

**Leche Humana Extraída:
Determinación del
Crematocrito**



Origen

Red Brasileña de Bancos de Leche Humana - Instituto Nacional de Salud de la Mujer, del Niño y del Adolescente Fernandes Figueira / Fundación Oswaldo Cruz / Ministerio de Salud

Autores

João Aprígio Guerra de Almeida
Franz Reis Novak
Vander Guimarães

Revisores

Andreia Fernandes Spinola
Danielle Aparecida da Silva
Jonas Borges da Silva
Maíra Domingues Bernardes Silva
Mariana Simões Barros
Miriam Oliveira dos Santos
Mônica Barros de Pontes

Diseño Gráfico

Chester Robison Pereira Martins

1ª Publicación: BLH-IFF/NT 30.05: Leche Humana Extraída: Determinación del Crematocrito

1ª Revisión: BLH-IFF/NT 30.11

2ª Revisión: BLH-IFF/NT 30.21

Palabras clave

Leche Humana Extraída Cruda. Crematocrito. Valor energético. Análisis Físico-químico.

Red Brasileña de Bancos de Leche Humana
Programa de Certificación Fiocruz para Bancos de Leche Humana
Sede: IFF/Fiocruz/Centro Nacional de Referencia de Bancos de Leche Humana.
Avenida Rui Barbosa 716, 1º piso, Flamengo, Rio de Janeiro - RJ, CP: 22250-020
Contactos:
+55 (21) 2554-1703 - Banco de Leche Humana
+55 (21) 2554-1889 - Secretaría Ejecutiva rBLH
Correo Electrónico: rblh@fiocruz.br / Portal: www.rblh.fiocruz.br



SUMARIO

1. *Objetivo*
2. *Documentos Complementarios*
3. *Definiciones*
4. *Fundamentos*
5. *Condiciones Generales*
6. *Condiciones Específicas*
7. *Referencias Bibliográficas*
8. *Anexos*



1. Objetivo

Esta Norma Técnica tiene por objetivo establecer los procedimientos y criterios para determinar el valor estimado del contenido energético de la leche humana extraída, con el fin de garantizar la calidad de los Bancos de Leche Humana y su certificación.

2. Documentos Complementarios

Para la elaboración de esta Norma Técnica se han consultado:

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 11.21: Higiene y Conducta: Empleados. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 21.21: Recepción de la Leche Humana Extraída Cruda. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 23.21: Selección y Clasificación de la Leche Humana Extraída Cruda. Río de Janeiro, 2021.

RED BRASILEÑA DE BANCOS DE LECHE HUMANA. BLH-IFF/NT 51.21: Bioseguridad en los Bancos de Leche Humana y en los Centros de Recolección de Leche Humana. Río de Janeiro, 2021.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Resolución RDC nº 171 del 04 de septiembre de 2006. Dispone sobre el Reglamento Técnico para el Funcionamiento de los Bancos de Leche Humana. Boletín Oficial de la Unión, Brasilia, DF, 04 septiembre de 2006.

3. Definiciones

A los efectos de esta Norma Técnica, se aplican las siguientes definiciones:


3.1. **Crematocrito:** técnica analítica que permite el cálculo estimado del contenido energético de la leche humana extraída.

3.2. **Crema:** la porción sobrenadante obtenida del centrifugado de la leche.

4. Fundamentos

La leche humana contiene más de 250 sustancias diferentes en su composición, dispuestas de forma jerárquica y compartimentada, integrando tres subsistemas o fracciones: emulsión, suspensión y solución.

La fracción emulsión reúne los constituyentes liposolubles: grasas, aceites, vitaminas, pigmentos liposolubles y algunos ácidos grasos libres. Prácticamente todos o la mayoría de los componentes liposolubles están presentes en forma de glóbulos, rodeados por una membrana fosfolipoproteica. Esta membrana es la misma de la célula alveolar de la glándula mamaria, y es la responsable de dar estabilidad a la emulsión.



La fracción suspensión está compuesta por micelas de caseína, formadas por subfracciones, como κ -caseína, γ -caseína, α -caseína, α_1 -caseína, entre otras. El sistema de la caseína forma una suspensión coloidal de tipo gel, cuya estabilidad es conferida por la fracción de κ -caseína que envuelve la micela.

Casi todo el calcio y el fósforo presentes en la leche humana están asociados a las micelas, unidas químicamente a las fracciones que las integran. La fracción solución contiene agua, el principal constituyente de la leche humana, en una concentración del 87% p/v, así como otras sustancias hidrosolubles, como las proteínas del suero, las sales minerales, los hidratos de carbono y la mayoría de los inmunobiológicos presentes en la leche humana.

