



**“PROCEDIMIENTO DE PROCESAMIENTO DE LECHE HUMANA CRUDA EN EL HOSPITAL
GENERAL DOCENTE DE CALDERÓN”**

**PROCESO: AGREGADORES DE VALOR
SUBPROCESO: BANCO DE LECHE**

	NOMBRE	CARGO	FIRMA
Elaborado por:	Bq. Carla Angulo	Tecnólogo Medico de Laboratorio	
	Lcda. Norma Jácome	Enfermera de Calidad	
	Lcda. Marisol Basantes	Responsable de la Gestión de Calidad	
Revisado por:	Lic. Ney González	Coordinadora Técnica Banco de Leche	
	Lcda. Dayse Moreira	Responsable de la Gestión de Enfermería	
Validado por:	Dra. Ximena Ríos	Dirección Asistencial	
Aprobado por:	Dr. Juan Pablo Velasco	Gerente del HGDC	

30 de Agosto 2023

“Los autores y los revisores declaran no tener conflictos de interés en la elaboración / revisión de este procedimiento”

**Ministerio de Salud Pública
Hospital General Docente de Calderón**

Dirección: Av. Capitán Giovanni Calles y Derbi, vía a Marianas
Código postal: 170201 / Quito-Ecuador / Teléfono: +593-2-3952 700
www.hgdc.gob.ec

ÍNDICE

1. OBJETIVOS:	3
2. ALCANCE:	3
3. RESPONSABLES:	3
4. DEFINICIONES:	3
5. DESCRIPCIÓN	7
5.1 Diagrama del Procedimiento	7
5.2 Desarrollo del Procedimiento	8
6. INDICADORES	19
7. REFERENCIAS	19
8. CONTROL DE CAMBIOS	19
9. ANEXOS	19

1. OBJETIVOS:

Proporcionar la alimentación con leche materna, y/ o leche humana procesada para los neonatos que lo necesiten según prescripción médica o de la nutricionista, que por su condición clínica no pueden ser amamantados por la propia madre, o el estado de salud de su madre no le permite.

2. ALCANCE:

El procedimiento inicia con el almacenamiento de leche humana cruda hasta la distribución de la leche humana pasteurizada según la normativa establecida.

3. RESPONSABLES:

Responsable de la Supervisión: Coordinador Técnico

Responsable de la Aplicación: Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico

Responsable del Monitoreo del Indicador: Dirección Asistencial y Responsables de la Gestión de Calidad y Gestión de Enfermería

4. DEFINICIONES:

Acidez Dornic de la leche humana: es un indicador de la calidad del producto procesado, mide la acidez titulable de la leche humana expresada en grados Dornic (°D). Se consideran valores aceptables entre 1,0 y 8,0 °D.

Almacenamiento: conjunto de operaciones que aseguran la conservación de la leche humana

Banco de leche humana (BLH): servicio especializado, responsable por acciones de promoción, protección y apoyo a la lactancia materna, así como también, por la ejecución de actividades de recolección de leche humana donada, su procesamiento, control de calidad, almacenamiento y distribución. Debe estar vinculado a un hospital que cuente con un servicio de neonatología.

Buenas prácticas de manipulación de la leche humana: procedimientos necesarios para garantizar la calidad de la leche humana desde su recolección hasta su administración.

Bioseguridad - conjunto de acciones dirigidas a la prevención, minimización o eliminación de riesgos inherentes a las actividades de investigación, producción, enseñanza, desarrollo tecnológico y prestación de servicios, visando la salud del hombre, de los animales, a la preservación del medio ambiente.

Cadena de Frío: condición en la cual los productos refrigerados y congelados deben ser mantenidos, bajo un estricto control y registro de temperatura, desde el momento de su recolección hasta el consumo, con el objeto de impedir el crecimiento de microorganismos (bacterias, parásitos, virus u hongos) capaces de promover alteraciones en su composición.

Calostro: primer producto de la secreción láctea, obtenido hasta 7 días después del parto.

