

ORIGINAL

## Estudio de calidad de la pasteurización Holder de leche materna donada en una unidad de nutrición personalizada neonatal

Sylvia Caballero Martín\*, M. Carmen Sánchez Gomez de Orgaz y Manuel Sánchez Luna

Servicio de Neonatología, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

Recibido el 23 de agosto de 2020; aceptado el 21 de enero de 2021

### PALABRAS CLAVE

Banco de leche;  
Leche materna donada;  
Pasteurizador en seco;  
Pasteurización

### Resumen

**Objetivo:** La pasteurización Holder es la técnica utilizada más comúnmente en bancos de leche materna para minimizar el riesgo de transmisión de agentes infecciosos. Se han descrito distintos sistemas de pasteurización, que generalmente emplean agua o aire caliente como fuentes de calor. En el presente estudio, se analizó la calidad de la pasteurización realizada con una nueva pasteurizadora automatizada en seco, en una unidad de nutrición personalizada neonatal que procesa leche materna donada de madres de lactantes nacidos a distintas edades gestacionales y de diferentes edades postnatales.

**Material y método:** Se analizó la temperatura durante las distintas fases de la pasteurización con ocho sondas externas distribuidas uniformemente por toda la pasteurizadora. Se aplicaron los criterios óptimos recomendados por la Asociación Europea de Bancos de Leche (EMBA) para monitorizar la calidad de la pasteurización. También se realizó un análisis de macronutrientes en ocho frascos con distintos volúmenes de leche materna donada antes y después de una pasteurización programada.

**Resultados:** No se objetivaron diferencias significativas en los siguientes parámetros analizados: tiempo de calentamiento de 58 °C a 62,5 °C, duración de la meseta, temperatura máxima durante la meseta y tiempo de exposición a temperaturas superiores a 58 °C. El análisis de macronutrientes reveló diferencias significativas en el contenido graso, pero no en el proteico o el de lactosa.

**Conclusiones:** La pasteurización de leche materna mediante un pasteurizador sin agua cumplió los estándares de calidad recomendados por la EMBA, independientemente de la cantidad de leche procesada en cada frasco y con cambios significativos en el contenido graso, pero no en contenido proteico o de lactosa.

© 2021 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [sylvia.caballero@salud.madrid.org](mailto:sylvia.caballero@salud.madrid.org) (S. Caballero Martín).

<https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2021.01.019>

1695-4033/© 2021 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## KEYWORDS

Milk bank;  
Donor human milk;  
Water-free  
pasteurizer;  
Pasteurization

## Quality study of Holder pasteurization of donor human milk in a neonatal personalized nutrition unit

### Abstract

**Objective:** Holder pasteurization is the technique used most frequently in milk banks to minimize the risk of transmission of infectious agents. Different pasteurization devices have been described that generally use hot water or air as heat sources. In our study, we analysed the quality of pasteurization achieved with a new automated water-free pasteurizer in a neonatal personalized nutrition unit in which donated milk from mothers of infants delivered at different gestational ages and of different postnatal ages is pasteurized.

**Material and methods:** We analysed the temperatures of different phases of pasteurization with 8 external probes distributed evenly throughout the pasteurizer. We applied the optimal range criteria established by the European Milk Bank Association (EMBA) to assess the quality of pasteurization. We also analysed the macronutrient composition of 8 samples of donor human milk of different volumes before and after automated pasteurization.

**Results:** We did not find no significant differences in the following parameters under study: time from 58 °C to 62.5 °C, duration of plateau, highest temperature during plateau and length of exposure to temperatures over 58 °C. The macronutrient analysis showed significant changes in fat content but not in protein or lactose content.

**Conclusions:** Holder pasteurization of human milk with a water-free pasteurizer met the quality standards recommended by the European Milk Bank Association independently of the quantity of milk pasteurized in each bottle and with significant changes in the fat content but not in the protein or lactose content.

© 2021 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introducción

Los bancos de leche recogen, criban, almacenan, procesan y distribuyen leche materna donada (LMD) bajo condiciones óptimas, siguiendo protocolos estandarizados y realizando controles bacteriológicos, para proveer LMD a neonatos cuyas madres no pueden proporcionar suficiente leche por distintas razones, especialmente a prematuros de alto riesgo<sup>1</sup>. Como el contenido de nutrientes y aminoácidos de la LMD varía, dependiendo de las semanas de gestación y la edad postnatal del recién nacido de la donante, el suministro personalizado de LMD, teniendo en cuenta las edades gestacional y postnatal, podría ser una estrategia más beneficiosa para la nutrición de recién nacidos prematuros con necesidades diferentes<sup>2</sup>.