Estas tres fracciones tienen una relación proporcional entre sí, resultado del propio movimiento de síntesis de la leche humana. Así, un cambio en la concentración de uno de los constituyentes de la leche siempre provoca un cambio en los demás, y esta relación de proporcionalidad puede ser directa o indirecta, según los constituyentes considerados.

Los constituyentes liposolubles, que componen la fracción emulsión, por ejemplo, tienden a relacionarse de forma inversamente proporcional con las proteínas del suero o las proteínas solubles, principales representantes de los inmunobiológicos. Esta tendencia permite afirmar que cuanto mayor es el contenido en grasa, mayor es el aporte energético y menor la concentración de inmunobiológicos.

Una vez comprendida la posibilidad de variación de los macro constituyentes de la leche humana en términos generales y sus respectivas implicaciones en términos de cambios en la composición, es necesario prestar atención a los métodos de detección de estas modificaciones.

Entre las diversas alternativas, podemos mencionar la técnica basada en las diferencias de densidad de los componentes de la leche.

La fracción emulsión reúne los componentes de menor densidad, resultando un valor medio en torno a $0,9 \text{ g/cm}^3$. Por esta razón, cuando la leche se somete a centrifugación, la fracción emulsión tiende a subir en el tubo y a separarse de los demás componentes. Sin embargo, bajo la acción de la fuerza centrífuga, la fracción emulsión arrastra consigo las micelas de caseína, formando un aglomerado llamado crema, que se separa del suero de la leche o fracción hidrosoluble.

Los estudios sobre la proporcionalidad de los componentes de la leche humana han establecido la relación matemática entre la crema, el suero, la grasa y el contenido energético. Así, la leche humana de bajo contenido energético es rica en sustancias protectoras, especialmente aquellas que se destacan por su protección química y biológica en el tracto digestivo del lactante. A la vista de estas evidencias, los resultados aquí presentados deben ser tenidos en cuenta a la hora de distribuir leche humana pasteurizada, para que el producto elegido pueda satisfacer las necesidades nutricionales del receptor.



5. Condiciones Generales

5.1. Los análisis de determinación del contenido de grasa forman parte de los análisis fisico-químicos responsables de la clasificación de la leche humana extraída.

5.2. La determinación del contenido de grasa es uno de los factores que deben utilizarse para dirigir el producto procesado en un Banco de Leche Humana para los recién nacidos de alto y medio riesgo ingresados en las UCI neonatales.

5.3. El profesional deberá estar paramentado, desde el inicio del proceso, de acuerdo con lo establecido en la Norma Técnica BLH-IFF/NT 11.21: Higiene y Conducta: Empleados.

6. Condiciones Específicas

6.1. La determinación del crematocrito debe realizarse inmediatamente después de los análisis sensoriales de la leche humana extraída.

6.2. Los siguientes materiales son utilizados en la determinación del crematocrito:

6.2.1. Pipeteador;

6.2.2. Pipetas serológicas;

6.2.3. Estante para soporte, revestido de PVC, para 24 o 72 tubos;

6.2.4. Centrífuga para microhematocrito con temporizador;

6.2.5. Agitador de tipo Vortex;

6.2.6. Tubos de ensayo (5mL);

6.2.7. Tubos capilares con o sin heparina (75mm x 1,0mm x 1,5mm);

6.2.8. Baño-maría termostático capaz de mantener una temperatura de 40°C según el procedimiento especificado;


6.2.9. Pasta para sellado del capilar o mechero Bunsen para el sellado;

6.2.10. Regla graduada en fracciones de 1 mm.

6.3. Determinación del valor energético: Crematocrito

6.3.1. En el momento de la toma de muestras para los análisis fisico-químicos (determinación de la acidez Dornic y del crematocrito), se recogieron 5mL de muestra, de los cuales 4mL se utilizaron en el análisis de la acidez Dornic y el último 1mL se utilizará en la determinación del contenido energético de la leche humana extraída;

6.3.2. Después de recoger las muestras para la determinación de la acidez Dornic, mantener la muestra restante de 1mL en tubo de ensayo en estante revestido de PVC en un baño-maría a 40°C durante 15 minutos;



6.3.3. Una vez transcurridos los 15 minutos, se toman tres alícuotas de 75 microlitros, independientemente, utilizando tubos capilares, de cada una de las muestras de leche humana extraída;

6.3.4. Selle uno de los extremos, utilizando la pasta para sellar el capilar o un mechero de busen;

6.3.5. Disponer los capilares en la centrífuga, colocando los extremos sellados en la dirección de la fuerza centrífuga (contra el anillo de goma del plato de la centrífuga);

6.3.6. Si no hay suficientes muestras para llenar todos los huecos del plato de la centrífuga, coloque los capilares siempre tres a tres, en diagonal, para que el plato de centrífuga esté equilibrado;

