Relación entre la prevalencia de *Staphylococcus aureus* y la infección de la mastitis sobre la calidad de leche materna en mujeres de Tepic Nayarit

E. N. Eunice Sarahy González Jiménez; Dr. Gilberto Mercado Merado. Universidad Vizcaya de las América, *Campus Tepic*. Correo correspondiente: gil\_4783@yahoo.com.mx

# **INTRODUCCIÓN**

La lactancia materna es un proceso biológico instintivo y un comportamiento cultural (López-Fernández y col., 2017). Por ello, esta actividad proporciona una alimentación ideal al lactante para un crecimiento y desarrollo saludable. Sin embargo, en las mujeres principiantes existe la presencia de una inflamación en las glándulas mamarias llamada mastitis. Del mismo modo, la mastitis es una enfermedad multifactorial que depende de diversos factores como lo son el medio ambiente, el patógeno y la higiene (Kataria y cols., 2013). La mastitis se manifiesta como la respuesta inflamatoria de la glándula mamaria por una infección microbiano (Kataria y cols., 2013). Del mismo modo, investigaciones previas sobre esta enfermedad se ha enfocado en animales, por lo que existen escasos estudios en mujeres (Khan and Khan, 2006; Petrovski y col., 2006). Esta enfermedad causa una disminución en la producción de leche debido a las enzimas producidas por distintos microorganismos, que actúan con su acción de degradación de las proteínas, lactosa y grasa (Idriss y col., 2014; Kvist y col., 2008). Por ello, la presencia bacteriana de la leche materna puede convertirse en un producto inapropiado para el infante. El *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es el microorganismo más frecuente en la mastitis ya que penetra el conducto del pezón propagándose de manera muy rápida al resto de la glándula y una vez causa daños considerables al epitelio mamario (Zecconi, 2010; Raza y col., 2013). Por esta razón, la mastitis no sólo es importante por los aspectos antes mencionados, sino que desde el punto de vista de la salud pública constituye un riesgo potencial, ya que los infantes pueden estar expuestos al consumo de leche contaminada con agentes patógenos.

Por esta razón, en el presente estudio se abordó el tema de la mastitis como factor clave en la prevención del *S. aureus* en mujeres embarazadas y los efectos que este puede tener sobre la calidad de la leche materna.

# **JUSTIFICACIÓN**

La lactancia materna es la alimentación que se le proporciona a los recién nacidos y lactantes en un periodo determinado para satisfacer las necesidades nutricionales y de calorías (López-Fernández y col., 2017). Por ello, a nivel mundial el 91 % son madres que amamantan a los recién nacidos y solo el 25% continua con la lactancia hasta el año de edad. Además, la lactancia favorece al niño en evitar ciertas enfermedades como la obesidad y otras enfermedades crónicas en etapas posteriores de la vida. Por otro lado, en México la práctica de lactancia materna disminuyó de 22.3 % a 14.4 % en las ciudades, y en el área rural fue de 36.9 % a 18.5 %) en el periodo de 2006 a 2012 (Johnson y col., 2016). Sin embargo, las mujeres pueden sufrir inflamaciones de la glándula mamaria causada por patógenos bacterianos como es el género *Staphylococcus*.

La mastitis es una infección que comúnmente afecta a mujeres en período de lactancia. Esta infección mamaria es una inflamación del pecho, producida por la obstrucción de los conductos de la leche (Idriss y col., 2014). Actualmente, existen dos de mastitis: la mastitis puerperal y la no puerperal. El *S. aureus* es un microorganismo oportunista que está presente en la mastitis y se ha encontrado en la leche de animales. De esta manera, no existen reportes epidemiológicos nacionales ni estatales sobre las incidencias de este microorganismo en las mujeres embarazadas. También, no existen estudios acerca del efecto del *S. aureus* sobre los componentes de la leche. Por ello, el objetivo principal es identificar la presencia de *S. aureus* en mujeres embarazadas y el efecto sobre la calidad de la leche.