Condiciones higiénico-sanitarias: condiciones establecidas para orientar y estandarizar procedimientos, con el fin de garantizar la calidad del proceso, desde el punto de vista de la salud pública.

Conformidad de la leche humana: cumplimiento de los requisitos de calidad de la leche humana.

Congelamiento: proceso controlado que permite extraer calor al producto en cantidad suficiente, para producir un cambio de fase líquida a fase sólida.

Conservación: conjunto de procedimientos que garantizan la preservación de las características físico-químicas, inmunológicas y microbiológicas de la leche humana.

Control de calidad: conjunto de operaciones realizadas con el objetivo de verificar la conformidad de los productos y procesos.

Color de la leche: es una característica del producto, la cual permite valorar la calidad del mismo. El color puede ser alterado por diversos factores, entre ellos la dieta materna, el uso de medicamentos y algunos colorantes. (13) El color de la leche humana resulta de la presencia de sus constituyentes y denota la preponderancia de una fracción particular. El color de la leche humana puede variar en la gradación de "agua de coco" a amarillo intenso, a través de tonos intermedios de azul, verde u blanco opaco, sin que esto constituya una no conformidad.

Crematocrito: técnica analítica para la determinación del tenor de crema, que permite el cálculo del tenor de grasa y del contenido energético de la Leche Humana Extraída.

Crema: es la porción sobrenadante obtenida a partir de la centrifugación de la leche. Es constituida por la grasa empaquetada, envuelta por una membrana fosfolipídica. Son glóbulos muy pequeños, regularmente distribuidos por la leche. En la membrana de esos glóbulos pueden ser encontradas las lipasas y otras enzimas, además de diversos cofactores.

Descongelamiento: proceso controlado que permite transferir calor al producto congelado en cantidad suficiente para producir un cambio de fase sólida a fase líquida.

Desinfección: proceso físico o químico que elimina la mayoría de los microorganismos patógenos de objetos y superficies, con excepción de esporas bacterianas.

Donante de leche humana: mujer sana que presenta secreción láctea superior a las necesidades de su hijo, que dona voluntariamente el excedente; o aquella que extrae su propia leche para el mantenimiento de la lactancia o alimentación de su propio hijo.

Envase: Es un recipiente en el cual el producto es conservado y debe garantizar el mantenimiento de su valor biológico, sin permitir intercambios con el ambiente.

Envase Estandarizado para Leche Humana Extraída: Envase validado por la institución competente, utilizado para conservación de la leche humana, que observe todas las exigencias establecidas para ese fin.

Equipo de protección individual (EPI): el equipo de protección individual comprende el gorro, anteojos de protección, máscara, delantal o bata y guantes.

Esterilización: proceso físico o químico que destruye todas las formas de vida microbiana, o sea, bacterias en las formas vegetativas y esporuladas, hongos y virus.

Etiqueta: identificación impresa o escrita aplicada sobre el recipiente con información de la Leche Humana Extraída y de la Leche Humana Pasteurizada.

Extracción de leche humana: procedimiento de obtención de leche humana.

Flavor: Valor que mezcla la percepción concomitante de olor y sabor.

Flavor Primario de la Leche humana: Resulta de los propios constituyentes de la leche humana extraída, atribuido principalmente a la relación clorato/lactosa y a los ácidos grasos libres.

Flavor Secundario de la Leche humana: Derivado de alteraciones en la composición de la leche humana extraída, bien como de la incorporación de sustancias químicas volátiles provenientes del medio externo.

Leche humana: secreción láctea producida por la mujer.

Leche humana de Transición: producto intermediario de la secreción láctea de la madre en período de lactancia, obtenida entre el 8º y el 15º día después del parto.

Leche humana Homóloga: leche humana, clasificada de acuerdo con la edad del lactante y edad gestacional de la donante, buscando reflejar las necesidades nutricionales del niño y las características nutricionales e inmunológicas de la leche materna.

Leche humana Madura: producto de la secreción láctea de la madre, libre de calostro, obtenida a partir del 16º día después del parto.

Leche humana extraída (LHE): obtenida a través del procedimiento de extracción.

Leche humana Cruda (LHC): denominación dada a la leche humana que todavía no fue sometida al proceso de pasteurización.

Leche del comienzo: Al salir del pecho la leche tiene una coloración como agua de coco, rico en agua, vitaminas y factores de protección.

Leche del final: La leche materna rica en grasa que se produce en la parte tardía de una mamada (16) Al fin de la mamada, la leche presenta una coloración más amarilla, y su composición tiene una concentración mayor de grasa y componentes liposolubles.

Limpieza: proceso sistemático y continuo para el mantenimiento de la higiene.

Microbiota: microorganismos presentes en la LHE.

No conformidad: no cumplimiento de los requisitos de calidad de la LHE.

Off-flavor: característica organoléptica no-conforme con el aroma original de la LHE.

Off-flavor de la Leche humana extraída: Flavor secundario que indica la descalificación de la leche humana para el consumo.

Olor: se refiere a la percepción de las sustancias químicas volátiles por las mucosas olfativas.

Pasteurización: tratamiento térmico al cual la LHE debe ser sometida para inactivar su microbiota patogénica.

Receptor de la leche humana: consumidor de leche humana cruda o procesada distribuida por el BLH.

Re envase: transferencia de la leche humana de un envase a otro, en el cual se realizará el procesamiento (pasteurización) y será almacenado.

Suciedad: indicador de calidad, se refiere a presencia de cuerpos extraños a la leche humana, como pelos, trozos de vidrio o/y plásticos.

Tiempo de Pre-calentamiento: período comprendido entre el momento de la colocación de los frascos a ser pasteurizados en el baño María hasta la estabilización de la temperatura del baño a 62,5°C. (21)

Valor biológico de la leche humana: características inmunobiológicas, nutricionales y organolépticas de la leche humana.

5. DESCRIPCIÓN

5.1 Diagrama del Procedimiento, ver link:

<https://drive.google.com/drive/folders/1QFrQXHHUyRd1DAdg0K3vRmEQLQkNHrOO?usp=sharing>

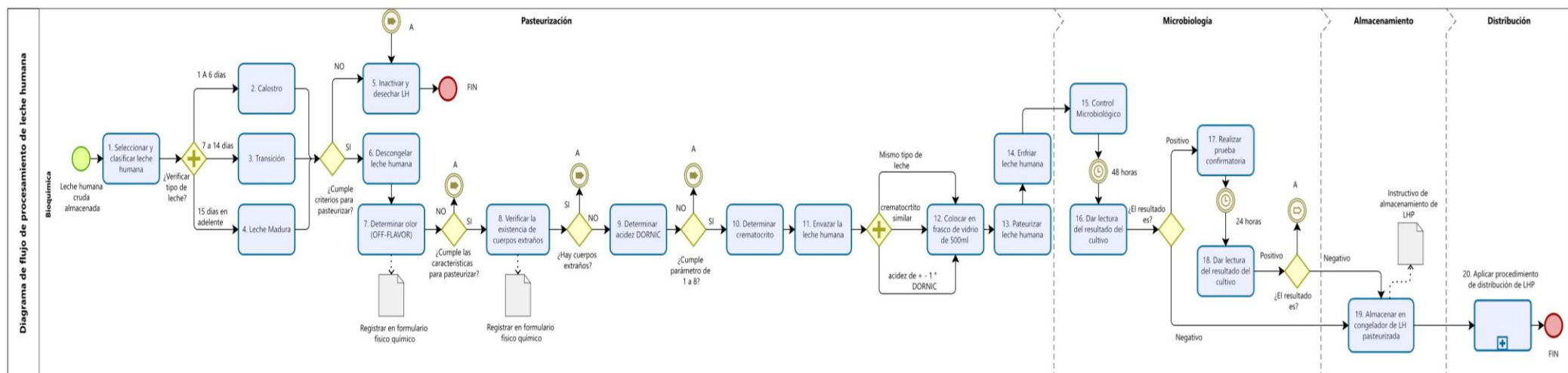


Diagrama de flujo de procesamiento de LH

Autor: Lcda. Marisol Basantes / Calidad
Versión: 001
Descripción: Procedimiento de procesamiento de leche humana cruda