6.3.7. Si el número de capilares no permite equilibrar el plato de la centrífuga, utilice capilares llenos de agua;

6.3.8. Una vez que el plato de la centrífuga ya está lleno con las muestras, ciérrelo y comience la centrifugación durante 15 minutos, observando la velocidad indicada por el fabricante de la centrífuga para la prueba del microhematocrito;

6.3.9. Leer después de la centrifugación:

6.3.9.1. Transcurrido el tiempo de centrifugación, retire con cuidado los capilares del equipamiento, ya que los tubos capilares no están identificados y, por lo tanto, al retirarlos, observe el mismo orden en que fueron colocados, ya que la secuencia de tres capilares corresponde a una muestra;

6.3.9.2. Se observan dos columnas: la de crema en la parte superior y la de suero en la inferior;

6.3.9.3. Utilice la regla milimetrada para medir la columna total (crema + suero) y la columna de crema;

6.3.9.4. Los valores obtenidos se utilizarán en las fórmulas siguientes:

a. Contenido de Crema

$\text{Columna de Crema (mm)} \times 100 \div \text{Columna total (mm)} = \% \text{ de crema}$

b. Contenido de grasa

$(\% \text{ crema} - 0,59) \div 1,46 = \% \text{ Grasa}$

c. Contenido energético total

$(\% \text{ de crema} \times 66,8 + 290) = \text{Kcal/litro}$

6.3.10. Resultados:

6.3.10.1. Como se recogieron tres alícuotas en tubos capilares de cada frasco de leche evaluada, el resultado final es la media aritmética de los valores encontrados;

6.3.10.2. Al final del proceso, registre en una hoja de cálculo el valor obtenido de cada tubo capilar y su media final. El valor calórico también se registrará en la etiqueta del envase de leche humana pasteurizada.

6.4. Los resultados obtenidos en el análisis para determinar el valor energético de la leche humana extraída se registrarán con los instrumentos adecuados para ello (véase el Anexo de esta Norma), de manera que se pueda realizar la trazabilidad de las intercurrencias y la consiguiente mejora de los procesos.



7. Referencias Bibliográficas

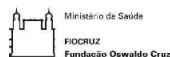
ALMEIDA, J. A. G., 1999. Amamentação: Um Híbrido Natureza-Cultura. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.

LUCAS, A.; GIBBS, J. A. H.; LYSTER, R. L. J. & BAUM, J. D., 1978. Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *British Medicine Journal*, 1:1018-1020.

SILVA, L. R. & ALMEIDA, J. A. G., 2004. Leite materno como fator de proteção contra as doenças do trato digestivo. In: *Urgências Clínicas e Cirúrgicas em Gastroenterologia e Hepatologia Pediátricas* (SILVA, L. R., org.), pp. 951-957, São Paulo: Editora Medsi.

Vázquez-Roman, S.; Alonso-Díaz, C; García-Lara, N.R; Escuder-Vieco, D e Pallás-Afonso, C.R. Brief Report: Effect of freezing on the “crematocrit” measurement of the lipid content of human donor milk. *Anales de Pediatría (English Edition)*, volume 81, Issue 3, September 2014, pages 185-88.

8. Anexos



**Programa de Certificação Fiocruz em Bancos de Leche Humana para el Sistema Único de Salud (PCFioBLH-
BLH-IFF/PCFioBLH 0003
Formulario para Selección y Clasificación de la Leche Humana Extraída Cruda**

Nº Frasco	Matrícula Donante	Edad de LHE	Volumen Estimado	Análise Sensorial				Análisis Físico-Químicas															
				Envase	Suciedad	Color	Flavor	Acidez Dornic				°D	Crematocrito										
								AC1	AC2	AC3	Factor Dornic		CT1	CT2	CT3	CC1	CC2	CC3	Kcal/L				

Donde:

Análisis sensorial deberá ser identificada como conforme (C) y no conforme (NC)

Análisis Físico-químicas:

Acidez Dornic (AC) será completado con los mililitros gastados en cada titulación

Factor Dornic: es el valor a ser multiplicado por el promedio de los valores obtenidos en la solución Dornic

Crematocrito: donde CT es la columna total expresada en mm y CC es la columna de crema expresada en milímetros.

Programa de Certificación Fiocruz en Bancos de Leche Humana (PCFioBLH)

BLH-IFF/PCFioBLH 007

Formulario para Registro Diario de Valores Obtenidos en la Determinación del Crematocrito de Leche Humana Cruda Ordeñada

Fecha	Frecuencia Diaria de Valores Obtenidos en la Determinación del Crematocrito				Total	Responsable
	< 500 kcal/L	500 - 700 kcal/L	700 - 750 kcal/L	≥750 kcal/L		
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
Total						



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz