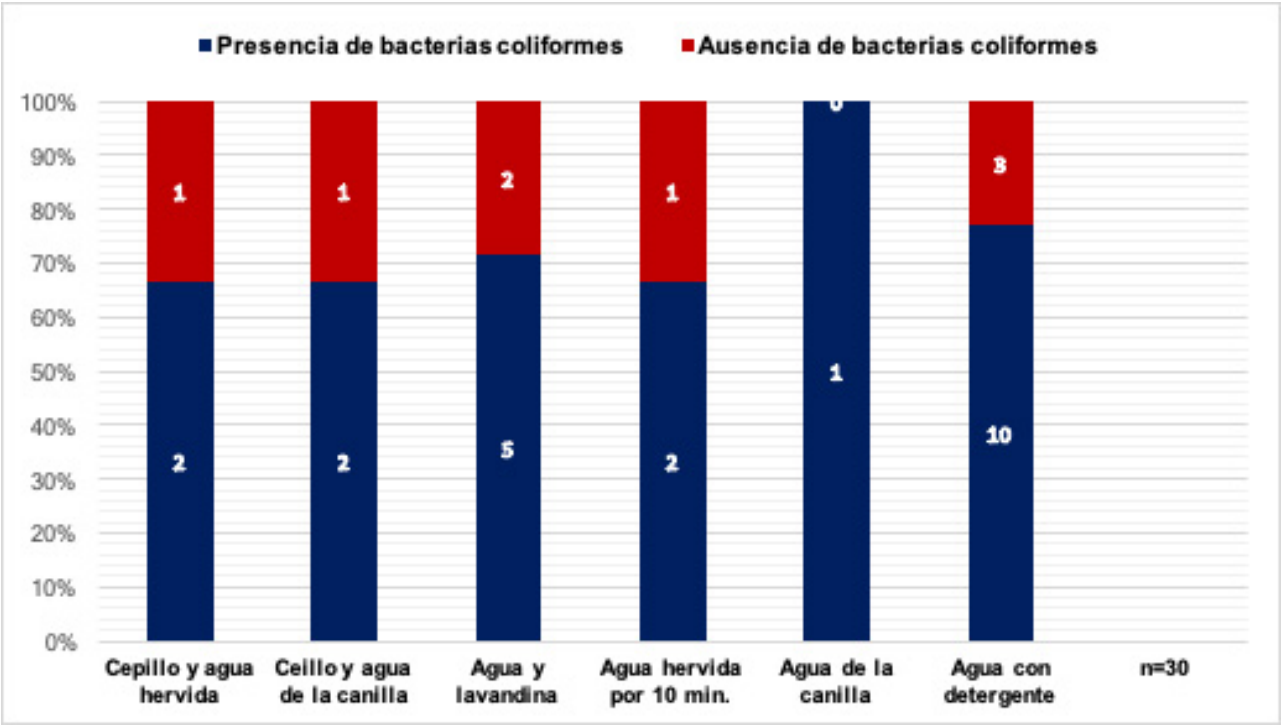

Figura 3. *Relación entre la técnica empleada para el lavado de los biberones y la presencia o ausencia de bacterias coliformes. Fuente: elaboración propia.*

