

**UNIVERSIDAD GALILEO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**Efecto de la Acidez en la Concentración de Inmunoglobulina A
Secretora en Muestras de Calostro**

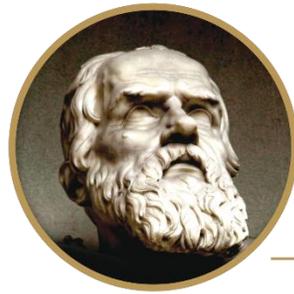


NATALIA MERCEDES TOVAR GIRÓN

GUATEMALA, JUNIO DEL 2022

UNIVERSIDAD GALILEO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**Efecto de la Acidez en la Concentración de Inmunoglobulina A
Secretora en Muestras de Calostro**



Galileo
UNIVERSIDAD

La Revolución en la Educación

**TRABAJO DE TESIS PRESENTADO A LA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE:**

**QUÍMICA BIOLÓGICA
EN EL GRADO ACADÉMICO DE**

LICENCIADA

AUTORES.

NATALIA MERCEDES TOVAR GIRÓN

GUATEMALA, JUNIO DEL 2022

**MIEMBROS DEL CONSEJO DIRECTIVO
DE UNIVERSIDAD GALILEO**

Dr. José Eduardo Suger Cofiño. Ph.D.
Rector

Dra. Mayra Roldán de Ramírez
Vicerrectora

Lic. Jean Paul Suger
Vicerrector Administrativo

Lic. Jorge Francisco Retolaza, M. Sc.
Secretario General

**MIEMBROS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
FACISA GUATEMALA**

Dra. Vilma Judith Chávez de Pop
Decana

Lcda. Glenda Escalante
Coordinadora Académica
Licenciatura en Química Biológica

Dr. Rodolfo Froilán Juárez Tobías, Ph D.
Director Sede Quetzaltenango

**JURADO NOMBRADO PARA LA DEFENSA DE TESIS DENOMINADA:
Efecto de la acidez en la concentración de inmunoglobulina A secretora en
muestras de calostro**

Lic. Roberto Andrés Calderón Muñoz

Catedrático

Lic. Antony Francisco Obdulio Cifuentes Mérida

Catedrático

Ing. Christian Edy Villegas Custodio

Catedrático

**Efecto de la acidez en la concentración de inmunoglobulina A secretora en
muestras de calostro**

Solamente el autor es responsable del contenido y validez del presente
informe de investigación



Guatemala, 06 de junio de 2,022

Doctora:
Vilma Chávez de Pop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Galileo

Estimada Dra. Chávez:

Tengo el gusto de informarle que he realizado la revisión de trabajo de tesis titulado:
"Efecto de la Acidez en la Concentración de Inmunoglobulina A Secretora en Muestras de Calostro de la alumna: Natalia Mercedes Tovar Girón"

Después de realizar la revisión del trabajo he considerado que cumple con todos los requisitos técnicos solicitados, por lo tanto, el autor y el asesor se hacen responsables del contenido y conclusiones de la misma.


Licda. Claudia María Galindo García.
Asesor de Tesis

Licda. Claudia María Galindo García
Química Bióloga
Colegiada No. 3875



Guatemala, 06 de junio de 2,022

Doctora:
Vilma Chávez de Pop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Galileo

Respetable Dra. Chávez:

De manera atenta me dirijo a usted para manifestarle que la alumna: **Natalia Mercedes Tovar Girón**, de la Licenciatura en Química Biológica, culminó su informe final de tesis titulado: **"Efecto de la Acidez en la Concentración de Inmunoglobulina A Secretora en Muestras de Calostro"** Ha sido objeto de revisión gramatical y estilística, por lo que puede continuar con el trámite de graduación.

Atentamente,


Dr. José Alfonso Castillo Anleu M.Sc. / M.A.
Revisor Lingüístico
Universidad Galileo

Mtro. José Alfonso Castillo Anleu
M.A./FAHUSAC - M.Sc./GALLEO



Guatemala, 26 de febrero de 2022

**Señorita
Natalia Mercedes Tovar Girón
Presente.**

Respetable Señorita:

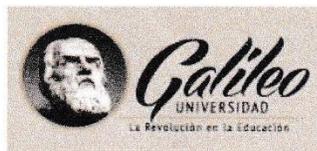
Tengo el gusto de informarle que ha sido aprobado su punto de Tesis, previo a optar por el diploma de la **Licenciatura en Química Biológica**, cuyo título es **“Efecto de la Acidez en la Concentración de Inmunoglobulina A Secretora en Muestras de Calostro”**

Al mismo tiempo le informo que ha sido aprobada la designación de la Licda. Claudia Galindo como asesor de su trabajo de graduación.

Atentamente,



Dra. Vilma Chávez de Hop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud



Quetzaltenango 20 de junio de 2022

**Señorita
Natalia Mercedes Tovar Girón
Presente.**

Respetable Señorita:

Tengo el gusto de informarle que después de haber revisado su trabajo de investigación de Tesis para la **Licenciatura en Química Biológica**. Cuyo título es: **“Efecto de la Acidez en la Concentración de Inmunoglobulina A Secretora en Muestras de Calostro”** y de haber obtenido el dictamen de su asesor específico, le autorizo la publicación del mismo.

Aprovecho la oportunidad para felicitarlos por el magnífico trabajo realizado, el cual es de indiscutible beneficio en el área de la Química Biológica.

Atentamente,

Dra. Vilma Chávez de Pop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud

DEDICATORIA

A Dios: por haber siempre estado a mi lado, iluminando mi camino en todo momento y permitirme culminar otra etapa importante en mi vida.

A Mi Madre: Mónica Mercedes Girón Caballeros, por su amor incondicional, y ser un gran ejemplo de lucha y superación para mi vida, gracias por siempre confiar en mí y brindarme todo lo necesario para salir adelante.

A Mi Padre y Hermanos: Julio Tovar, Alejandro y Samanta por su apoyo a lo largo de mi vida, y haber estado en mis buenos y malos momentos.

A Mis Abuelos: Víctor Girón y Mercedes de Girón por siempre formar parte de mis éxitos y compartir cada aventura a mi lado, por su inmenso amor y consejos, son una parte fundamental en mi vida.

A Mi Mejor Amiga: Gaby Lima por estar presente a lo largo de toda mi vida, pasamos por muchas aventuras inolvidables, gracias por alegrarme los días y siempre apoyarme, te quiero un montón.

A Diego Alvarado: por ser una luz en mi vida, por su apoyo incondicional y alentarme para alcanzar mis objetivos.

Índice General

Introducción	1
Capítulo I.....	2
Planteamiento del Problema.....	2
2.1. Delimitación Del Problema	4
2.2. Ámbito Geográfico	4
Justificación	5
Objetivos	7
4.1. General.....	7
4.2. Específicos	7
Hipótesis	8
Variables.....	9
Capitulo II.....	10
Fundamento Teórico.....	10
7.1. Leche Materna	10
7.1.1. Tipos de Leche Materna.....	10
7.1.2. Lactogénesis.....	12
7.2. Composición de la Leche Humana	13
7.2.1. Nutrientes	13
7.2.2. Componentes Celulares.....	17
7.2.2. Propiedades inmunológicas	18
7.3. Generalidades de Inmunoglobulina A.....	19
7.3.1. Inmunoglobulina A secretora.....	19
7.4. Bancos de Leche Humana	23
7.4.1. Bancos de Leche en Guatemala.....	24
7.4.2. Aspectos Técnicos del Banco de Leche.....	25
Capitulo III.....	35
Metodología	35

8.1. Enfoque.....	35
8.1.1. Nivel.....	35
8.1.2. Diseño	35
8.1.3. Método.....	35
8.1.4. Técnicas.....	35
8.2. Unidad de Análisis.....	35
8.3. Aspectos Éticos	36
8.4. Instrumentos.....	37
8.5. Procedimiento.....	38
8.5.1. Recolección de Muestras.....	38
8.5.2. Preparación de Muestras.....	38
8.5.3. Determinación de Acidez Dornic.....	39
8.5.4. Medición de IgAs	39
8.6. Forma de Tabulación.....	40
Capitulo IV.....	42
Análisis de Datos	42
Discusión de Resultados	45
Conclusiones.....	48
Recomendaciones.....	49
Referencias Bibliográficas	50
Anexo.....	55
14.1. Carta de Autorización	55
14.2. Instrumento	56

Índice de Tablas

Tabla 1. Variables	9
Tabla 2. Composición del calostro y leche madura	16
Tabla 3. Conservación de la leche humana	27
Tabla 4. Correlación de variables	44

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura de IgA	21
Figura 2. Almacenamiento de leche materna pasteurizada	26
Figura 3. Grados de acidez Dornic en calostro crudo	42
Figura 4. Correlación de IgA según acidez Dornic en calostro crudo	43

Introducción

La leche humana es considerada como fuente principal de alimento de elección para los recién nacidos pretérmino, dado que posee más de 250 constituyentes, como elementos inmunológicos y factores que proporcionan una adecuada nutrición, mismos suficientes para cumplir las necesidades fundamentales del lactante contribuyendo a su crecimiento, desarrollo físico y psicológico. La composición y volúmenes de secreción de leche materna varía tanto en el transcurso del día como de la misma lactada, y por características genéticas, tiempo de gestación y lactancia, hábitos alimenticios y estado nutricional de la madre (Moreira, N.R., 2011).