**ANTECEDENTES**

## La mastitis

La mastitis es una inflamación de uno o varios lóbulos de la glándula mamaria que pueden estar o no infectadas. De esta manera, existen múltiple factores que influyen en el desarrollo de esta enfermedad, entre ellos se encuentra la retención o estasis de leche. Por lo cual, la mastitis se clasifica en aguda puerperal, crónica y granulamatosa idiopática (Kataria y col., 2013; Vargas-Hernández, 2014). Esta enfermedad es ocasionada también por diversos factores que pueden alterar la microbiota mamaria y favorecer la aparición de infección; entre ellos están el estrés, tabaquismo, enfermedades autoinmunes, déficits inmunitarios, iatrogenia, la administración de antibióticos durante el último trimestre de embarazo, entre otros (Beltrán-Vaquero y col., 2015). Por consiguiente, empiezan a tener alteraciones en la leche y síntomas como el enrojecimiento, hinchazón, dolor, endurecimiento, y reducción en la producción (Kvist y col., 2008; Ebrahimi-Fard y col., 2010). También, pueden estar presentes otros síntomas sistémicos, tales como fiebre y falta de apetito (Kvist y col., 2008). Estas reacciones originan una respuesta inflamatoria activando a las citoquinas (interleuquina-8) debido que los espacios intercelulares de las células secretoras de leche y de los alvéolos mamarios se abran, forzando el paso de moléculas de la leche al tejido circundante y como consecuencia, la composición de la leche cambie (Hassan, 2013). También, la inflamación de la mastitis se debe a la presencia de *Staphylocuccus aureus* (*S. aureus*). Esta bacteria produce películas en el epitelio de los acinos y los conductos galactóforos. Por lo general, el *S. aureus* se adhiere entre los espacios colectores de leche y las áreas alveolares de las porciones inferiores de la glándula causando la muerte celular a las productoras de leche (Zecconi, 2010; Raza y col., 2013). Sin embargo, no existen estudios epidemiológicos en México sobre el casos de la mastitis en mujeres embarazadas y el efecto que tienen las bacterias sobre la composición química de la leche materna. Por ello, se debe de profundizar este tema para tomar medidas preventivas sobre la salud de las mujeres y de los infantes que toman leche de sus madres.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

***Características de la población***

En este estudio se analizó dos grupos de individuos de sexo femenino, con edades de 16 a 33 años de edad. El estudio consistió en realizar un estudio nutrimental a mujeres sanas y mujeres con mastitis. Estos individuos se citaron en el Hospital Civil de la ciudad de Tepic, Nayarit. El periodo de estudio es monitorea por 6 meses, donde a las mujeres se les hace un estudio nutrimental cada semana.

***Obtención de la leche***

La leche de los pacientes fue recolectada en frascos estériles y su obtención fue de forma manual con guantes estériles para evitar una contaminación. Luego, la leche obtenida se transportó en una hielera con bolsas de hielo para mantener la temperatura de 4 °C para su conservación. La leche se almacenó en el laboratorio de Ciencias de la Universidad Vizcaya de las Américas, campus Tepic y se almacenaron a las mismas condiciones para su posterior análisis.

***Análisis físico-químico de la leche***

Los análisis físico-químicos que se determinaron en la leche control y muestra problema fueron pH, densidad, acidez. También, se determinaron los análisis proximales, que fueron humedad, cenizas, grasas, proteínas e carbohidratos siguiendo los siguientes métodos.

***A) Determinación de pH***

Se tomó una alícuota de las muestras y se midieron en un potenciómetro, realizándose por triplicado de cada muestra.

***B) Determinación de densidad***

El método se realizó con un densímetro graduado. La densidad relativa a (20/20 °C) de la leche, se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$d20=d+0.0002(t-20)$$

Donde: d20 es la densidad relativa a 20/20 °C; d es la densidad aparente a temperatura (°C); t es la temperatura de la muestra durante la determinación (°C)

***C) Determinación de acidez titulable de la leche materna***

La determinación de acidez (°D) se realizó con una solución de hidróxido de sodio, utilizando la fenolftaleína como indicador. La acidez de la leche se calculó mediante la ecuación siguiente:

$$A=0.090\frac{(V\*N)}{(m\_{1}- m)}\*100$$

Siendo la A la acidez titulable de la leche (% en masa de ácido láctico); V es el volumen de la solución de hidróxido de sodio titulable (mL); N es la concentración de la solución de hidróxido de sodio (N); m es la masa del matraz Erlenmeyer (g); m1 es la masa del matraz Erlenmeyer con la leche (g); el factor 0.090 de la ecuación es exacto.