de ellas arrojaron resultados positivos para coliformes fecales, mientras que las unidades analizadas restantes (n=8), se supo que tenían presencia de CT, pero no se especificó de qué grupo debido a no ser una de las variables en estudio.
Para complementar el estudio de forma más exhaustiva, se analizaron las muestras que presentaron contaminación por bacterias coliformes fecales (n=15) y se buscaron en las mismas la presencia o ausencia de *E. coli*. Como resultado final, se obtuvo que se encontraron 9 muestras contaminadas con *E. Coli* del total de las unidades analizadas.
Durante la encuesta, se preguntó a las madres y padres encargados de preparar los biberones las técnicas que utilizaban para garantizar la inocuidad del agua, algunos contestaron que hierven el agua durante 10 minutos y otros no lo hacían. La **Tabla II** refleja que no hay diferencias aparentes con respecto a la contaminación de los biberones, entre los que hierven el agua y los que no lo hacen.
Cuando se realizó el análisis comparativo entre las técnicas utilizadas para la higiene de los biberones y la posible contaminación, se concluyó que las muestras habían sido recolectadas de biberones lavados con agua de la canilla sola, hervida, con lavandina y se aplicó la utilización de detergente y cepillo. De esas muestras, el 70% estaban contaminadas, es decir, que de los 30 biberones de los cuales se obtuvo la leche, 22 estaban contaminados (**Fig. 3**).
Al analizar las técnicas de secado, se concluyó que un porcentaje importante de la población encuestada deja los biberones y tetinas arriba de la mesada para su secado. Otro porcentaje de los encuestados los secan con paños de cocina o secadora de platos. Las tres técnicas de secado del biberón dieron positivo en presencia de contaminación por bacterias coliformes totales, de las cuales, el 68,2% perteneció a coliformes fecales.
Del total de las muestras recolectadas (n=30), la respuesta a la variable sobre la higiene de la superficie fue la siguiente: 22 personas higienizaron la superficie antes de la preparación del biberón del cual se recolectó la muestra, y solo 8 no lo consideraron necesario.
De las 8 personas (27%) que no consideró necesario limpiar la mesada para la preparación del biberón, el 75% presentó la existencia de coliformes
Con respecto a la técnica empleada se obtuvo lo siguiente: 14 personas usaron agua con lavandina como desinfectante, 6 paño o rejilla de cocina que también se usa para la limpieza de las demás cosas del hogar y solo 2 respondieron usar solo agua de la canilla.
La higiene de la superficie de la preparación del biberón influyó significativamente en la contaminación del biberón, arrojando el 75% de contaminación de las 8 muestras que manifestaron no higienizar la superficie (**Fig. 4**).

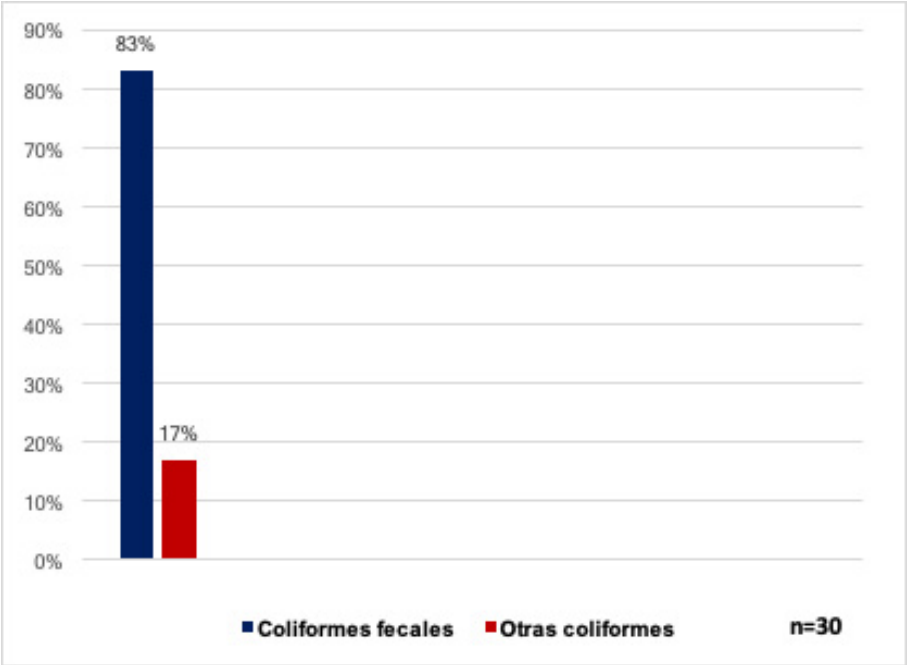

Figura 4. *Distribución y clasificación de la muestra de coliformes totales que no higienizan la superficie antes de preparar el biberón. Fuente: elaboración propia.*

DISCUSIÓN

El presente estudio describe la contaminación en la leche de biberones por las técnicas de preparación empleadas. Se

encontró un número bajo pero creciente de publicaciones sobre el tema.