5.2 Desarrollo del Procedimiento

Nº de Actividad	Responsable	Actividades realizadas	Salidas
	Disparador	Leche humana cruda almacenada	Leche pasteurizada distribuida
1	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	SELECCIONAR Y CLASIFICAR DE LECHE HUMANA CRUDA Personal asignado verificará el tipo de leche de acuerdo al tiempo: - Lavado de manos y uso de prendas de bioseguridad. - Seleccionar la leche cruda a pasteurizar por sus características químicas: Leche calostro, transicional y madura. - Verificar que cada frasco este rotulado: nombre donante, fecha de recolección, tipo de leche. - Verificar el tipo de leche según el tiempo: Patrón de referencia: calostro-calostro, calostro-transición y transición-madura. Pasar a la actividad 2,3 y 4	LHC clasificada
2	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	VERIFICAR SI ES CALOSTRO Si el tiempo de la leche almacenada es de 1 a 6 días y cumple los criterios para pasteurización. Pasa a la actividad 6 No cumple los criterios pasa a la actividad 5	Tipo de leche
3	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	VERIFICAR SI ES DE TRANSICIÓN Si el tiempo de la leche almacenada es de 7 a 14 días y cumple los criterios para pasteurización. Pasa a la actividad 6 No cumple los criterios pasa a la actividad 5	Tipo de leche

4		VERIFICAR SI ES LECHE MADURA Si el tiempo de la leche almacenada es de 15 días en adelante y cumple los criterios para pasteurización. Pasa a la actividad 6 No cumple los criterios Pasa a la actividad 5	Tipo de leche
5	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	INACTIVAR Y DESECHAR LECHE HUMANA Si al verificar que no cumple con criterios para continuar con el proceso de pasteurización se deberá desechar según normativa establecida. FIN	LHC desechada
6	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	DESCONGELAR LA LECHE HUMANA CRUDA (LHC) - Colocar agua en el baño maría previo a su encendido, esperar a que el agua alcance una temperatura de 40° C. - Introducir los frascos que estarán dispuesto de manera uniforme sobre la superficie de acero inoxidable del baño maría, con el volumen de leche 1 cm arriba del volumen de leche, para que todos los frascos puedan recibir la misma intensidad de calor durante el proceso de descongelamiento. - Se recomienda que el cierre de las tapas esté a ¼ de vuelta de su cierre definitivo (envase semicerrado). - Los frascos deberán ser suavemente agitados a cada minuto, para que la leche caliente próxima a la superficie pueda entrar en contacto con aquella que todavía se encuentra congelada, posibilitando así el intercambio de calor. - Es necesario un control efectivo del proceso para impedir la cesión de cantidades excesivas de calor que pueden ser asimiladas como calor sensible, elevando la temperatura más allá de 5 °C. - Una vez que se encuentren los frascos con una pequeña porción de hielo y sin aumentar más la temperatura se los retira del agua. Pasar a la actividad 7	LHC descongela

7	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	DETERMINAR EL OLOR Personal asignado deberá realizar: • Lavado de manos y uso de prendas de bioseguridad. • Prender el Mechero de Bunsen para evitar contaminar la leche. • Se procede a destapar frasco por frasco para su posterior olor. • El resultado se registra en el formulario examen físico químico de leche humana. Patrón de referencia: el olor primario, que en el inicio es levemente endulzado y después tiende para un patrón ligeramente salado, a partir del quinto mes de lactancia. Otro tipo de olor, denominado secundario, puede aparecer en la leche humana, derivado de las alteraciones en su composición, así como debido a la incorporación de sustancias químicas volátiles provenientes del medio externo o resultante del crecimiento microbiano indeseable. En estos dos últimos casos, el olor secundario pasa a ser denominado off-flavor. Su presencia descalifica la leche para su consumo. Hay que verificar si cumple las características para pasteuriza, deberá registrar en formulario correspondiente y tomará las siguientes decisiones: No cumple Pasa a la actividad A y continua con el proceso Si cumple Pasar a la actividad 8	Determinación efectiva
8	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	VERIFICACIÓN DE CUERPOS EXTRAÑOS (SUCIEDADES) Personal asignado tomara las siguientes consideraciones: • Preparar el área para la verificación: desinfectar el área con alcohol, uso de campo estéril, material estéril vigente, mechero. • Observar la presencia de cualquier cuerpo extraño tanto al fondo del frasco como al destaparlo.	LHC apta para pasteurizar