En el calostro la concentración de IgA se ve elevada pero conforme aumenta la producción de leche va declinando. La IgA es la inmunoglobulina más importante en la inmunidad de mucosas y la principal en la lactancia materna, ésta cubre el revestimiento interior inmaduro del tracto digestivo previniendo la adherencia de bacterias, virus, parásitos y otros patógenos. (Padrón, S. y Nieto, Z., 2013, p.2)

Considerando la importancia de la inmunidad brindada a los neonatos por medio de la lactancia materna, se realizó la presente investigación que comprende un estudio descriptivo transversal, analítico y sistemático, con el objetivo de relacionar el efecto que tiene la acidez en la concentración de IgA en un total de 39 muestras de calostro del servicio de Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán recolectados durante el periodo de abril a mayo.

Capítulo I

Planteamiento del Problema

La leche materna es esencial para la salud y desarrollo de los recién nacidos, al iniciar la alimentación con lactancia materna durante la primera hora de vida los protege de infecciones, dado que los lactantes corren un mayor riesgo de contraerlas debido a la inmadurez de su sistema inmunológico, además de evitar muertes y protegerlos de la desnutrición.

Por ello UNICEF reconoce la lactancia como la herramienta más costo–efectiva para reducir la morbilidad infantil, y claro ejemplo es que, durante el 2021 a través de los Bancos de Leche Humana en determinados hospitales de la red nacional de Guatemala se beneficiaron a 11 mil 104 lactantes con leche humana pasteurizada, lo que contribuyó a reducir la estancia hospitalaria y la mortalidad de los recién nacidos. Por lo que la lactancia materna es un alimento esencial que les proporciona factores inmunológicos claves contra enfermedades mortales (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2022).

Los factores inmunológicos, se encuentran en diversa naturaleza y en concentraciones variables, haciendo que la leche humana sea el alimento indispensable para prematuros, recién nacidos de bajo peso, y para determinados lactantes inmunodeprimidos, contribuyendo al desarrollo integral de su sistema inmunitario; por lo que debe ser imprescindible para su supervivencia (Aldás, 2015).

Estos factores se transfieren en la leche materna y confieren al lactante protección local intestinal en contra de virus y bacterias. Dentro de las inmunoglobulinas que la conforman, esencialmente en el calostro se encuentra en un 90% una de las más importantes, dada su actividad biológica y concentración alcanzando niveles de 300 mg/ml, disminuyendo en la segunda y tercera semana, permaneciendo constante en la leche: la inmunoglobulina A, y la más significativa en su forma dimérica sintetizada en las células alveolares de la glándula mamaria, la IgA secretora, que posee una acción antiinfecciosa específica capaz de proteger al lactante de un elevado número de infecciones frecuentes (Moreira, N.R., 2011).

Debido a ciertos factores que imposibilitan que los recién nacidos no puedan ser amamantados por sus propias madres, el Banco de Leche Humana (BLH) soluciona esta problemática al dosificarles leche materna pasteurizada, ya sea calostro o leche madura dependiendo de sus necesidades. Y como parte del control de calidad previo a su pasteurización, se determina el nivel de acidez siendo adecuado en un rango de 1–8° D, ya que, si no se recolecta, almacena o procesa la leche materna de manera adecuada, la microbiota primaria o secundaria altera la acidez original por la producción de ácido láctico, por lo tanto, entre más alto denota la presencia de microorganismos y como consecuencia se ve afectada el aporte inmunológico de la leche materna.

De acuerdo a lo anterior, se formula la siguiente interrogante, ¿Cuál es el efecto de la acidez en la concentración de IgA secretora en muestras de calostro del servicio de Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán?

2.1. Delimitación Del Problema

En cuanto a la delimitación espacial, la investigación se realizará en el laboratorio de Banco de leche humana, ubicada en el Hospital Departamental de Totonicapán, en relación a la delimitación temporal se llevará a cabo en el mes de abril a mayo del 2022, y en delimitación de contenido se basará en el tema de inmunología.

2.2. Ámbito Geográfico

Laboratorio de Banco del Hospital Departamental de Totonicapán, Cantón Poxlajuj Km 198 Totonicapán.

Justificación

Una alimentación óptima como el calostro por su alto valor nutricional lo vuelve fundamental para la salud y el desarrollo de los recién nacidos, especialmente en la etapa crítica comprendida entre el nacimiento y los primeros meses de vida, que en comparación con la leche de fórmula y la de vaca, estas no proporcionan las defensas para que el lactante adquiera los anticuerpos necesarios para reducir la incidencia y gravedad de enfermedades infecciosas.

En vista del riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas a través de la lactancia materna, surge la necesidad de pasteurizar y realizar un estricto control de calidad de la leche humana por lo que los bancos de leche juegan un papel importante en poner a disposición de los recién nacidos que se encuentren hospitalizados, un alimento inocuo y que además que con ello obtengan los beneficios nutricionales e inmunológicos que la leche humana ofrece.

De manera que al determinar la acidez ya sea original o desarrollada por medio de un método más sensible como lo es el método Dornic utilizando NaOH 0.111 N, permite detectar pequeños cambios de acidez expresándolos en grados Dornic. Lo que conlleva a que un nivel más alto de acidez está relacionado por el efecto del ácido láctico en la leche lo que disminuye el valor inmunológico por consumo de inmunoglobulinas.

La importancia de realizar esta investigación es debido a la ausencia de estudios previos en el Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán, donde valoren el contenido inmunológico del calostro que se recolecta de los diferentes servicios del Hospital.

Es por ello que se denota el interés de realizar dicha investigación para poder determinar

el efecto que produce la acidez sobre la IgA. Al conocer este efecto será posible identificar y llevar a cabo modificaciones para poder disminuir en el calostro la reducción del elemento inmunológico.

Objetivos

4.1. General

Determinar el efecto de la acidez en la concentración de IgA secretora en muestras de calostro del servicio de Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán.

4.2. Específicos

- Implementar el método Dornic a manera de determinar el nivel de acidez en muestras de calostro crudo.
- Evaluar por medio de espectrofotometría con el fin de conocer la concentración de IgA en muestras de calostro.
- Correlacionar en el calostro el valor inmunológico de IgA con los grados de acidez Dornic.

Hipótesis

1. Si existe relación significativa entre la acidez y la concentración de IgA en las muestras de calostro procesadas durante el mes abril a mayo del Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán.
2. No existe relación significativa entre la acidez y la concentración de IgA en las muestras de calostro procesadas durante el mes de abril a mayo del Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán.

Variables

Tabla 1

Variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida	Indicador
Concentración de IgA en leche humana	Principal Ig de la leche humana presente en forma dimérica, tiene actividad local y posee acción antiinfecciosa. (Moreira, N.R., 2011)	Medición de IgA calostro crudo, por espectrofotometría.	Dependiente	mg/dl IgA	1-3 mg/dl
Acidez Dornic	Técnica basada en una reacción estequiométrica entre la solución alcalina titulable y los constituyentes ácidos presentes en la leche humana. (Ruano, M., Martínez, B.A. y Somarriba, F. 2012)	Evaluación de la acidez de la leche utilizando el método Dornic descrito en los módulos del curso de procesamiento y control de calidad de la leche humana, del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.	Interviniente	Grados de acidez Dornic	Entre 1 y 8 grados de acidez Dornic.
Calostro	Primer producto de la secreción láctica, obtenido en promedio hasta 5 días después del parto. (Moreira, N.R., 2011)	Leche materna extraída, etiquetada y almacenada en el BLH, del Hospital Departamental de Totonicapán.	Independiente	ml/Calostro	Color amarillo

Fuente. Elaboración propia con fines de investigación.

Capítulo II

Fundamento Teórico

7.1. Leche Materna

La leche materna es un fluido biológico complejo, completo, de composición variada y que se adapta a los requerimientos nutricionales e inmunológicos del lactante a medida que éste crece y se desarrolla. Su variación en la composición a lo largo del periodo de lactancia permite clasificar la leche en tres tipos: Calostro, transición y madura (Rodríguez, Barrera, Tibanquiza y Montenegro, 2020).

7.1.1. Tipos de Leche Materna

7.1.1.1. **Calostro.** Es un fluido espeso de coloración amarillenta, debido a su contenido de beta carotenos y su alta densidad, con una alta cantidad de sodio que le confiere un sabor salado, producido en los primeros días del nacimiento, cuyo volumen es de 2–20 ml por toma, es altamente nutritivo por su contenido de vitaminas liposolubles, sodio, zinc, es pobre en lactosa, grasa y vitaminas hidrosolubles, y rico en propiedades inmunológicas debido a la cantidad de linfocitos y macrófagos e inmunoglobulinas, especialmente IgA secretora y anticuerpos, que le transfiere inmunidad pasiva al recién nacido (RN) (Galindo, N.C, Contreras, N.A. y Mancilla, J., 2021).

- 7.1.1.2. **Calostroterapia.** Consiste en la alimentación exclusiva con calostro desde la primera hora de vida en recién nacidos en condiciones de riesgo, como bebés con membrana hialina, aspiración de meconio o nacimientos prematuros. Ayudando a que el desarrollo sea más rápido o acelerando la recuperación por la riqueza nutricional del calostro, además de fortalecer el sistema inmunitario del recién nacido. (Qualipharm, 2019, párr. 3-4)
- 7.1.1.3. **Leche de transición.** Se produce entre el cuarto y décimo día después del parto, es de apariencia blanquecina que se caracteriza por tener una composición química intermedia entre calostro y leche madura, posee una menor cantidad de inmunoglobulinas y vitaminas liposolubles, con mayor cantidad de hidrosolubles, grasa y lactosa. Es el periodo en donde el calostro es sustituido por leche madura en forma gradual (Morales, 2016).
- 7.1.1.4. **Leche madura.** Fluido de color blanco y sabor dulce, conferido por la lactosa, se secreta a partir del día 15 posparto y puede continuar por más de 15 meses. Dentro de los principales componentes presenta una mayor cantidad de grasas encontrándose en 3.8 gramos, así como de lactosa con 7 gramos y contiene 88% de agua y su osmolaridad es semejante al plasma, lo que le permite al niño mantener un equilibrio electrolítico (Quiroz y Quiroz, 2014).