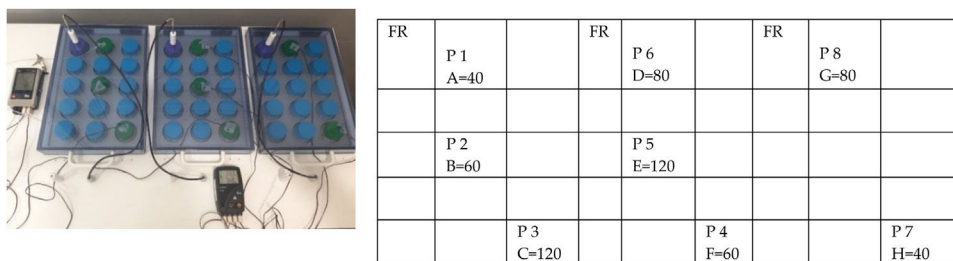
La pasteurización Holder es el procedimiento de referencia empleado para el procesamiento de LMD en los bancos de leche a nivel global, pues ofrece un buen equilibrio entre la seguridad microbiológica y la preservación de la calidad nutricional/biológica de la leche. El proceso requiere un calentamiento rápido de la leche hasta alcanzar los 62,5 °C, seguido de una etapa «meseta» a 62,5 °C de 30 minutos y de una fase de enfriamiento rápido hasta alcanzar los 4 °C. Para que el proceso se considere efectivo y seguro, los cambios de temperatura han de ser homogéneos independientemente de la distribución de los frascos en el pasteurizador y el volumen de leche que contengan. Los dispositivos empleados con mayor frecuencia son pasteurizadoras con calentamiento por aire o por agua. Recientemente, se han desarrollado

técnicas de pasteurización y sin pasteurización nuevas y más rápidas, con resultados prometedores. Entre sus ventajas se incluyen una reducción en la pérdida de nutrientes, una mayor preservación de componentes bioactivos y una seguridad microbiológica óptima: calentamiento óhmico, procesado por alta presión<sup>3</sup>, termoultrasonificación<sup>4</sup> y pasteurización flash (HTST) a 72 °C durante cinco a 15 segundos. Casi todos estos métodos se encuentran en fase de investigación o se han implementado únicamente en unos pocos bancos de leche<sup>5</sup>.

En el presente artículo, se describe un nuevo equipo para la pasteurización en seco de LMD controlada electrónicamente. El patrón de las temperaturas de pasteurización se evaluó mediante un método similar descrito previamente en la literatura<sup>6</sup>.

## Material y método

Estudio longitudinal observacional para la evaluación de las temperaturas de los ciclos de pasteurización efectuados con un pasteurizador desarrollado recientemente. El equipo Beldico PA 45 (International Medical Products, Bruselas, Bélgica) es una pasteurizadora sin agua que realiza todo el ciclo de pasteurización en seco (proceso de conducción por contacto, en lugar de convección mediante aire caliente), calentando la leche hasta alcanzar 62,5 °C, manteniendo la temperatura programada durante 30 min y terminando con una fase de enfriamiento rápido (< 10 °C). El ciclo completo dura aproximadamente dos horas.



**Figura 1** Distribución de las sondas externas y las muestras de leche materna en el pasteurizador. FR: frasco de referencia; P1-P8: posición de las sondas externas; A-H: posición de los distintos volúmenes de muestras de leche materna para el análisis nutricional.

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Nutrición Personalizada (UNP) del Servicio de Neonatología del Hospital Gregorio Marañón (Madrid, España) en septiembre del 2019.

La UNP se inauguró en marzo del 2018 para suministrar LMD únicamente a neonatos de alto riesgo ingresados en el Servicio de Neonatología. La leche humana fue donada exclusivamente por madres de neonatos ingresados en el Hospital Gregorio Marañón. La PNU recoge, criba, almacena, procesa y distribuye LMD clasificada según la edad gestacional al nacer y la edad postnatal del bebé de la donante en el momento de la recolección, con objeto de proveer la LMD pasteurizada (LMDP) más adecuada para la edad gestacional y postnatal del receptor. La leche donada no se mezcla y la trazabilidad se mantiene durante todo el proceso. De este modo, la PNU puede ofrecer nueve tipos diferentes de PLMD: calostro, leche de transición y leche madura, en tres rangos de edad gestacional (< 28 semanas, 28 a 32 semanas y 32 a 37 semanas).