***Determinación de porcentaje de humedad***

La determinación de humedad de las leches se utilizó el método de la AOAC 925.10. Este proceso consiste en secar en la estufa 1 g de muestra en las capsulas de porcelana previamente mantenidas a peso constante. El porcentaje de humedad (%H) se determinó por diferencia de peso.

***C) Determinación de cenizas***

Para este estudio se pusieron crisoles a peso constante durante 15 min en la mufla a una temperatura de 550 °C. Posteriormente, se pesaron (1 g) las muestras y se incineraron en la mufla durante 2 h. El porcentaje de cenizas (%C) se cuantificó por diferencia de peso.

***D) Análisis de proteína total por método Kjeldahl***

La cuantificación de las proteínas se llevó a cabo por el método de Kjeldahl. Este método consistió en mezclar 1 g de muestra en el [papel](http://www.monografias.com/trabajos5/recicla/recicla.shtml#papel) de filtro con 25 mL de ácido sulfúrico concentrado por los bordes del balón de Kjeldahl con sumo cuidado y se puso en la hornilla eléctrica durante 1 h y media aproximadamente. Durante la digestión, el balón de Kjeldahl estuvo en rotación constante para la [combustión](http://www.monografias.com/trabajos14/impacto-ambiental/impacto-ambiental.shtml) de la [materia](http://www.monografias.com/trabajos10/lamateri/lamateri.shtml) orgánica. Posteriormente, el producto obtenido ([color](http://www.monografias.com/trabajos5/colarq/colarq.shtml) verde-esmeralda) se enfrió e inmediatamente se adicionó 500 mL de agua y unos cuantos granos de zinc e después 50 mL de solución de hidróxido de sodio al 50 % (p/v) y se colocaron en el equipo de destilación. Antes de iniciar el [proceso](http://www.monografias.com/trabajos14/administ-procesos/administ-procesos.shtml#PROCE) de destilación, en un vaso Erlenmeyer se añadió 50 mL de ácido bórico y 4 gotas de indicador rojo de metilo. Luego, el matraz se colocó en el terminal del equipo de destilación de modo que el terminal quede inmerso en la solución bórica. Finalmente, se tituló el contenido del vaso Erlenmeyer con HCl 0.1 N hasta variación de [color](http://www.monografias.com/trabajos5/colarq/colarq.shtml) (amarillo a rojo). Este proceso se llevó a cabo por triplicado. Se registró el volumen gastado y se calcula el porcentaje de proteína a partir de la siguiente fórmula:

$$\%P=V\*N\*14\*m\*f\*100$$

Donde: V es el volumen gastado de HCl en la titulación; N es la concentración del HCl (N); 14 es el equivalente-gramo del nitrógeno; m es el peso de la muestra y f es el factor proteico (6.38).

***E) Cuantificación de porcentaje de grasa por método Gerber***

La cuantificación de las grasas de cada muestra, se llevó a cabo por el método Gerber. El método consistió en medir 10 mL de ácido sulfúrico en 11 mL de leche dentro de un butirómetro, esto por triplicado. Los butirómetros fueron agitados y puestos en baño de agua (65 °C) por 5 min, y posteriormente centrifugados por 1100 rpm por 5 min. Por último, se calculó el porcentaje de grasa a partir de la escala de butirómetro (O’Connor, 1994).

**Análisis microbiológico**

***Preparación del material microbiológico***

Para este estudio se realizó por vaciado en placa en cajas Petri. Para ello, las cajas de Petri, tubos de ensaye con rosca, frascos de dilución, matraz Erlenmeyer de 500 mL se esterilizaron a 121 lb por 15 min en un auto-clave. Posteriormente, los materiales estériles se almacenaron a temperatura ambiente hasta su análisis.