7.1.2. Lactogénesis

Durante el embarazo se generan cambios en todo el cuerpo por efectos hormonales, uno de ellos obedece al proceso de lactogénesis que prepara al tejido glandular para dar inicio a la síntesis y secreción de la leche por las células epiteliales de los alveolos mamarios.

Moreira en el 2011 menciona que:

La síntesis de la leche se da por un mecanismo de acción-reacción. En la acción aumenta la secreción de lactosa, aumenta la osmolaridad, se eleva la migración de agua y aumento el volumen de la mama, mientras que en la reacción se produce un “edema” donde hay dilatación de los canales. Al aumentar la prolactina desde la concepción hasta unos días antes del parto el proceso de lactogénesis es endócrino y luego del parto el proceso se da por regulación autocrina. (p.29)

7.1.2.1. Lactogénesis I. En esta etapa se producen cambios necesarios para que una mama adulta se convierta en secretora por medio de las hormonas estrógeno y progesterona.

Se desarrolla las redes de los conductos de la glándula mamaria. La porción distal de cada conducto crece y se ramifica. Durante el desarrollo del embarazo, en los fondos de saco de cada conductillo, se modifica el epitelio y cambia a epitelio secretor, diferenciándose en alvéolos.

Además, se establece una organización de unidades lobulillares (formadas por numerosos alvéolos), éstas vacían su producción en un conducto terminal. Desde el segundo semestre del embarazo, la mama está lista para

la producción de leche gracias al inicio de la función de las células alveolares y al almacenamiento de su secreción. (Borja, J.J., 2018, p.7)

7.1.2.2. Lactogénesis II. Se generan cambios para que se inicie la secreción abundante de leche. Ocurre tras el alumbramiento de la placenta y la desaparición de la progesterona. Ante este evento aumenta el nivel de prolactina, y por lo tanto el estímulo de la producción de leche.

A esta etapa también se le conoce como “subida de leche”, que sucede entre las 50–72 horas después del nacimiento e incluso luego de las 72 horas. El recién nacido extrae alrededor de 20 cc de leche en cada toma.

La mantención de la secreción láctea, responde al reflejo de la succión, que estimula la secreción de prolactina (hipófisis anterior) y de oxitocina (hipófisis posterior), induciendo de esta manera la producción y la secreción de la leche. (Borja, J.J., 2018, p.8)

7.2. Composición de la Leche Humana

7.2.1. Nutrientes

La leche materna integra en su composición tres fracciones o fases, que son: emulsión (grasa), suspensión (proteínas) y solución (constituyentes hidrosolubles), que a medida el lactante va succionando el pecho va predominando una u otra. Dentro de estas fracciones se encuentran los macronutrientes y micronutrientes, que son: hidratos de carbono, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales (Tabla 2) (Moreira, N.R. 2011).

- 7.2.1.1. **Agua.** “Representa el 88% a 90%, y se relaciona con el estado de hidratación. Si la madre lactante disminuye su ingesta, el organismo retiene líquidos para mantener la producción”. (Sabillón, F. y Abdu, B., 1997, p.2)
- 7.2.1.2. **Carbohidratos.** “El principal azúcar es la lactosa, que posee un alto valor osmótico que permite mantener la densidad de la leche a través del agua. Además, que se encuentran otros azúcares como la glucosa y galactosa, que beneficia el desarrollo de *Lactobacillus bifidus*”. (Sabillón, F. y Abdu, B., 1997, p.2)
- 7.2.1.3. **Lípidos.** Es el componente que más varía en concentración a lo largo de la lactancia. Tiene una alta cantidad de triglicéridos, además de fosfolípidos y colesterol. Es el vehículo de vitaminas liposolubles propiciando la absorción de las mismas. También son fuente de ácidos grasos esenciales como el ácido linolénico (omega 3) y el ácido linoleico (omega 6), constituyentes vitales en el desarrollo del sistema nervioso central (Sabillón, F. y Abdu, B., 1997).
- 7.2.1.4. **Proteínas.** la caseína constituye el 40% de las proteínas totales. La mayor parte se sintetiza en la glándula mamaria, a excepción de la seroalbúmina que proviene de la circulación. Ejercen una función importante en el crecimiento rápido del lactante debido al contenido de aminoácidos, además que facilita la digestión y la absorción de nutrientes, y contribuyen a la maduración del sistema inmunológico (Borja, J.J., 2018).
- 7.2.1.5. **Vitaminas.** La leche contiene una gran cantidad de vitaminas, las cuales

son necesarias para la absorción de calcio a nivel intestinal y éste a su vez es indispensable para el crecimiento y la mineralización del esqueleto del lactante; están presentes vitaminas liposolubles (Vitamina A, K, E y D), y vitaminas hidrosolubles (Vitamina B2, B6, B12 y C). (Quiroz, M.E. y Quiroz, E.G., 2014, p.7)

7.2.1.6. **Minerales y elementos traza.** “Las cantidades que se encuentran son suficientes para las necesidades del lactante, no influyendo la dieta de la madre en las concentraciones del hierro y calcio”. (Sabillón, F. y Abdu, B., 1997, p.2)

Tabla 2

Composición del calostro y leche madura

Componente	Calostro/100 ml	Leche madura/100 ml
Energía (Kcal)	58	70-75
Agua %	87,2	88
Lactosa g	5,3	7,3
Nitrógeno total mg	360	171
NNP mg	47	42
Proteínas totales g	2,3	0,9
Caseína mg	140	187
Alfa lactoalbúmina mg	218	161
Lactoferrina mg	330	167
IgA mg	364	142
Grasas totales g	2,9	4,2
Ácido linoleico: (% del total)	6,8	7,2
Ácido linolénico		1,00
C20 y 22 poliinsaturados	10,2	2,9
Colesterol mg	27	16
Vitamina A mcg	89	47
Betacaroteno mcg	112	23
Vitamina D mcg	-	0,004
Vitamina E mcg	1280	315
Vitamina K mcg	0,23	0,21
Tiamina mcg	15	16
Vitamina B6 mcg	12	28
Vitamina B12 mcg	200	26
Ácido ascórbico mcg	4,4	4,0
Calcio mg	23	28
Magnesio mg	3,4	3,0
Sodio mg	48	15
Potasio mg	74	58
Cloro mg	91	40
Fósforo mg	14	15
Cobre mcg	46	35
Yodo mcg	12	7
Hierro mcg	45	40
Zinc mcg	540	166

Fuente. Adaptado de *Composición de la Leche Humana* (p.61), 2004, de Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría.

7.2.2. Componentes Celulares

Las células de la leche materna comprenden:

- 7.2.2.1. Macrófagos.** Se producen a partir de los monocitos, desempeñan un papel importante en la inmunorregulación, comprende la fagocitosis de microorganismos, producción de componentes del complemento C3 y C4, enzimas, lactoferrina e inhibición de la respuesta mitogénica de los linfocitos. Los macrófagos participan en la biosíntesis y excreción de lactoperoxidasa y factores de crecimiento celular que aumentan el crecimiento del epitelio intestinal y maduración de enzimas del borde en el cepillo del intestino. Protegen contra hongos, virus y bacterias como E. coli, S. aureus, S. enteritidis, entre otros (Sierra, P.A., s.f.).
- 7.2.2.2. Neutrófilos.** Se encuentran en menor cantidad. Posee una mayor actividad en el tejido mamario al protegerlo de la mastitis. En la leche materna hay 10.6 leucocitos/ml en el calostro, y en leche madura 10.6 leucocitos/ml correspondiendo al 40–60% y 20–30% de PMN respectivamente (Sierra, P.A., s.f.).
- 7.2.2.3. Linfocitos.** Contienen dos clases de linfocitos, los T y B. Se ha reportado que los linfocitos T son los más abundante, y que cumplen con funciones de cooperación–regulación o ser citotóxicos. Su función no está bien determinada, pero supone que contribuye a la defensa de las glándulas mamarias contra infecciones (Calixto, R., et al., 2011).

7.2.2. Propiedades inmunológicas

En vista que, el recién nacido posee un sistema inmunitario inmaduro y se produce la exposición a una gran cantidad de microorganismos, se considera que la leche materna es la “primera vacuna” que recibe, ya que le transfiere componentes inmunitarios como inmunoglobulina IgA, IgG, IgM, e IgE, además de componentes del sistema del complemento, lisozima, factores quimiotácticos, monoglicéridos con actividad antiviral, proteasas, interleucinas, interferón y lactoferrina (Quiroz, M.E. y Quiroz, E.G., 2014).

Los anticuerpos presentes en la leche humana son producidos por plasmocitos originados del tejido linfoide del intestino (placas de Peyer) de la madre durante la gestación y principalmente durante la lactancia. La IgG es el único de los anticuerpos mencionados que pueden atravesar la placenta proporcionándole al feto protección uterina, aunque se ha visto presente en el calostro. Por el contrario, la IgA e IgM no pueden atravesar la placenta, por lo que en la lactancia se alojan en la lámina propia de la glándula mamaria secretándose en la leche materna (López, M., 2021).

La cantidad de inmunoglobulinas va disminuyendo a lo largo de los meses, como respuesta a la adquisición de madurez por parte del sistema inmunitario del recién nacido y por la incapacidad progresiva de absorber proteínas de gran tamaño en el intestino, debida a una disminución de la permeabilidad de éste.