Como objetivo secundario, se analizó la composición de macronutrientes en distintas cantidades de leche humana antes y después del proceso de pasteurización.

## Muestra

El pasteurizador Beldico PA 45 tiene tres bloques de calentamiento independientes con un «frasco testigo» de control en cada uno. El equipo consta de un procesador multicanal y un controlador de dispositivo que recibe lecturas continuas de siete sondas. En cada bloque, la sonda del frasco de «referencia» monitoriza continuamente la temperatura de la leche y dirige el proceso de pasteurización, mientras que otras tres sondas monitorizan periódicamente la temperatura de los bloques de calentamiento y una última controla la temperatura del fluido refrigerante.

En el estudio, se realizó una monitorización continua de las temperaturas mediante ocho sondas externas (tecnología de medición electrónica Testo®), distribuidas uniformemente entre los 45 frascos del pasteurizador (fig. 1). El ciclo de pasteurización se llevó a cabo tres veces, añadiendo volúmenes distintos a los frascos: 120 mL de leche de vaca en el primer ciclo, 60 mL en el segundo ciclo y distintos volúmenes de entre 40 y 120 mL en el tercer ciclo (volumen mixto).

Antes y después de una pasteurización programada de leche materna descongelada de una única donante, se analizaron ocho muestras de ocho frascos con distintos volúmenes (40 a 120 mL) mediante espectroscopia de infrarrojos transformada de Fourier (analizador MilkoScan™ Mars Analyzer),

para determinar la composición de macronutrientes de la leche, incluyendo el contenido graso, proteico y de lactosa (fig. 1).

## Medición

Las ocho sondas externas midieron la temperatura cada 15 segundos. Los datos se recogieron con dos dispositivos (Testo 176 y Testo 177) y se descargaron al software correspondiente (JUMO PCA 3000). Se realizaron tres ciclos completos de pasteurización con distintos volúmenes de leche de vaca.

La composición nutricional de ocho muestras de leche se analizó antes y después de la pasteurización. Cada muestra se precalentó a 40°C, siguiendo las instrucciones del fabricante del analizador.

## Recogida de datos

Se tomaron como referencia los parámetros para el control de calidad de los pasteurizadores de leche humana propuestos por Buffin et al.<sup>5</sup>. Para verificar que la pasteurización se había realizado correctamente y había sido efectiva, el análisis incluyó los siguientes parámetros: 1) tiempo de calentamiento de temperatura ambiente a 58°C; 2) tiempo de calentamiento de 58°C a 62,5°C; 3) duración de la meseta; 4) tiempo de enfriamiento de 62,5°C a 6°C; 5) duración total del ciclo de pasteurización; 6) tiempo de exposición a más de 58°C; y 7) temperatura máxima durante la meseta.

## Análisis de datos

Se recogieron datos para los tres ciclos de pasteurización, incluyendo las medidas obtenidas con las ocho sondas de temperatura. Para cada ciclo, se calculó la temperatura media en cada uno de los seis parámetros con su correspondiente intervalo de confianza del 95%. Se realizó un análisis de varianza para comparar los tres ciclos y determinar si el tratamiento había sido homogéneo, con independencia de la cantidad de leche de vaca pasteurizada en cada uno. La comparación de los contenidos medios de macronutrientes antes y después de la pasteurización se realizó por medio de la prueba *t* de Student o, en caso de variables no paramétricas, la prueba *U* de Mann-Whitney. Valores de *p* < 0,05 se consideraron estadísticamente significativos. También se evaluó