***Preparación de medio de cultivo Agar sal manitol***.

El agar utilizado en este análisis fue el agar sal manitol, preparándolo bajo las indicaciones del proveedor. La preparación del agar fue a ebullición y posteriormente se esterilizó en un auto-clave a 121 lb por 15 min. Después, el medio se vaciado en las cajas Petri esterilizada dentro de una campana de extracción previamente desinfectada.

***Inoculación de Streptococcus aureus***

Para la inoculación de *S. aureus* primero se esterilizo la campana de extracción. Primero, se desinfectó con alcohol etílico al 70 % (v/v) y con la campana UV por 10 min. Luego, con jeringas estériles comerciales se tomó 1 mL de muestra y se hicieron diluciones consecutivas hasta obtener una dilución 1:104. Una vez realizada las diluciones, de cada tubo de ensaye se tomó una alícuota con el asa previamente estéril y se inoculo en las cajas de Petri con el agar sal manitol, respectivamente. Finalmente, las cajas de Petri inoculadas se incubaron a 37 ºC por 48 h en una incubadora. Pasado el tiempo, se contaron las colonias crecidas en cada dilución de las cajas de Petri y se determinó el crecimiento total bacteriano de las muestras control y problema.

***Tinción de Gram***

Para la identificación confirmatoria de *S. aureus* se realizó una tinción de Gram. Para ello, se tomó una colonia bacteriana y se puso en un portaobjetos, previamente lavado y esterilizado. Luego, se agregó el azul de metileno y se dejó reposar por 1 min. Posteriormente, se lavarlo con agua destilada y se agregó luego Lugol (1 % p/v) dejándolo reposar por 1 min. Posteriormente, se enjuagaron con alcohol etílico y se agregarlo la safranina por 1 min y se volvió a lavar para visualizarlo en el microscopio electrónico.

***Análisis estadístico***

Para el comparativo de los resultados se realizó por medio de una ANOVA para observar si existió una diferencia significativa entre las muestras. En caso de obtener estas diferencias, se realizó una prueba de chi-cuadrada con un intervalo de confianza del 95 %.

**Resultados**

***Propiedades físico-químicas de la leche***

En el Cuadro 1 se muestra el análisis bromatológico de las muestras de leche obtenidas de pacientes sanas y pacientes con mastitis.

Cuadro 1. Análisis bromatológico de la leche materna.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Contenido (%) | Leche Control | Leche problema |
| Proteínas totales | 1.31 ± 0.91 | 0.80 ± 0.59 |
| Grasa | 6.03 ± 0.51 | 4.80 ± 0.69 |
| Carbohidratos | 2.55 | 0.87 |
| Humedad | 87.58 ± 0.92 | 88.09 ± 2.35 |
| Cenizas | 2.51 ± 0.55 | 5.43 ± 0.10 |

Los valores representan media ± desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas representan diferencia significativa entre las diferentes muestras.

El Cuadro 2 se observa el análisis de pH y densidad de la leche materna de las mujeres sanas y las mujeres con mastitis.

Cuadro 2. Determinación físico-químico de la leche.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Análisis | Leche Control | Leche problema |
| pH | 7.2 ± 0.2 | 5.76 ± 0.25 |
| Densidad (g/mL) | 1.028 ± 0.02 | 1.00 ± 0.00 |
| Acidez (%) | 0.12 ± 0.01 | 0.22 ± 0.03 |

Los valores representan media ± desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas representan diferencia significativa entre las diferentes muestras.

El Cuadro 3 se presenta los resultados obtenidos del análisis microbiológico de las muestras de leche. Para ello, se determinaron la presencia de *S. aureus* y *S. epidermis* en ambas muestras.

Cuadro 3. Análisis microbiológico de la leche materna.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Microorganismo | Leche Control | Leche problema |
| *S. aureus* (UFC/ml) | 100 | 10000 |
| *S. epidermis* (UFC/ml) | 330 | 600 |

Los valores representan media ± desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas representan diferencia significativa entre las diferentes muestras.