		- Son considerados ejemplos de suciedades comúnmente encontradas en la leche humana: Pelos, cabellos, restos de otros alimentos, fragmento de uña, insectos, pedazos de papel, vidrio etc. - El resultado se registra en el formulario examen físico químico de leche humana. Los patrones de referencia para la suciedad de la leche humana determinan como aceptable para el consumo la leche que no contiene cuerpos extraños en el momento de su evaluación. ¿Hay cuerpos extraños? Si hay Pasar a la actividad A y continua con el proceso No hay Pasa a la actividad 9	
9	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	DETERMINAR LA ACIDEZ DORNIC Personal asignado realizar lo siguiente: - Preparar el área para realizar la acidez: desinfectar el área con alcohol, uso de campo estéril, material estéril vigente, mechero. - Colocar en una gradilla los tubos de ensayo a necesitar (3 por cada frasco de leche). - Tras la homogenización manual, extraer con pipeta 4ml de leche a ser analizada y transferir ese volumen para un tubo de ensayo de 10 x 100mm. Proceder de la misma forma para cada nuevo frasco de leche descongelada. - Extraer con pipeta cuantitativamente 3 alícuotas de 1ml de la muestra recolectada en el ítem anterior para el interior de tubos de ensayo con capacidad para 5ml. Antes de extraer con pipeta cada alícuota, homogenizar cuidadosamente el tubo que contiene la muestra de leche humana extraída a ser analizada. - Adicionar a la alícuota de 1ml de leche humana a ser titulada, 1 gota de la solución indicadora de fenolftaleína. - Proceder a la titulación de la alícuota de leche humana extraída con NaOH N/9, gota a gota. Durante toda la titulación, el tubo de ensayo	LHC apta para pasteurizar

		conteniendo la leche debe ser permanentemente agitado, con apoyo de movimientos ligeros, para evitar la incorporación de aire al producto. • Interrumpir el procedimiento cuando hubiera el cambio del indicador, que pasa a tener una coloración rosáceo-clara, que se afirma. • Proceder a la lectura en ese momento. • Cada 0,01ml de hidróxido de sodio N/9 gastado corresponde a 1,0_oD. Si en un ensayo fueren gastados 0,04ml de solución, aquella muestra posee acidez Titulable igual a 4,0_oD. • El valor final de la acidez Dornic corresponde a la media aritmética de los tres valores obtenidos en el test individual de cada muestra. • Registrar cada medición en el formulario de examen físico químico de leche humana • Patrón de referencia: Se considera normal para la acidez de la leche humana cualquier valor situado en el intervalo de 1,0 a 8,0_oD, inclusive. ¿Cumple los criterios de 1 a 8? No, Pasa a la actividad A y continua con el proceso Si, Pasa a la actividad 10	
10	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	DETERMINAR CREMATOCRITO Personal Tecnólogo medico de laboratorio: • Preparar el área para realizar el crematocrito: desinfectar el área con alcohol, uso de campo estéril, material estéril vigente, mechero. • Tras la homogenización del frasco que contiene la leche humana extraída, extraer con pipeta de un 1ml, la alícuota de leche a ser analizada y transferir ese volumen para el tubo de ensayo de 5ml. • Disponer las muestras de 1ml en estante revestido de PVC y calentar en baño María a 40°C durante 10 minutos. • Una vez transcurrido el tiempo descrito en el ítem anterior, agitar con ayuda del agitador vortex y extraer, de forma independiente, 3 alícuotas de 75 micro litros, con apoyo de tubo micro capilar, de cada una de las muestras de leche humana extraída. • Cerrar una de las extremidades.	LHC apta para pasteurizar