**Tabla 1** Medias de duración y de temperatura (con intervalos de confianza del 95%)

Parámetro	120 mL	60 mL	Volumen mixto	valor p	EMBA <sup>a</sup>
Calentamiento de temperatura ambiente a 58 °C (min)	26,142 (24,82-27,45)	20,06 (19,36-20,75)	22,93 (21,31-24,55)	0,000	
Calentamiento de 58 a 62,5 °C (min)	11,78 (10,98-12,59)	11,10 (10,39-11,81)	11,53 (10,38-12,67)	0,466	
Duración de la meseta (min)	31,60 (29,94-33,26)	33,63 (32,36-34,89)	32,90 (30,57-35,22)	0,201	30-35
Temperatura máxima (°C)	63,58 (63,39-63,77)	63,48 (63,31-63,65)	63,32 (62,87-63,77)	0,378	62,5-64
Enfriamiento de 62,5 a 6 °C (min)	52 (49,30-54,69)	40,38 (38,43-42,33)	48,83 (46,87-50,79)	0,000	< 60
Exposición a > 58 °C (min)	45,60 (44,43-46,77)	47,06 (46,45-47,67)	45,78 (44,16-47,40)	0,110	< 50
Duración del ciclo (min)	120,9 (118,23-123,58)	101,28 (99,22-103,34)	116,09 (114-118,18)	0,000	

<sup>a</sup> EMBA: rango óptimo recomendado por la Asociación Europea de Bancos de Leche (EMBA).

**Tabla 2** Análisis de macronutrientes antes y después de la pasteurización de leche materna donada (media [IC 95%]) y delta%

Nutriente	Antes de la pasteurización	Después de la pasteurización	valor p	Delta %
Proteína (g/100 mL)	1,34 (1,33-1,34)	1,32 (1,29-1,35)	0,51	-1,49% (0,7-3)
Grasa (g/100 mL)	3,06 (3,02-3,09)	2,87 (2,81-2,94)	0,00	-6,2% (4,8-6,9)
Lactosa (g/100 /mL)	7,26 (7,22-7,30)	7,29 (7,12-7,47)	0,66	Sin cambios

la magnitud de los cambios en los contenidos proteico, graso y de lactosa (Delta%).

El análisis se llevó a efecto con el software IBM SPSS Statistics versión 22.

## Resultados

La [tabla 1](#) muestra las temperaturas y las duraciones registradas en los tres ciclos de pasteurización. La última columna indica los valores óptimos recomendados por la Asociación Europea de Bancos de Leche (EMBA) para la pasteurización Holder de leche materna<sup>7</sup>. No hubo diferencias significativas en cuatro de los siete parámetros analizados en la comparación del procesado de distintos volúmenes de leche: tiempo de calentamiento de 58 a 62,5 °C, duración de la meseta, temperatura máxima durante la meseta y tiempo de exposición a temperaturas superiores a 58 °C. Todos los parámetros cumplieron con las recomendaciones de la EMBA.

Se observaron diferencias significativas en los tres parámetros restantes (tiempo de calentamiento de temperatura ambiente a 58 °C, tiempo de enfriamiento de 62,5 °C a 6 °C y duración total del ciclo de pasteurización), con mayor duración en el ciclo de 120 mL. Además de estas diferencias, el tiempo de enfriamiento en el ciclo de 120 mL fue inferior a los 60 min recomendados por la EMBA.

La pasteurización redujo el contenido graso de la leche (-6,2%), pero no hubo cambios significativos en el contenido proteico (-1,49%) o el de lactosa (sin cambios) ([tabla 2](#)).

## Discusión

En el presente estudio, la pasteurización Holder de leche materna realizada con una pasteurizadora en seco cumplió con los criterios de calidad recomendados con independencia del volumen de leche procesado en cada ciclo y la distribución de los frascos en la pasteurizadora. Los datos mostraron una tendencia a la prolongación de los tiempos de calentamiento y de enfriamiento en ciclos con volúmenes mayores, pero su duración no excedió los estándares de calidad internacionales<sup>7</sup>.

En general, la pasteurización Holder es el método más utilizado para procesar leche humana en los bancos de leche<sup>8</sup>. Esta técnica ha demostrado una seguridad microbiológica alta, eliminando la mayoría de las bacterias y virus con excepción de las bacterias esporuladas y el virus de la hepatitis B, mediante el calentamiento a temperatura baja (62,5 °C) durante un tiempo prolongado (30 min)<sup>5</sup>. La fase de enfriamiento que sigue al tratamiento ha de ser rápida para evitar la proliferación de las bacterias residuales. La preocupación por los posibles efectos sobre la leche materna de la intensidad y duración del calentamiento y el enfriamiento han llevado a la industria a desarrollar técnicas novedosas sin pasteurización y a mejorar los métodos existentes de este proceso, ajustando temperaturas y acortando la duración de las distintas fases con independencia del volumen a procesar a la vez que se asegura la homogeneidad del tratamiento en distintas zonas del pasteurizador. Estudios recientes muestran que un mejor control de la temperatura en las fases críticas de la pasteurización consigue una

retención superior de los componentes inmunológicos más importantes de la leche materna<sup>9,10</sup>. Esto es especialmente relevante en la pasteurización de la LMD del pretérmino, cuyas propiedades bioactivas son superiores en comparación con la LMD a término<sup>11</sup> y teniendo en cuenta además la amplia variación en el contenido de macronutrientes entre madres y en cada una de ellas, dependiendo de la edad gestacional<sup>12,13</sup>.