Estudios recientes señalan la existencia de una relación dinámica entre la composición de la leche materna y el estado de salud del lactante, y se ha

detectado un aumento de los anticuerpos en la leche materna ante una infección activa del lactante. (Lapeña, S. y Hernández, M.B,2021, pp. 1-2)

7.3. Generalidades de Inmunoglobulina A

La IgA es la principal inmunoglobulina presente en las secreciones de las superficies mucosas del tracto gastrointestinal, respiratorio, genitourinario, y en secreciones externas como en la leche materna, lágrimas y saliva. Se presenta en dos formas estructurales, como un monómero (IgA circulante) y como un dímero (IgA secretora), el cual está unido por dos moléculas de IgA por un péptido corto, la cadena J (Figura 1) (Hall, J.E., 2016).

7.3.1. Inmunoglobulina A secretora

Es la más importante y se considera como la primera barrera de defensa contra microorganismos patógenos que invaden las superficies cubiertas por secreciones, y que confiere una inmunidad pasiva contra infecciones gastrointestinales y respiratorias a los recién nacidos, dada que la absorción y destrucción de la IgA de la leche por la mucosa intestinal del lactante es extremadamente baja y sus efectos son esencialmente locales, constituyendo la primera línea de defensa frente a los antígenos externos. Promueve la homeostasis intestinal ya que previene las respuestas inflamatorias inapropiadas a patógenos y antígenos nutricionales. Además, la IgA se caracteriza por su resistencia a los ácidos y la digestión enzimática (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G., 2014).

7.3.1.1. **Estructura IgA.** Tiene siempre una estructura oligomérica, inicialmente

dimérica, formada por 2 a 4 monómeros de IgA, los polímeros se encuentran ligados por cadenas polipeptídicas adicionales, como la cadena de unión de 15 kDa (cadena J) y un componente secretor de 70 kDa altamente glicosilada encargada de la estabilización de la estructura polimérica de la IgA, producida en las células epiteliales e involucrado en el transporte transcelular de la IgA para su incorporación en las secreciones. (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G., 2014, p.10)

Hall, J.E. (2016), menciona que:

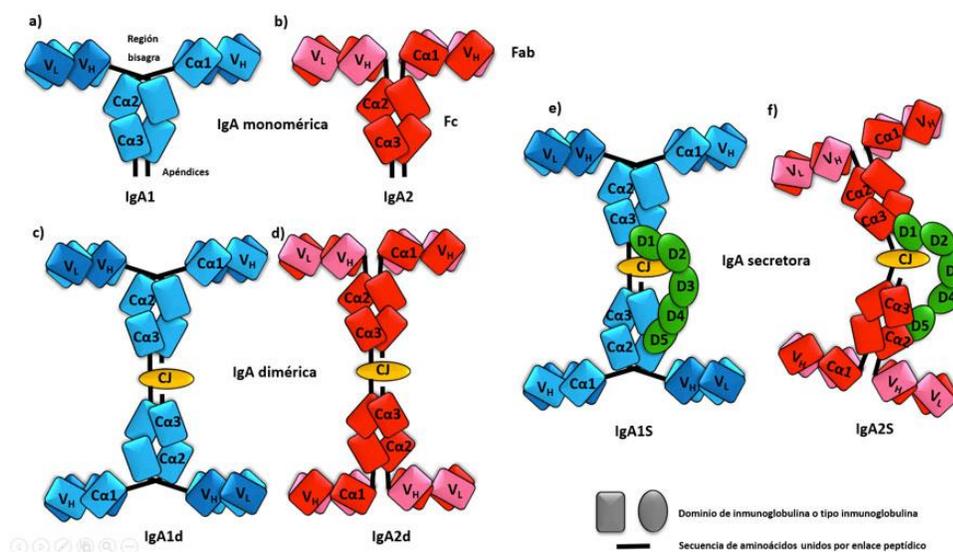
La secreción exocrina aparece por la unión de la IgA a un polirreceptor de Ig (poli-IgR) que se sintetiza por las células epiteliales que atraviesan la superficie mucosa. El complejo IgA-poli-IgR se endocita y es transportado a través de las células epiteliales y secretado a la luz, dando como resultado la fragmentación del complejo, liberando IgA y un residuo de Poli-IgR conocido como cadena secretora. (p.41)

Cada monómero IgA está formado de 4 polipéptidos, dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras κ o λ unidas covalentemente por enlaces bisulfuro. En el humano se presenta dos subtipos de IgA: IgA1 y la IgA2, con características moleculares bien descritas y con una distribución anatómica bien definida.

Las cadenas pesadas de IgA1 e IgA2 difieren solamente por 22 aminoácidos, tales diferencias estructurales le otorgan a la IgA2 resistencia a la acción de proteasas bacterianas que cortan específicamente a la IgA1 en la región de la bisagra. (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G., 2014, p.10)

Figura 1

Estructura de IgA



Fuente. Adaptado de *Estructura de los subtipos de la IgA*, por Santos, L., Sánchez, E. y Guzmán, H., 2019, Avance y Perspectiva.

7.3.1.2. **Respuesta Inmunológica a IgA.** Según estudios realizados se ha determinado que parte de la inmunidad específica contra microorganismos y antígenos alimentarios depende de la exposición de la madre a las infecciones del tracto gastrointestinal durante el embarazo, en donde se ha encontrado

niveles más altos de IgA2 en el calostro.

Por lo que, los antígenos que llegan al intestino son capturados por las células M y son transportados a las placas de Peyer, donde los macrófagos se los presentan a los linfocitos T, estimulando la producción de linfocitos B que hacen proliferar las células precursoras productoras de anticuerpos (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G., 2014, p.10). De igual manera ocurre en las mujeres que cursan un mayor número de infecciones en el tracto respiratorio y en la piel, predominando en el calostro la respuesta por la IgA1.

Durante el embarazo, a través de la regulación hormonal, los precursores de las células plasmáticas IgA1+ ($\alpha 4\beta 1+$) o IgA2+ ($\alpha 4\beta 7+$) pueden migrar desde los sitios inductores (como la piel, tracto gastrointestinal y vías respiratorias altas) a la glándula mamaria y residir en la periferia de los acinos mamarios hasta el momento de la lactancia. La IgA materna es producida localmente por las células plasmáticas en los acinos mamarios y transportada al calostro y la leche por medio de la transcitosis. Jugando un papel importante en el RN en su protección, a través de la exclusión inmunológica y el mantenimiento de la homeostasis. (Santos, L., Sánchez, E. y Guzmán, H., 2019, párr.5-8)

Los anticuerpos IgA específicos no activan el complemento ni estimulan la fagocitosis como lo hacen los anticuerpos IgG e IgM, sino que se unen directamente a bacterias y virus y de este modo se previene el contacto entre los microorganismos y las células epiteliales del huésped y lo protegen contra la invasión hística y la infección o previenen la unión de las toxinas con los receptores epiteliales, la colonización del tracto gastrointestinal por microorganismos causantes de enfermedad. (Riverón, R.,1995, párr.8)

7.3.1.3. Valores Normales de IgA. El calostro tiene 300 mg/ml de IgA y tiende a disminuir en la segunda y tercera semana, luego mantiene una concentración de 100mg/100ml en la leche madura permaneciendo constante llegando a su nivel más bajo hasta el final de la producción de la leche materna. Se mantiene una producción diaria de 2-3 g de IgA y lactoferrina. Un recién nacido alimentado únicamente por pecho materno recibe aproximadamente 0.2-0.3 g/kg/día de IgA de la que solo llegará al torrente sanguíneo tras su absorción aproximadamente un 10%. (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G.,2014, p.12)

7.4. Bancos de Leche Humana

Son servicios especializados que proveen leche humana para recién nacidos de alto riesgo (prematuros o con alguna otra condición médica de riesgo), y que se encargan de la promoción, protección y apoyo de la lactancia materna, así como de la ejecución de las actividades de

recolección, procesamiento, control de calidad y distribución de la leche humana pasteurizada.

(Moreira N.R, 2011, p.13)

7.4.1. Bancos de Leche en Guatemala

La iniciativa de funcionamiento de Bancos de Leche en el país surgió en el 2008, en el marco de un proyecto de cooperación técnica entre Guatemala y Brasil apoyado por la OPS/OMS, siguiendo el modelo de Red de Bancos de Brasil, instituido a partir del establecimiento del primer Banco de Leche en ese país en 1943.

Actualmente se cuenta con 13 Bancos de Leche Humana en hospitales departamentales de la red nacional de Guatemala, siendo:

- Hospital General San Juan de Dios
- Hospital Roosevelt
- Hospital Regional de Cuilapa Santa Rosa
- Hospital Nacional Pedro de Bethancourt
- Hospital Sacatepéquez
- Hospital Departamental de Totonicapán
- Hospital Nacional Santa Cruz del Quiché
- Hospital Nacional de San Marcos “Dr. Moisés Villagrán Mazariegos”
- Hospital Nacional Cobán Alta Verapaz
- Hospital Nacional de Chimaltenango
- Hospital Nacional Infantil Elisa Martínez de Puerto Barrios, Zacapa

- Hospital Nacional Huehuetenango
- Hospital Regional de Occidente, Quetzaltenango

7.4.2. Aspectos Técnicos del Banco de Leche

Es importante que durante el proceso técnico aplicado a las muestras de leche se siga el control de calidad rutinario de los Bancos de Leche Humana, entendiendo la calidad como la validación conjunta de los parámetros analizados individualmente, que son: nutricionales, fisicoquímicos, inmunológicos, fisiológicos y microbiológicos.