En el año 1998 en San Pablo, Brasil se realizó un estudio que evaluó el grado de contaminación bacteriana en leche de mamaderas preparadas por madres de hogares de bajo nivel socioeconómico (BNSE) y alto nivel socioeconómico (ANSE); la muestra se obtuvo de 132 madres de lactantes y se lograron como resultados: recuento mayor de bacterias mesófilas y coliformes en grupo de BNSE, más del 55% del total de coliformes el 26% correspondía a *E. coli*. (Morais, 1998), al igual que en este trabajo se llegó a la conclusión de que el déficit en técnicas de manipulación e higiene, así como también la preparación de las mamaderas con agua de grifo (no potable), fueron los causantes de la contaminación.

Por otro lado, en el año 1999 en el Hospital de niños de Bangkok, Tailandia, se llevó a cabo un estudio similar. Se obtuvieron al azar 500 muestras de leche de mamaderas que se habían preparado en los hogares. Se analizaron las muestras y se encontraron como resultado de las mismas, 91.8% de contaminación microbiológicas: *Klebsiella* (56.6%), *Enterobacte*r (41.3%), *Aeromonas* (14.3%), *E. coli* (13.4%), de esta última se aislaron capas enteropatogénicas (7.8%) y enterotoxigénica (3.9%) (Suthienkul et al, 1999). También en este caso, la mayor cantidad de muestras está contaminada por bacterias coliformes, llegando a la conclusión de que las ineficiencias en la manipulación y preparación son causantes de contaminación.

Otro estudio que también relaciona las técnicas empleadas y la manipulación de la leche de los biberones con la contaminación en los mismos es el presentado en la ciudad de Mérida, Yucatán, México. En el año 2006 en una guardería se llevó a cabo un estudio dividido en dos etapas: 1) retrospectivo obteniendo información de los expedientes de la guardería y 2) prospectivo mediante un seguimiento a los niños para describir la presencia de coliformes fecales y mesófilos aerobios en manos del personal, superficie de contacto y alimentos que se tomaban con la técnica del hisopo al azar. Los resultados del estudio arrojaron los siguientes datos: con respecto a las coliformes fecales se encontraron en leche, en las mesas del comedor y en el piso del salón de lactantes; mesófilos aerobios se encontraron en: leche, biberones y en los juguetes de los lactantes. El estudio microbiológico demostró: presencia de coliformes, *E. coli*, entre otros (Alonzo-Salomón et al., 2006).

En abril de 2013 se publicó un estudio transversal, que fue realizado entre abril del 2009 y enero del 2011. Permitió comparar el riesgo de contaminación en muestras de leche recién extraídas en el hospital y en el hogar por madres de neonatos. Se recolectaron y analizaron 280 muestras de leche de 53 madres, los resultados mostraron lo siguiente: 139 muestras presentaron contaminación, fueron más frecuente de las que se obtuvieron del domicilio (Serra et al., 2013).

Otro trabajo que muestra la importancia de las técnicas empleadas y la manipulación en la leche de biberones es el realizado en el año 2016 durante el periodo de enero-marzo. Se realizó un estudio descriptivo y trasversal en el cual se analizaron los factores influyentes en la aparición de enfermedades diarreicas en niños menores de 5 años que fueron atendidos en el Centro de Salud Anidados Otavalo, Ecuador. La muestra se conformó por 120 niños menores de 5 años que recibían alimentación a través de leche materna y leche de biberón. El resultado arrojó que el 64,2 % de los niños con EDA, recibían alimentación en biberones, por lo que en las muestras se detectó presencia de *Salmonella* y *E. coli* (Flores Cruz, 2017).

CONCLUSIÓN

Del intenso análisis de cada uno de los resultados, así como también de los datos de laboratorio obtenidos, se pudo concluir que las Técnicas de Preparación, Conservación y Transporte de leche de biberones que preparan padres o personas autorizadas, tienen una alta implicancia como vectores de contaminación cuando no se realizan en condiciones correctas; del total de muestras recolectadas (30), el 73% presentó altos niveles de Bacterias coliformes, exactamente 22 muestras contenían patógenos microbiológicos; de esas 22 muestras, 9 contenían *E. coli* y solo una muestra de las 30 presentó *S. aureus*.