		• Disponer los capilares en la centrífuga, posicionando las extremidades cerradas en la dirección centrífuga (para fuera). • Posicionar los capilares siempre dos a dos, en diagonal, de modo de equilibrar el plato de la centrífuga. • Centrifugar por 15 minutos, observando la velocidad que el fabricante de la centrífuga indica para la realización del test de crematocrito. • Proceder a la lectura tras la centrifugación. • Dos columnas podrán ser observadas: en la parte superior queda la columna de crema y en la inferior la columna de suero. • Tenor de crema: $\text{Columna de Crema (mm)} \times 100 \div \text{Columna Total (mm)} = \% \text{ de Crema}$. • Tenor de Grasa: $(\% \text{ de crema} - 0,59) \div 1,46 = \% \text{ de Grasa}$ $\text{Contenido Energético Total } (\% \text{ de crema} \times 66,8 + 290) = \text{Kcal/litro}$. • Como para cada frasco de leche evaluado se recogieron tres alícuotas en capilar, el valor final corresponde a la media aritmética encontrada. • Registrar los resultados obtenidos en el formulario de examen físico químico de leche humana. Patrón de referencia: Los productos que no cumplan las especificaciones determinadas dentro de los parámetros de normalidad deberán ser esterilizadas previo su descarte en el sistema de alcantarillado público. Nota: Una vez concluidas la selección y la clasificación, el Banco de Leche podrá optar por almacenar el producto, todavía crudo, para futuro procesamiento o iniciar inmediatamente el procesamiento y control de calidad. Pasar a la actividad 11	
11	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	REENVAZAR LA LECHE HUMANA Personal asignado deberá realizar: • El re envasado se realiza previamente a la pasteurización, en un ambiente estéril o con la ayuda de la técnica microbiológica que asegure la esterilidad en la operación del re envasado de la leche humana. • Preparar el área para realizar el re envasado: desinfectar el área con alcohol, uso de campo	LHC apta para pasteurizar

		estéril, material estéril vigente, mechero. • Encender el mechero de Bunsen para producir el campo de llama, procediendo al re envase bajo este campo o usar cabina de flujo laminar en caso de tenerla. • Toda leche humana re envasada deberá ser obligatoriamente rotulada de acuerdo a lo establecido en el ítem de selección y clasificación. • Los envases y los materiales que entrarán en contacto con la leche humana deberán estar obligatoriamente esterilizados. • La mezcla de leches humanas solamente será permitida con muestras consideradas propias para consumo en los test de selección y clasificación, aplicadas al producto crudo. • Se toma en cuenta para el re envasado: tipo de leche, crematocrito similar y acidez de $\pm 1^{\circ}\text{D}$ de diferencia y máximo de 3 donantes diferentes que pudieran completar 1 pool. • La leche es colocada en frascos de vidrio de 500ml (pool-300ml) • Se coloca el termómetro de alcohol en el frasco testigo previo a la pasteurización. Hay que verificar si es: mismo tipo de leche, es crematocrito similar o acidez de $\pm 1^{\circ}$ DORNIC. Pasar a la actividad 12	
12		COLOCAR EN FRASCO DE VIDRIO Previa a la pasteurización se deberá colocar en los frascos estériles de vidrio de 500 ml, comprobando su esterilidad. Pasa a la actividad 13	LHC apta para pasteurizar
13	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	PASTEURIZAR LECHE HUMANA CRUDA Personal asignado realizar las siguientes actividades: • Colocar agua destilada en el pasteurizador, encender y esperar que el mismo alcance una temperatura de 65°C. • En función del desprendimiento de aire disuelto en la leche humana durante el proceso de	LHC en proceso de pasteurización