De forma general los pasos que se siguen en el BLH son los siguientes:

1. Identificación y selección de donadoras
2. Extracción y recolección de la leche humana cruda
3. Transporte de la leche humana cruda
4. Recepción y almacenamiento
5. Envasado y rotulación
6. Selección y clasificación (Técnicas físicas y químicas)
7. Reenvase
8. Pasteurización
9. Control microbiológico
10. Almacenamiento
11. Distribución

7.4.2.1. Almacenamiento de Leche Materna. Como se observa en la Figura 2, se debe almacenar la leche materna separada de cualquier otro alimento, estar debidamente rotulada y bien tapados los frascos para evitar que la leche adsorba olores u otras sustancias volátiles.

Figura 2

Almacenamiento de leche materna pasteurizada



Fuente. Adaptado de *Banco de Leche Humana, Hospital Departamental De Totonicapán*, Tovar, N.M., 2021.

Es importante mantener las condiciones de temperatura y tiempo a la que se almacena la leche (Tabla 3), ya sea cruda o pasteurizada, considerando que los ingredientes que la conforma constituyen un medio adecuado para el desarrollo de microorganismos.

“Por lo que al aplicar bajas temperaturas inferiores a -0.55°C , punto de congelamiento, afecta el crecimiento bacteriano, reduciendo la velocidad de las reacciones enzimáticas, ampliando la vida útil de la leche humana al minimizar las reacciones químicas indeseables”. (Ruano, M., Martínez, B.A. y Somarriba, F., 2012, p.55)

Tabla 3

Conservación de la Leche Humana

Tipo de Leche	Almacenamiento	Temperatura	Duración
Cruda recién	Refrigerador	Máxima de 5°C	12 horas
extraída	Congelador	Igual o menor de -3°C	15 días
Pasteurizada*	Refrigerador	Máxima 5°C	24 horas
	Congelador	-18°C o menos	6 meses

* Al descongelar no se permite enfriarla o congelarla nuevamente*

Fuente. Esta tabla muestra las condiciones específicas a las que la leche humana puede ser almacenada. Adaptado de *Normas técnicas para el funcionamiento de los bancos de leche humana*, 2012.

7.4.2.2. Pruebas Físicoquímicas. La leche humana posee características físicoquímicas que pueden verse alterada al ocurrir un cambio en la composición de la misma, por condiciones como: cambio de temperatura, microbiota y los compuestos químicos; que pueden llegar a reducir el valor biológico más no la pérdida de calidad sanitaria.

7.4.2.2.1. Coloración de la Leche Humana. El color normal de la leche humana varia de un color semejante al “agua de coco”, hasta un amarillo intenso, e incluso a tonos de celeste y verde. Por lo cual puede cambiar de acuerdo a sus constituyentes, de una determinada fracción, por dieta de la madre, medicamentos e incluso por presencia de bacterias como *Serratia marcescens* y *Pseudomonas*. Por lo que el color de la leche es un indicador para asegurar su calidad (Moreira, N.R.,2011).

7.4.2.2.2. Determinación de Off-flavor. Sirve como un indicador sensorial de no conformidad para la selección de la leche humana extraída. El flavor primario es determinada por los propios constituyentes de la leche por la relación cloruro/lactosa lo que le confiere un sabor levemente dulce. El flavor pasa a ser denominado off-flavor, cuando se ve alterado por el crecimiento de microorganismos de la microbiota o por sustancias volátiles externas por la característica que la lactosa posee una gran capacidad de adsorción (Ruano, M., Martínez, B.A. y Somarriba, F., 2012). Para la determinación se debe agitar vigorosamente el frasco con leche humana, y en campo de llama se quita la tapadera, se deja una distancia entre el campo de llama y se saca los olores moviendo rápidamente las manos desde la boca del frasco hacia la nariz y se aspira (no aspirar directamente). (Ruano, M., et al., 2012, p.65)

Los olores no aceptados en el Banco de Leche son:

- Olor a leche cortada por el proceso de fermentación
- Olor a jabón de coco por el enranciamiento hidrolítico y oxidativo
- Olor a pescado o huevo por la presencia de proteolíticos
- Olor a sustancia volátiles extrañas

La presencia de estas alteraciones y la de suciedades como: pelos, restos de alimento, uñas, insectos, vidrio etc., descalifica la leche humana para su consumo (Guzmán, E.C., Sempé, M.A. y Guzmán, C.E., 2016).

7.4.2.2.3. *Determinación de la Acidez.* La leche materna presenta un pH entre 6.5 y 6.9, conferida por su propia composición (micelas de caseína, fosfatos, citratos y otras sales) y las proteínas del suero. La acidez puede ser original, propia de la leche, y desarrollada derivada del ácido láctico producido por la fermentación de la lactosa de la leche como consecuencia del crecimiento bacteriano de la microbiota primaria o secundaria (Moreira, N.R.,2011).

“Un aumento en la acidez desestabiliza las partículas de proteínas solubles de caseína, promueve la coagulación, incrementa la osmolaridad, altera el flavor y reduce el valor inmunológico, las cuales son fuentes de energía para las bacterias, que son transformadas a ácido láctico que es ionizado en un medio acuoso liberando protones (H⁺), desestabilizando la caseína y volviendo el

calcio y el fósforo indisponible". (Novak, F.R & Cordeiro D.M, 2007, p.1)

Para determinar la acidez se realiza a través de acidez titulable, que es una técnica eficaz para detectar pequeños cambios de acidez. Se basa en una reacción estequiométrica, entre una solución patrón que contenga un titulante alcalino, generalmente una base como el NaOH, y los constituyentes ácidos en la leche humana. Se titula hasta cuando ocurre una completa neutralización indicando el punto final de la reacción observándose de un color rosa claro al emplear una solución indicadora como la fenolftaleína que posee agrupamientos cromóforos en su composición, en donde ocurre una mudanza de color de acuerdo con la mudanza de pH (Guerra, J.A., Guimaraes, V. y Novak, F.R., 2005).

Cuando se utiliza la solución de NaOH 0.111 N, la acidez obtenida es expresada en grados Dornic, que es la unidad de valor del índice de acidez que determina la cantidad de mililitros de hidróxido de sodio necesarios para neutralizar el ácido láctico presente en un 1 ml de muestra. Por lo tanto, cada 0.01 ml gastados de NaOH 0.1 N para neutralizar 1 ml de leche humana corresponde a 1°D. Este procedimiento se realiza por triplicado y el valor se considera aceptable cuando es menor o igual a 8°D (Puyol, 2015).

A través de varios estudios realizados, han concluido que los grados de acidez refleja de manera directa el grado de contaminación mediante recuento de bacterias aerobias mesófilas, por lo que existe correlación entre ambas variables. Por consiguiente, el empleo de esta técnica constituye una herramienta importante e indispensable en el control de calidad en todo banco de leche al ser un excelente parámetro clasificatorio para la leche materna (Morales, P.A., 2016).

7.4.2.2.4. Determinación del crematocrito. La determinación del crematocrito

o porcentaje de crema como es descrita en la Norma técnica BLH-IFF/NT - 30.05 2005, se obtiene tras someter la leche a centrifugación en donde la fracción emulsión arrastra consigo las micelas de caseína, formando la crema que se separa del suero de la leche.

Lo que permite valorar el contenido energético al establecer las calorías que aportan 100 ml de leche materna, al relacionar matemáticamente la crema, suero, grasa y contenido energético, aplicando las siguientes formulas:

$$\% \text{ de Crema} = \frac{\text{Columna de crema en mm} \times 100 \text{ constante, vol. frasco}}{\text{Columna total en mm}}$$

$$\% \text{ de Grasa} = \frac{\% \text{ de crema} - 0.59 \text{ constante}}{1.46 \text{ constante}}$$

$$\text{Kcal/litro} = \frac{\% \text{ de crema} \times 66.8 \text{ constante}}{290 \text{ Kcal/L}}$$

Existe una relación de proporcionalidad entre sí que puede darse de manera directa o indirecta, dependiendo de los constituyentes considerados.

Tal caso es donde los constituyentes liposolubles tienden a relacionarse de forma inversamente proporcional con las proteínas del suero de la leche o proteínas solubles, por lo que a mayor contenido de grasa mayor será el aporte energético y menor será la concentración de inmunoglobulinas y viceversa. (Guerra, J.A., Guimaraes, V. y Novak, F.R., 2005, pp. 43–45)

7.4.2.3. **Pasteurización.** Comúnmente en los Bancos de Leche se utiliza el proceso de pasteurización por el método Holder, que consiste en un tratamiento térmico de las muestras en donde se logra la inactivación del 100% de los microorganismos patógenos. Como consecuencia del calentamiento, la pasteurización causa efectos por degradación sobre algunos componentes de la leche humana, y en un 33% se ve reducida la concentración de IgA,

manteniéndose constantes los micronutrientes y macronutrientes (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G., 2014).

Como parte de este procedimiento se realiza la pasteurización colocando los

frascos en baño de María a $62.5^{\circ} (\pm 0.05)$ centígrados durante 30 minutos, agitando cada uno de los frascos cada 5 minutos. El volumen de leche a pasteurizar debe ser homogéneo en todas las muestras de acuerdo a un patrón de calibración de equipo utilizado.

Al concluir los 30 minutos, se procede al enfriamiento rápido en baño de María para bajar la temperatura igual o inferior a los 5° centígrados rápidamente por inmersión en agua desionizada y alcohol al 95%. Luego de manera estéril se procede a tomar las alícuotas de cada frasco para realizar el control microbiológico (Ruano, M., Martínez, B.A. y Somarriba, F, 2012).

7.4.2.4. Control microbiológico. Con el objetivo de garantizar la calidad del alimento, se realiza un análisis microbiológico para evaluar la presencia o ausencia de coliformes totales.