Uno de los puntos que llamó la atención fue que del porcentaje de población encuestada que utiliza agua de pozo, tanto para la higiene como para la preparación de biberones, el total presentó contaminación.

Los hombres que presentaron contaminación, casi todos seguían los mismos patrones tanto a nivel de higiene como de manipulación y conservación.

Otro punto relevante en este trabajo, dado que la segunda tanda de muestras se recolectó con una pandemia instaurada es que, con las recomendaciones higiénicas por parte de la OMS para evitar el COVID-19 se esperaría que la calidad microbiológica hubiese mejorado, pero no se notó ningún cambio.

Para finalizar, por los resultados del presente trabajo y de otros trabajos actuales de la misma temática se recomienda a la población la implementación de talleres, tanto para la promoción de la lactancia materna, como para mejorar la información sobre buenas prácticas de preparación, almacenamiento, conservación y transporte de leche cuando se la utiliza para el proceso de preparar biberones.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de Morón, al Hospital Municipal Hector D'Agnillo de la localidad de Marcos Paz, al laboratorio Lacle y un agradecimiento especial a mi tutora de Tesis, Lic. Karina Cuello y a la directora, Farmacéutica Cristina Sedeño.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. ANMAT (2003) *Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos*. Artículos 156 tris, 255 y 302 del Código Alimentario Argentino (según la modificación / inclusión por la Resolución Conjunta SPyRS / SAGPyA Nº 79/04 y 500/04) Recuperado de: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf

• Cámara Argentina de Comercios y Servicios (2019). Reglamento Técnico MERCOSUR de Identidad y Calidad de Leche en Polvo. 12/02/2019 (BO 25/03/2019) Recuperado de: https://www.cac.com.ar/data/documentos/20_Res.%20Conj.%20SRGS%20y%20SAB%209-19.pdf

• Código Alimentario Argentino. (1995). CAP. VIII. *Alimentos Lácteos*. Art. 554. Recup.: http://alimentosargentinos.gob.ar/contenido/marco/CAA/Capitulo_08.htm

• Código Alimentario Argentino. (2013) CAP. II. *Condiciones Generales de las Fábricas y Comercios de Alimentos.* Recuperado de: http://www.antat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO II.pdf

• Código Alimentario Argentino. (2006) CAP. VIII; art 554. *Productos Lácteos*. Recuperado de: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO VIII.pdf

Código Alimentario Argentino. (2006) CAP. XVII; *Alimentos de Régimen Dietético*. Recup. de: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO XVII.pdf

• Código Internacional de Comercialización de Sucedáneos de la Leche Materna: preguntas frecuentes (actualización de 2017), Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud, 2017. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Catalogación (CIP): puede consultarse en http://apps.who.int/iris/.

• Fernández S, Marcia Fuentes J (2021). Enfermedades transmitidas por alimentos. Una alerta para el consumidor. *Revista Multidisciplinar*. 5 (2) Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/351613346_Enfermedades_transmitidas_por_Alimentos_Etas_Una_Alerta_para_el_Consumidor

• Flores Cruz VM (2017). Factores influyentes en la aparición de enfermedades diarreicas en niños menores de 5 años atendidos en el Centro de Salud Anidados Otavalo, periodo Enero-Marzo 2016 [Tesis de pregrado, Universidad Técnica del Norte]. Recuperado de http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/6236

• Ley 18284. Código Alimentario Argentino. Normas para producción, elaboración y circulación de alimentos para consumo humano en todo el país (1969) Publicado en el Boletín Nacional, 28 de julio de 1969.

• Ley 26873. Salud Pública. Lactancia Materna. Promoción y concientización pública. (2013) Publicado en el Boletín Nacional, 7 de agosto de 2013.