		calentamiento, se recomienda que las tapas estén a $\frac{1}{4}$ de vuelta del cierre total (envase semicerrado). • Cargar el pasteurizador con la capacidad máxima de frascos. • Los frascos deberán contener el mismo volumen de leche humana extraída y estar térmicamente estabilizados a 5°C. • El frasco que ocupe la posición central en el baño María deberá contener un termómetro para medir la temperatura de la leche y funcionará como testigo. • Iniciar la marcación del tiempo inmediatamente después de cargar el baño-maría con todos los frascos. • El tiempo final de pre-calentamiento será determinado cuando la temperatura final del frasco control alcance 62,5°C. • Los frascos deberán ser agitados manualmente en intervalos regulares de 5 minutos. • Iniciar la marcación del tiempo de letalidad térmica (30 minutos) a partir del momento en que la temperatura de la leche humana alcanza la marca de 62,5°C. • Transcurridos los 30 minutos relativos a la letalidad térmica, promover el enfriamiento de los frascos hasta que la leche humana alcance una temperatura igual o inferior a 5°C. • Registrar las temperaturas en el formulario control de temperatura de pasteurización. Patrón de referencia: El equipamiento deberá ser calibrado rutinariamente cada 30 ciclos de pasteurización. No se permite oscilación de la temperatura superior a 0,05°C. Pasar a la actividad 14	
14	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	ENFRIAR LECHE HUMANA CRUDA Personal asignado realizar las siguientes actividades: • Colocar en el enfriador agua destilada y alcohol al 70%. • Medir el porcentaje de alcohol con la ayuda de un alcoholímetro en el agua que debe ser de 20%. • Encender el enfriador y esperar que la temperatura sea de 0°C o menor.	LHC en proceso de pasteurización

		• Una vez concluidos los 30 minutos de pasteurización, retirar los frascos y colocarlos en el enfriador produciendo un choque térmico. • Leer la temperatura de los frascos cada 5 minutos hasta que este alcance los 5°C para proceder al control microbiológico. • Registrar las temperaturas en el formulario control de temperatura de pasteurización. Pasar a la actividad 15	
15	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LECHE HUMANA PASTEURIZADA (LHP) Personal asignado realizar las siguientes actividades: a. Elaboración de medios de cultivo: • Pesar 50g (concentrado) o 40g (simple) del medio de cultivo Caldo Bilis Verde Brillante – Concentrado y adicionar a 1litro de agua destilada o des ionizada. • Agitar hasta disolución completa. • Distribuir 10ml del medio de cultivo ya preparado en tubos indicados para cultivo microbiológico con capacidad mínima de 15ml y colocar los tubos de Durham invertidos en el interior, conjuntamente con el medio de cultivo. • Esterilizar a 121°C durante 15 minutos, en autoclave. • Después del enfriamiento identificar los lotes de tubos con nombre del medio, concentración y el vencimiento. • Los tubos con medio de cultivo podrán ser mantenidos bajo refrigeración a 5°C, de acuerdo a lo establecido en la "Cadena de Frío", por hasta 15 días. • Verificar inmediatamente antes de cada utilización que los tubos de Durham que estén completamente inmersos en el medio de cultivo y libres de burbujas de aire en su interior. Patrón de referencia: Tras la esterilización, los tubos que contiene medio de cultivo deberán ser sometidos a test de validación. En consecuencia, el 10% de cada lote esterilizado debe ser incubado a temperatura de 37°C por 24	LHC en proceso de pasteurización