**Discusión**

Se encontró la presencia de *S. aureus* y *S. epidermis* en las muestras de leche materna. De tal forma, las mujeres que presentan mastitis, la calidad de la leche que secretan es baja. El Cuadro 1 se muestra el análisis proximal de la leche materna. En este cuadro se observa que el contenido de proteína, grasa y carbohidratos es bajo en comparación con la leche Control. Estos resultados se debe que la presencia de microorganismos que proliferan y prevalecen en esta enfermedad causa un efecto directo en el conducto del pezón causando daños al epitelio mamario. Por ello, la calidad de la leche en las mujeres con mastitis es menor a las personas sanas. También, el *S. aureus* y otros microorganismos ejercen una desnaturalización de las proteínas y una hidrólisis de la lactosa, conllevando a una hidrólisis de la glucosa. Por ello, el pH disminuye y la acidez aumenta (Cuadro 2).

Por otra parte, el Cuadro 3 se muestra la cantidad de S. aureus y S. epidermis en ambas muestras de leche. El *S. aureus* está presente en mayor cantidad en la muestra con mastitis que en la muestra Control. Este microorganismo se encuentra presente cuando la enfermedad se encuentra desarrollada. Del mismo lado, existe más de 130 especies y subespecies de bacterias que originan la mastitis, la mayoría de las bacterias que causan esta enfermedad son del genero Staphylococcus y Streptococcus, con un 75% mas que otras bacterias.

**Conclusiones preliminares**

Se encontró la presencia de *S. aureus* y *S. epidermis* en las muestras de leche materna.

Las mujeres que presentaron mastitis, la calidad de la leche que secretan es menor que aquella que contiene las mujeres Control.

La bacteria *S. aureus* se presentó en mayor prevalencia en la leche de las mujeres con mastitis.

**Literatura citada**

Beltrán-Vaquero, D. A., Crespo-Garzón, A. E., Rodríguez-Bravo, T. C. y García-Iglesias, A. 2015. Mastitits infecciosa: nueva solución para un viejo problema. Nutricion Hospitalaria. 31(Supl. 1): 89-95.

Ebrahimi-Fard, F., Najaf-beygi, A., Kavyani, A. y Jalali, A. H. 2010. Idiopathic granulomatous mastitis: report of 3 cases and a review of the literature. Medical Journal of the Islamic Republic of Iran. 23(4): 233-237.

Idriss, S. E., Foltys, V., Tancin, V., Kirchnerova, K., Tancinova, D. y Zaujec, K. 2014. Mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Nitra, Slovakia. Solvak Journal of Animal Science. 47(1): 33-38.

Johnson, M. G., Leal, S., Plongla, R., Leone, P. A. y Gilligan, P. H. 2016. Recurrent granulomatous mastitis due to Corynebacterium kroppenstedtii. Journal of Clinical Microbiology. 54(8): 1938-1941.

Kataria, K., Srivastava, A. y Dhar, A. 2013. Management of lactational mastitis and breast abscesses: review of current knowledge and practice. Indian Journal Surgery. 75(6): 430-435.

Khan, M. Z. y Khan, A. 2006. Basic facts of mastitis in dairy animals: a review. Pakistan Veterinary Journal. 26(4): 204-208.

Kvist, L., Larsson, B. W., Hall-Lord, M. L., Steen, A. y Schalén, C. 2008. The role of bacteria in lactational mastitis and some considerations of the use of antibiotic treatment. International Breastfeeding Journal. 3: 1-7.

López-Fernández, G., Barrios, M., Goberna-Tricas, J. y Gómez-Benito, J. 20017. Breastfeeding during pregnancy: a systematic review. Women Birth. 5192(17): 30110-30115.

Petrovski, K. R., Trajcev, M. y Buneski, G. 2006. A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis. Journal of the South African Veterinary Asociation. 77(2): 52-60.

Raza, A., Muhammad, G., Sharif, S. y Atta, A. 2013. Biofilm producng *Staphylococcus aureus* and bovine mastitis: a review. Molecular Microbiology Research. 3(1): 1-8.

Vargas-Hernández, V. M. 2014. Mastitis granulomatosa idiopática. Revista del Hospital Juárez de México. 81(3): 174-181.

Zecconi, A. 2010. *Staphylococcus aures* mastitis: what we need to know to control them. ISRVMA. 65(3): 93-99.