Se realiza mediante una modificación del método del número más probable, tras el periodo de incubación de 48 horas si se observa formación de gas, se realiza una prueba confirmatoria para coliformes, si se confirma la presencia de coliformes totales, la muestra debe ser descartada. Si no hay presencia de gas, las muestras son aceptadas y son almacenadas para su posterior distribución (Ruano, M., et al., 2012).

7.4.2.5. Distribución. El banco de leche humana únicamente podrá distribuir el alimento que haya sido correctamente procesado y con un adecuado control de calidad. Por lo que serán beneficiados los recién nacidos que presenten

prematurez, bajo peso, con entero-infecciones, diarreas o deficiencias inmunológicas, o en casos especiales (Moreira, N.R., 2011).

Capítulo III

Metodología

8.1. Enfoque

Cuantitativo.

8.1.1. Nivel. Relacional

8.1.2. Diseño. Se realizará un estudio descriptivo transversal, analítico y sistemático.

8.1.3. Método. Deductivo, sincrónico y prospectivo.

8.1.4. Técnicas. Para la recopilación de datos, se obtendrán los valores de acidez Dornic según las técnicas estandarizadas para determinar la acidez en leche materna, y para la obtención de los valores de IgA, se transportará en viales Eppendorff 1.5 ml de cada muestra al laboratorio de la Universidad Galileo para realizar la medición de IgA mediante el método de espectrofotometría, siendo elegido por conveniencia de la investigadora y basado en procedimientos realizados por otros investigadores en la determinación de IgA en leche materna.

8.2. Unidad de Análisis

La investigación comprenderá todas las muestras de calostro de origen intrahospitalario como extra hospitalario que vayan a ser procesados en el Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán durante el mes de abril a mayo 2022.

8.3. Aspectos Éticos

La investigación realizada está catalogada con riesgo inferior mínimo ya que no se efectuará intervención o modificación de las variables.

El consentimiento informado no se realizará, debido a que no habrá contacto directo con las madres donantes ya que los frascos se encuentran en el área de almacenaje. Únicamente se necesitará la aprobación del Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán para la manipulación de las muestras.

El estudio se realizará con la seriedad pertinente en el manejo adecuado durante la recolección, transporte y procesamiento de las muestras, evitando así la alteración de resultados.

La información que se obtenga se utilizará únicamente con fines de desarrollar esta investigación.

8.4. Instrumentos

Equipo

- Autoclave.
- Microbureta.
- Set de pipetas automáticas de volumen variable.
- Espectrofotómetro.
- Baño María.
- Centrifuga.

Reactivos

- Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.111 N.
- Fenolftaleína al 1%.
- Kit para la determinación IgA, de la marca Spinreact.

Materiales

- Puntas de pipeta.
- Caja especial para esterilización de tips.
- Viales Eppendorff 1.5.
- Guantes estériles.
- Mascarilla, bata y gorro descartable.
- Termómetro digital.
- Caja isotérmica con gel refrigerante.

- Gradilla de PVC.
- Mechero de Bunsen.
- Tubos de ensayo.

Material de escritorio

- Marcador permanente.
- Formato de registro de datos.
- Etiquetas.
- Lapicero.

8.5. Procedimiento

8.5.1. Recolección de Muestras

Previo a la pasteurización, del lote que fuera a ser procesado se tomaran todas aquellas muestras que correspondan a calostros debidamente descongelados por Baño María a 40°C. Se mantendrá la cadena de frío hasta el comienzo del análisis, mientras se anotará la información en la boleta de recolección de datos (Moreira, N.R., 2011).

8.5.2. Preparación de Muestras

Se preparan los tubos de ensayo en una gradilla y se colocaran en una hielera con agua y hielo manteniendo la temperatura a 4°C. Con técnicas estériles se homogenizará de manera manual los frascos y se pipeteará cuantitativamente 3 alícuotas de 1 ml de muestra, dispensando en el interior de 3 tubos de ensayo previamente rotulados. Mismo procedimiento se realizará con cada uno de los frascos (Moreira, N.R., 2011).

8.5.3. Determinación de Acidez Dornic

A cada uno de los tubos se añadirá 1 gota de indicador de fenolftaleína, luego se hará la titulación por triplicado de cada alícuota de calostro con ayuda de una bureta conteniendo Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.111 N gota a gota agitando con movimientos leves hasta cuando se presente la titulación, observándose el cambio del indicador a color rosa claro (Moreira, N.R., 2011).

Luego se llevará a cabo la lectura y la anotación de los resultados en el formato, tomando en cuenta que cada gota de NaOH equivale a 1° de acidez Dornic, el valor final corresponde al promedio de los tres valores obtenidos de las tres alícuotas. El rango aceptable de acidez Dornic es de 1 a 8°D (Moreira, N.R., 2011).

8.5.4. Medición de IgA

Posterior a la determinación de acidez, en campo estéril se tomará 1.5 ml de calostro de cada muestra recolectada, y se colocará en viales Ependorff debidamente rotuladas. Debido a que en el Laboratorio del Hospital Departamental de Totonicapán no cuenta con el equipo necesario para realizar el análisis correspondiente, las muestras serán transportadas al Laboratorio clínico de la Universidad Galileo ubicado en la 7a. Calle 17-90 zona 3 Quetzaltenango, en una caja isotérmica con gel refrigerante en relación 3:1, conservando la cadena de frío.

Una vez que las muestras lleguen al laboratorio inmediatamente se centrifugarán a 3000 rpm a 4°C por 10 minutos. Con una pipeta automática se tomará el suero y se descartará la fracción lipídica y celular (Ortiz, K., Moreira, R., Soto, M. y Arroyo, G., 2014).

Si no se llegara a realizar el análisis el mismo día de la toma de muestra, se transferirá el suero a tubos Ependorff y se almacenara a -18°C hasta el análisis.

Para analizar la concentración de IgA de las muestras se realizará mediante espectrofotometría utilizando anticuerpos de cabra anti-IgA (SPINREACT). La lectura de los resultados se hará a 600 nm en un analizador UV-1600PC marca VWR del laboratorio clínico de la Universidad Galileo, y la concentración de IgA será calculada por interpolación de su diferencia de absorbancias (A_2-A_1) en la curva de calibración (Spinreact, S.A., 2019).

La curva de calibración se construirá a partir de los valores obtenidos frente a las concentraciones de IgA de cada dilución del calibrador. Se utilizará el blanco como calibrador de concentración 0 (Spinreact, S.A., 2019).

8.6. Forma de Tabulación

Los resultados obtenidos en la investigación se registrarán y tabularán por medio de una hoja de cálculo realizada en el programa de Microsoft Office Excel 365.

Para el análisis de información recolectada se utilizarán porcentajes y gráficas para su interpretación, así como para obtener la relación de las variables se utilizará el coeficiente de correlación de Pearson.

8.6.1. Correlación de Pearson

Se utiliza en variables cuantitativas, siendo un índice que mide el grado de covariación entre distintas variables relacionadas linealmente, en donde el valor del índice de correlación oscila entre -1 y $+1$:

- Si $r \approx 1$ existe una correlación directa fuerte.
- Si $r \approx -1$ existe una correlación inversa fuerte.
- Si $r = 1$ o $r = -1$ hay una correlación funcional.
- Si $r \approx 0$ no existe una correlación lineal.

Capítulo IV

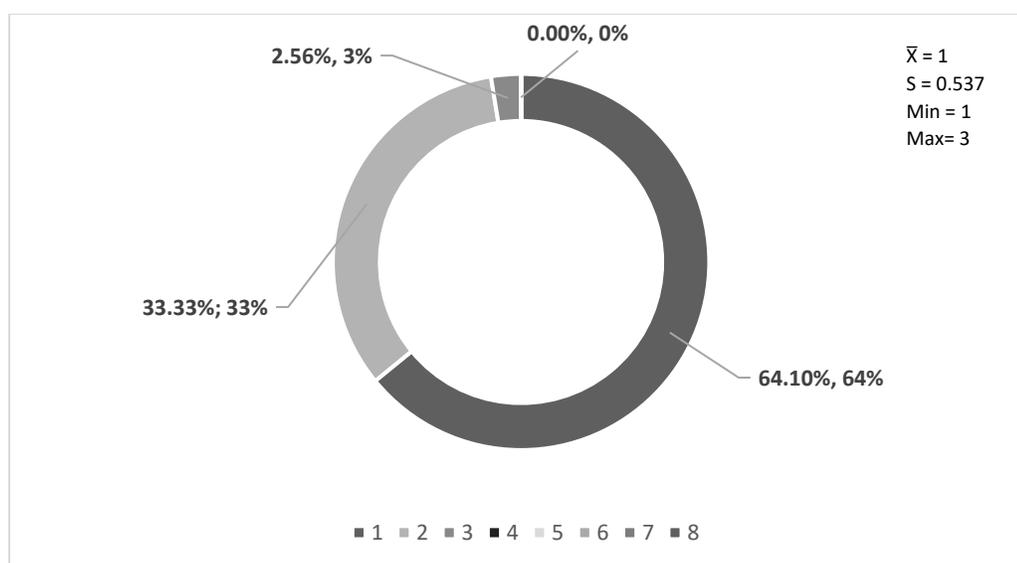
Análisis de Datos

Durante el periodo comprendido de abril a mayo, se analizaron 39 muestras de calostro crudo obtenidas del servicio de Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán, de las cuales se determinó la acidez y la concentración de IgA por medio del método Dornic y de espectrofotometría respectivamente.