		horas. La formación de gas o turbiedad del medio en un único tubo descalifica el lote producido. b. Siembra de leche humana pasteurizada en el medio de cultivo: • Preparar el área para realizar la siembra: desinfectar el área con alcohol, uso de campo estéril, material estéril vigente, mechero. • Encender el mechero de bunsen para crear un campo estéril. • Tras el tratamiento térmico (pasteurización), extraer 4 alícuotas de 1ml de la muestra a ser analizada. Las alícuotas deberán ser recogidas en puntos diferentes del frasco con ayuda de la pipeta. • Sembrar todas las alícuotas de una misma muestra en un único tubo de cultivo que contiene Caldo Bilis Verde Brillante concentrado. • El procedimiento deberá ser conducido con rigor microbiológico, utilizando ambiente estéril, o campo de llama durante todo el procedimiento. • Tapar los tubos que contienen la leche con el medio de cultivo e incubarlos a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 horas, en estufa. • Cada tubo que reciba la muestra debe contener el número del frasco del cual la leche fue extraída. Patrón de referencia: La determinación de la presencia o ausencia de los coliformes totales se da por la observancia de la formación de gas en el interior de los tubos de Durham. Son considerados positivos para coliformes aquellos tubos que contengan en su interior tubos de Durham con formación de burbuja (gas), en el período de 24 a 48 horas de incubación. La presencia de gas indica un resultado presuntivo, que deberá ser sometido a prueba confirmatoria, obligatoriamente. c. Prueba confirmatoria • La prueba confirmatoria para presencia de coliformes se hace utilizando los tubos con resultados considerados positivos. • Recoger, bajo campo de llama, con auxilio del asa bacteriológica, una muestra de aquel tubo	
--	--	--	--

		con presencia de gas e inocular en medio Caldo Bilis Verde Brillante en la concentración simple. • Incubar el tubo con el medio Caldo Bilis Verde Brillante en la concentración simple y la muestra en estufa a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. Pasa a la actividad 16	
16	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	DAR LECTURA DEL RESULTADO DEL CULTIVO Se considera como resultado positivo final, aquellos frascos en que ocurrió la formación de gas en el test confirmatorio. Registrará en el formulario correspondiente. ¿El resultado es? Positivo Pasa a la actividad 17 Negativo Pasa a la actividad 19	LHC en proceso de pasteurización
17	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	REALIZAR PRUEBA CONFIRMATORIA En 24 horas se deberá realizar las pruebas para confirmar el proceso microbiológico. Pasa a la actividad 18	LHC en proceso de pasteurización
18	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	DAR LECTURA DEL RESULTADO DEL CULTIVO Según los tiempos establecidos para este procedimiento se verificará los resultados microbiológicos y se tomará las siguientes decisiones. ¿El resultado es? Positivo Pasa a la actividad A y continua con el proceso Negativo Pasa a la actividad 19	LHC pasteurizada

19	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	ALMACENAR EN CONGELADOR DE LECHE HUMANA PASTEURIZADA Aplicar el instructivo de almacenamiento de LHP con la finalidad de precautelar el producto. Pasa a la actividad 20	LHC pasteurizada y almacenada
20	Tecnólogo Médico de Laboratorio/ Bioquímicos / Lcdo. Laboratorio Clínico	APLICAR PROTOCOLO DE DISTRIBUCIÓN DE LECHE HUMANA PASTEURIZADA Personal asignado para la distribución deberá seguir las actividades descritas en el protocolo y realizar la entrega recepción de LHP. FIN	LHC pasteurizada lista para la distribución

6. INDICADORES

Nro.	Indicador	Dimensión	Frecuencia	Cálculo
1	Calidad	Leche humana cruda	mensual	Número de litros de leche desechada / Número de leche recolectada x 100
2	Calidad	Leche humana pasteurizada	mensual	Número de litros de leche pasteurizada / Número de leche recolectada x 100

7. REFERENCIAS

8. Bibliografía

Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (24 de ENERO de 2012). *NORMAS Y PROTOCOLOS PARA MANEJO DE BANCOS DE LECHE HUMANA Y PARA LA IMPLEMENTACION DE LA INICIATIVA DEL HOSPITAL AMIGO DEL NIÑO*. Obtenido de http://iberblh.org/images/ecuador/ecuador_normas.pdf

9. CONTROL DE CAMBIOS

Fecha	Descripción del cambio	Sección que cambia	Versión
30/08/2023	Nuevo	N/A	001

10. ANEXOS: ver link

https://drive.google.com/drive/folders/1SmHrJ3ggy_N7qRxpl6UfB0jN7a7X38ui?usp=share_link