• Ministerio de Salud (2011). Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. *Mortalidad por enfermedades infecciosas intestinales en menores de 5 años.* Guía para la prevención y tratamiento de la Diarrea aguda. Cap. 8. pp37. Recuperado de: https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000314cnt-s04-diarrea-aguda.pdf

• Morais T. (1998). Bacterial contamination of the lacteal contents of feeding bottles in metropolitan São Paulo, Brazil. Recuperado de: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ pubmed/9648358

• Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2007) *Preparación, almacenamiento y manipulación en condiciones higiénicas de preparaciones en polvo para lactantes.*

directrices. Recuperado de: http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/pif_guidelines sp.pdf

• Organización Mundial de la Salud. OMS. (2007) *Como preparar sucedáneos en polvo para lactantes en entornos asistenciales.* Recuperado de: http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/PIF_Care sp.pdf

• Organización Mundial de la Salud. OMS. (2016) Centro de Prensa: *La lactancia Materna exclusiva durante los primeros 6 meses es lo mejor para todos los niños*. Recuperado de: http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2011/breastfeeding 20110115/es/

• Organización Mundial de la Salud (2017). 10 datos sobre la lactancia materna. https://www.who.int/features/factfiles/breastfeeding/es/

• Organización Mundial de la Salud, O. (2020). Código internacional de comercialización de sucedáneos de la leche materna. *Padres Y Maestros / Journal of Parents and Teachers*, (137-138), 26-30. Recuperado a partir de https://revistas.comillas.edu/index.php/padresymaestros/article/view/7606

• Organización de las Naciones Unidas. FAO. (2009) *Enfermedades transmitidas por los alimentos y su enfoque socioeconómico*. Recuperado de: http://ftp.fao.org/docrep/fao/011/10480s/10480s.pdf

• Organización Panamericana de la Salud (2010). *La alimentación del lactante y del niño pequeño: Capítulo Modelo para libros de texto dirigidos a estudiantes de medicina y otras ciencias de la salud.* Recuperado de: https://paho.org/hq/dmdocuments/2010/IYCF_model_SP_web.pdf

• Rosas M. (2007) Contaminaciones alimentarias. *OFFarm*. *Vol.26.* (6), pp.95-100

• Alonzo-Salomón J, Heredia-Navarrete MR, García-Roque O (2006). Coliformes fecales y mesofílicos aerobios en alimentos, superficies y manos del personal y niños de una guardería. *Revista biomédica*. 17 (2). Recuperado de: https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/442/453

• Suthienkul O, Siripanichgon K, Promachot P, Echeverria P, Lexsomboon U, Rakue Y. *Bacterial contamination of bottle milk in infants under 6 months in Children's Hospital*, Bangkok, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1999 Dec; 30(4):770-5. PMID: 10928374. Recuperado de: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10928374/

• UNICEF (2019). Lactancia materna, más que un alimento. Consejos para amamantar con confianza. https://www.unicef.org/uruguay/lactancia-materna-mas-que-un-alimento

Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmaun (2015) Calidad Microbiológica de superficies vivas e inertes en contacto con los alimentos de los comedores populares del distrito de Ciudad Nueva Regio, Tacna. Recuperado en: http://redi.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1921/611_2015_garcia_iquise_fn_faci_biologia_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y

• Vargas-Leguás H, Rodríguez-Garrido V, Lorite-Cuenca R, Pérez-Portabella C, Redecillas-Ferreiro S, Campins-Martí M (2009). Guía para la elaboración de fórmulas infantiles en polvo en el medio hospitalario. Sistema de análisis y peligros y puntos de control críticos. *Anales de Pediatría*, 70(6) Recuperado de: https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2009.01.006

• Vázquez-Garibay E (2016). Primer año de vida. Leche humana y sucedáneos de la leche humana. *Gaceta médica de México. 152* (1), pp.16.

• Vázquez-Román S, Bustos-Lozano G, López-Maestro M, Rodríguez-López J, Orbea-Gallardo C, Samaniego-Fernández M, Pallás-Alonso CR (2014) Impacto en la práctica clínica de la apertura de un banco de leche en una unidad neonatal. *Anales de Pediatría.* DOI: 10.1016/j.anpedi.2013.11.011

• Serra VV, Teves S, López de Volder A, Ossorio F, Aguilar N, Armadans M (2013) Comparison of the risk of microbiological contamination between samples of breast milk obtained at home and at a healthcare facility. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/pdf/aap/v111n2/v111n2a06.pdf