Al analizar las muestras fue valorada su aceptación por su grado de acidez, referente a la Figura 3 se muestra en una escala de 1 a 3, en donde el 64.10% de calostro presenta una acidez de 1°D siendo este el de mayor frecuencia y el de menor frecuencia 3°D apenas representando el 2.56%, indicando que en general el calostro presenta una acidez baja por lo que muestra una óptima calidad puesto que los valores se encuentran relativamente alejados del límite de 8°D.

Figura 3

Grados de acidez Dornic en calostro crudo

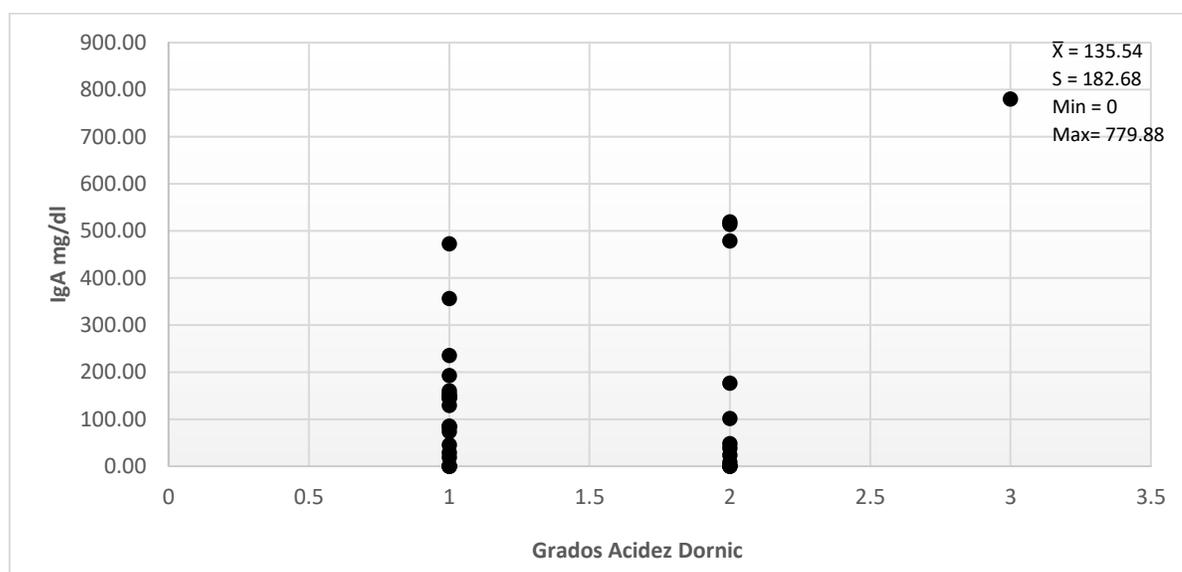


Fuente. Elaboración propia con fines de investigación.

Al realizar la medición de IgA en el calostro se revela en la Figura 4 que la concentración más alta fue de 779.88 mg/dl y la menor de 0 mg/dl de los cuales se reportó un promedio de 135.54 mg/dl, con valores superiores a los informados por otros investigadores (1.00 a 3.00 mg/dl) reportado como normal para el calostro crudo.

Figura 4

Correlación de IgA según acidez Dornic en calostro crudo



Fuente. Elaboración propia con fines de investigación.

Para fines de este estudio se realizó una correlación de las variables de acidez Dornic con los valores de concentración de IgA del calostro crudo encontrados, por lo que los datos obtenidos del coeficiente de correlación de Pearson (Tabla 4) indica que no existe una correlación entre las variables mencionadas.

Tabla 4*Correlación de variables*

	Frecuencia	Correlación Pearson	Estadísticamente Significativo
No. de muestras	39	0.375	No

Fuente. Elaboración propia con fines de investigación.

Discusión de Resultados

La inmunidad humoral esta mediada por la producción de inmunoglobulinas por linfocitos B, siendo la principal la inmunoglobulina A secretora (IgA) que le confiere protección al lactante a través de la lactancia materna. Se sabe que en el calostro es donde se encuentra su mayor concentración a diferencia de los otros tipos de leche materna, por lo que al ser evaluados a partir de métodos como la espectrofotometría permite cuantificar el contenido de IgA y conocer su valor inmunológico. Dicho esto, la investigación tuvo como propósito identificar en el calostro la relación de la acidez con el contenido de dicha inmunoglobulina.

Al evaluar la calidad del calostro se obtuvieron los resultados de acidez Dornic oscilando en un rango de 1 a 3 °D (Figura 3), este parámetro analizado permite indicar que son acordes a lo que la literatura establece siendo entre 1 a 8°D. Dado que varios autores mencionan que al aumentar la acidez Dornic existe una relación con la cantidad presente de mesófilos por la metabolización bacteriana de la lactosa en la leche materna, y que por lo tanto se piensa que habrá menor cantidad de inmunoglobulinas y viceversa, de allí la correlación entre la calidad de la leche y el grado de acidez (Novak, F.R & Cordeiro D.M, 2007) (Morales, P.A., 2016).

Luego de haber cuantificado la IgA (Figura 4) se encontraron concentraciones en un rango de 0–779.88 mg/dl, con un 76.92% difiriendo del rango normal (1–3 mg/dl) reportado para el calostro crudo. Sin embargo, muestra que al menos en lo que respecta con la valoración inmunológica cumplen con el aporte de IgA necesaria, en donde tendrá una actividad significativa en contra de un amplio espectro de microorganismos dañinos protegiendo a los neonatos del

Hospital Departamental de Totonicapán de infecciones gastrointestinales y respiratorias confiriéndoles inmunidad pasiva (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G., 2014).

En el 2013, Padrón, S. y Nieto, Z. determinaron en 5 madres la inmunoglobulina A en leche materna en los quince días posparto, en donde en el calostro se obtuvo un rango 77.84 a 484.82 mg/dl, con valores similares a los encontrados en este estudio. El valor promedio de IgA obtenido en esta investigación fue de 135.54 mg/dl, considerablemente mayor a la reportada por Rodríguez, M.L., Zavala, G.E., Vite, L. y Espinosa M.T. en el 2010, quienes también investigaron la valoración inmunológica del calostro, con una media de 3.12 mg/dl IgA. Esta significativa diferencia puede ser debido a que las madres guatemaltecas tengan una mayor exposición a infecciones gastrointestinales, respiratorias y de la piel por lo que tendrían niveles más elevados de anticuerpos IgA en su leche (Santos, L., Sánchez, E. y Guzmán, H., 2019).

Es importante destacar que el punto más alto encontrado con 3^oD y concentración de 779.87 mg/dl de IgA puede haberse dado por la presencia de procesos infecciosos lo que explicaría el valor significativamente diferente a los demás, siendo interesante que al haber una infección activa del bebé se modifica la composición de la leche y se ve aumentada la cantidad de anticuerpos y componentes inmunes de la leche materna, mismo evento ocurre en las madres de niños prematuros (Lapeña, S. y Hernández, M.B, 2021).

Sin embargo, al relacionar la acidez con la concentración de IgA podemos observar a través de los resultados de la figura 4 que, a pesar de su baja acidez, el 23.07% de muestras se encontraron valores igual a 0 mg/dl por lo que no cumplen con el aporte necesario, por lo tanto, los neonatos que reciban ese alimento no les conferirá inmunidad pasiva. Cabe mencionar que el déficit o los bajos niveles de IgA están asociados a que los lactantes corran un mayor riesgo de padecer alergia a la leche de vaca. Además, se aprecia que las concentraciones de IgA oscilan en diferentes rangos para las acideces 1 y 2°D por lo que al tener una baja o alta acidez no se mira un cambio drástico en los valores de IgA, y al establecer la literatura que la IgA posee una estructura definida con una cadena J, le confiere estabilidad en medios ácidos y a la acción de las proteasas bacteriana (Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G., 2014).

A pesar de haber otros factores implicados que no fueron tomados en consideración en la presente investigación, como resultado de correlacionar ambas variables, se determina por el coeficiente de correlación de Pearson (0.375) que el parámetro de acidez no influye directamente con el contenido de inmunoglobulina A secretora en el calostro (Tabla 4). Por lo tanto, la hipótesis que se valida es la hipótesis nula: No existe relación significativa entre la acidez y la concentración de IgA en las muestras de calostro procesadas durante el mes de abril a mayo del Banco de Leche Humana del Hospital Departamental de Totonicapán.

Conclusiones

- Al analizar la acidez Dornic de la leche materna y relacionarlo con la concentración de IgA, el coeficiente de correlación de Pearson dio como resultado $r=0.375$ encontrándose en valores cercanos a $r \approx 0$ según el método estadístico.
- De acuerdo con los resultados expuestos, se puede afirmar que la acidez no tiene una relación significativa en la concentración de Inmunoglobulina A secretora en las muestras de estudio.
- Se concuerda que el método de espectrofotometría resulta ser accesible y económico para determinar el valor inmunológico de la leche materna. Dado lo anterior se conoció que el 76.92% muestras de calostro presentaron por encima de lo normal un adecuado aporte inmunológico.

Recomendaciones

Para comprender mejor las implicaciones de estos resultados, los estudios futuros podrían abordar muestras de leche materna de madres de toda la república de Guatemala, con el fin de determinar mejor el comportamiento de la inmunoglobulina A secretora (IgA) frente la acidez, a pesar de que el método de acidez Dornic sea idóneo para evaluar la calidad sanitaria de la leche materna, además de las causas implicadas en las diferencias de concentración de IgA, tomando en cuenta múltiples factores tales como, datos demográficos, presencia de procesos infecciosos, higiene y dieta de la madre si consume un alto contenido de proteínas, una infección activa en el lactante, además del tiempo y temperatura de congelación durante el transporte y almacenamiento de la leche materna, técnicas de recolección y tiempo de procesamiento, entre otros; que puedan influir en los resultados provocando un aumento o una disminución en la concentración de dicha inmunoglobulina. Además, se recomienda a las siguientes investigaciones que estén interesadas en realizar mediciones de IgA en muestras de leche materna, probar con otros métodos más específicos como Inmunodifusión radial o ELISA.

Referencias Bibliográficas

- Aldás, J.K. (2015). *Investigación de la prueba de la acidez como parámetro clasificador de rechazo o aceptación de la leche materna en mujeres que acuden a donar al banco de leche del hospital general provincial docente de Riobamba durante el período de febrero 2015 a julio 2015*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1327/1/UNACH-EC-LAB.CLIN-2015-0024.pdf>
- Borja, J.J. (2018). *Determinación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche humana colectada en el banco de leche del hospital gineco obstétrico de nueva aurora luz elena arismendi en el primer semestre del 2018*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16903/1/T-UCE-0014-CME-046.pdf>
- Calixto, R., González, M.A., Bouchan, P., Paredes, L.Y., Vásquez, S. y Cébulo, A. (22 de junio de 2011). Importancia clínica de la leche materna y transferencia de células inmunológicas al neonato. *Medigraphic. Revista Perinatología y Reproducción Humana*, 109-114. <https://www.medigraphic.com/pdfs/inper/ip-2011/ip112h.pdf>
- Galindo, N.C, Contreras, N.A. y Mancilla, J. (23 de junio 2021). *Lactancia materna y COVID-19*. *Scielo. Revista. V. 157, n. 2*. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132021000200201

- Guerra, J.A., Guimaraes, V. y Novak, F.R. (febrero, 2005). *Normas Técnicas REDBLH-BR Para Bancos de Leche Humana*. <https://docplayer.es/22783542-Normas-tecnicas-redblh-br-para-bancos-de-leche-humana.html>.
- Guzmán, E.C., Sempé, M.A. y Guzmán, C.E. (mayo, 2016). *Buenas Prácticas de Manufactura en los Bancos de Leche de la Red Nacional de Bancos de Leche Humana de Guatemala*. [Tesis de Licenciatura, Universidad de San Carlos Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1143.pdf>
- Hall, J.E. (2016). *Guyton y Hall Tratado de fisiología médica* (13ed.). Elsevier castellano
- Laboratorio Qualipharm (06 de mayo, 2019). *Calostroterapia, nuevo proyecto del Hospital de Antigua*. <http://www.qualipharm.info/calostroterapia-nuevo-proyecto-del-hospital>
- Lapeña, S. y Hernández, M.B. (2021). *Composición de la leche humana (II)*. Editorial Médica Panamericana.
- https://aula.campuspanamericana.com/_Cursos/Curso01417/Temario/Experto_Lactancia_Materna/M1T4-Texto.pdf
- López, M. (2021). *Influencia de la lactancia materna en la microbiota intestinal del recién nacido*. [Tesis de Grado, Universidad Europea Madrid]. https://titula.universidadeuropea.es/bitstream/handle/20.500.12880/105/lopez_frias.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS). (19 de enero de 2022). *Bancos de Leche*

Humana Beneficiaron a 11 mil 104 recién nacidos.

[https://prensa.gob.gt/comunicado/bancos-de-leche-humana-beneficiaron-11-mil-](https://prensa.gob.gt/comunicado/bancos-de-leche-humana-beneficiaron-11-mil-104-recien-)

[104-recien-](https://prensa.gob.gt/comunicado/bancos-de-leche-humana-beneficiaron-11-mil-104-recien-)

[nacidos?fbclid=IwAR390UtzEdSeBwiZcGRPG69FxBHQkgh1ZKLOYWvqAjl9HN9OGAxniV6ay](https://prensa.gob.gt/comunicado/bancos-de-leche-humana-beneficiaron-11-mil-104-recien-)

[YA](https://prensa.gob.gt/comunicado/bancos-de-leche-humana-beneficiaron-11-mil-104-recien-)

Morales, P.A. (agosto,2016). *Determinación de calidad de la leche humana recolectada de*

madres donantes en el servicio de banco de leche humana del Hospital Regional de

Cobán "Hellen Losi de Laugerud", Alta Verapaz. [Tesis de Maestría, Universidad San

Carlos de Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/MANA45.pdf>

Moreira, N.R. (2011). *Curso procesamiento y control de calidad de la leche humana* (1ra ed.).

Ministerio de salud pública y asistencia social; Programa de seguridad alimentaria y

nutricional. https://issuu.com/nutrinetguat/docs/modulo_blh_guatemala

Novak, F.R. & Cordeiro, D.M. (2007). *The correlation between aerobic mesophilic*

microorganism counts and Dornic acidity in expressed human breastmilk.

<https://www.scielo.br/j/jped/a/43J847bKJVj35mYN6MXPmfj/?lang=en&format=pdf>

Ortiz, K., Moreira, R., Soto, M. y Arroyo, G. (2014). Determinación de Inmunoglobulina A en

Leche Humana Antes y Después de Pasteurizar. Revista *Científica de la Facultad de*

Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad San Carlos de Guatemala, v. 24 n.1.

<https://www.rcientifica.com/index.php/revista/article/view/100/150>

Padrón, S. y Nieto, Z. (2013). Inmunoglobulina A en Leche Materna en los Quince Días Posparto.

Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca, v.31 n.3.

<https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/medicina/article/view/62/65>

Puyol, A. (julio, 2015). *Valoración de Componentes con Actividad Inmunológica y Efectos de la*

Pasteurización en Calostros Donados en el Banco de Leche Humana Dr. Rubén Panizza.

[Tesis de Licenciatura, Universidad de la República de Uruguay].

<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/8209/1/uy24->

[17620.pdf](https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/8209/1/uy24-17620.pdf)

Quiroz, M.E., y Quiroz, E.G. (julio, 2014). *Concentración de inmunoglobulina A secretora -IgA-*

en muestras de leche materna cruda y pasteurizada. [Tesis de Licenciatura, Universidad

San Carlos de Guatemala]. http://www.repositorio.usac.edu.gt/716/1/05_9465.pdf

Riverón, R. (18 de febrero 1995). Valor inmunológico de la leche materna. *Scielo*. Revista

Cubana de Pediatría v.67 n.2.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75311995000200006

Rodríguez, D.A., Barrera, M.K., Tibanquiza, L.P. y Montenegro, A.F. (enero, 2020). *Beneficios*

Inmunológicos de la leche materna. Revista RECIAMUC, Editorial Saberes del

Conocimiento. <https://reciamuc.com/index.php/RECIAMUC/article/view/440/680>

- Rodríguez, M.L., Zavala, G.E., Vite, L. y Espinosa M.T. (enero-junio 2010). Valoración inmunológica y nutricia del calostro en mujeres de bajo nivel socioeconómico en Cuautla, Morelos, con una visión integral de la lactancia. *Medigraphic. Revista Pediatría de México V.12 n 1*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/conapeme/pm-2010/pm101g.pdf>
- Ruano, M., Martínez, B.A. y Somarriba, F. (2012). *Normas técnicas para el funcionamiento de los bancos de leche humana*. (1ra ed.). Ministerio de salud pública y asistencia social.
- Sabillón, F. y Abdu, B. (1997). *Composición de la Leche Materna*.
<http://www.bvs.hn/RHP/pdf/1997/pdf/Vol18-4-1997-7.pdf>
- Santos, L., Sánchez, E. y Guzmán, H. (3 de septiembre 2019). *Nuevas evidencias experimentales sobre los beneficios de la lactancia: Estudio de los subtipos de la IgA en el calostro*. *Cinvestav. Revista Avance y Perspectiva v.5, n.2*.
<https://avanceyperspectiva.cinvestav.mx/nuevas-evidencias-experimentales-sobre-los-beneficios-de-la-lactancia-estudio-de-los-subtipos-de-la-iga-en-el-calostro/>
- Sierra, P.A.(s.f.). *Los Factores Inmunológicos y los Otros Componentes de la Leche Materna*.
<https://encolombia.com/medicina/revistas-medicas/pediatria/vp-353/pediatria35300factores/>
- Spinreact, S.A. (4 de octubre 2019). *Determinación Cuantitativa de Inmunoglobulina A*.
https://www.spinreact.com/assets/files/Inserts/Immunoturbidimetria/ITIS39_IgA_02-2019.pdf

Anexo

14.1. Carta de Autorización

Quetzaltenango, 29 de marzo del 2022.

Comité de Docencia
Hospital Departamental de Totonicapán

Yo, **Natalia Mercedes Tovar Girón**, me identifico con el documento personal de identificación con código único de identificación número _____ estudiante de la carrera de Química Biológica, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Galileo, Sede Quetzaltenango, de manera muy atenta solicito a usted, autorización para poder llevar a cabo en el servicio de Banco de Leche la investigación titulada:

Efecto de la Acidez en la Concentración de Inmunoglobulina A Secretora en Muestras de Calostro

Siendo mi asesora la Licenciada Claudia Galindo, solicitando su admisión para realizar dicha investigación en el mes de abril a junio, pues será el complemento para mi tesis,

Agradeciendo de antemano su fina atención, me suscribo de usted,

Atentamente,


Natalia Tovar

*autorizado
18.04.2022*

Lic. Claudia Galindo
C.C.L. 4054

Para el Banco de Leche con Lic. Espinoza 14/2/22

Dra. Tovar, investigadora
PISO 2022
AUTORIZADO


HOSPITAL DEPARTAMENTAL DE TOTONICAPÁN
COMITÉ DE DOCENCIA
18 ABR 2022
NOM. _____
FORM. _____