El análisis nutricional mostró contenidos similares de lactosa y reducciones no significativas en el contenido proteico, independientemente del volumen de leche pasteurizada evaluada con volúmenes similares a los procesados en la práctica clínica. El análisis del contenido graso detectó una reducción del 6,2% tras la pasteurización, similar al reportado en otros estudios recientes<sup>14</sup>. En la UNP, el proceso de pasteurización se centra en proveer leche de la mayor calidad posible a cada receptor, siendo los recién nacidos de muy bajo peso al nacer los pacientes más vulnerables y con necesidades nutricionales especiales. La composición de la leche recogida de madres de nacidos pretérmino es diferente, dependiendo no solo de la duración del embarazo de la donante sino también de la edad postnatal de su bebé, con variaciones significativas que se extienden hasta, al menos, las cinco semanas postparto<sup>15</sup>.

La nutrición personalizada neonatal requiere un contacto directo y estrecho entre el personal del banco de leche y las donantes, madres de prematuros ingresados en la unidad neonatal. Muchos prematuros, especialmente los nacidos antes de las 28 semanas de gestación, reciben leche donada en las primeras horas de vida y sus madres, una vez que producen suficiente leche propia, pasan a ser donantes. La leche recogida de una misma donante no se mezcla y se clasifica como calostro, leche de transición o leche madura, así como por las semanas de gestación de la donante (< 28 semanas, 28 a 32 semanas, 32 a 37 semanas y mayor de 37 semanas). Con frecuencia los ciclos de pasteurización incluyen frascos con diferentes volúmenes dependiendo del tipo de leche que se procesa, correspondiendo los volúmenes menores a los calostros de madres con menor edad gestacional.

Estudios recientes que han analizado la leche materna pretérmino y a término, empleando tecnologías «ómicas» han descrito cambios no solo en los macronutrientes, sino también y con mayor relevancia, en los micronutrientes, evidenciándose variaciones dinámicas en el proteoma, el metaboloma, la microbiota y la expresión génica en la leche, que mostraban una adaptación natural a las necesidades del lactante<sup>16</sup>. Los efectos de la pasteurización sobre estos componentes han de minimizarse, empleando la mejor técnica posible y mediante controles de calidad de las pasteurizadoras actualmente disponibles en las unidades neonatales.

En conclusión, la pasteurización Holder de leche humana con una pasteurizadora en seco cumplió los criterios de calidad recomendados por la Asociación Europea de Bancos de Leche independientemente de la cantidad de leche procesada en cada frasco, con cambios significativos en el contenido graso, pero no en el proteico o en la lactosa.

## Financiación

Este trabajo no ha recibido ningún tipo de financiación.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a María Luisa García Serrano y Henar Muñoz Moyano, enfermeras de la Unidad de Nutrición Personalizada, por su contribución y apoyo al estudio.

## Bibliografía

1. Hayden N, Ziegler EE. Human Milk Banking. *Ann Nutr Metab.* 2016;69 suppl 2:8–15, <http://dx.doi.org/10.1159/000452821>.
2. Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57:535–42, <http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3182a3af0a>.
3. Permanyer M, Castellote C, Ramirez-Santana C, Audí C, Pérez-Cano FJ, Castell M, et al. Maintenance of breast milk Immunoglobulin A after high-pressure processing. *J Dairy Sci.* 2010;93:877–83, <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2643>.
4. Czank C, Simmer K, Hartmann PE. Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: effect on milk quality. *J Dairy Res.* 2010;77:183–9, <http://dx.doi.org/10.1017/S0022029909990483>.
5. Picaud JC, Buffin R. Human milk treatment and quality of banked human milk. *Clin Perinatol.* 2017;44:95–119, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clp.2016.11.003>.
6. Buffin R, Pradat P, Trompette J, Ndiaye I, Besson E, Jordan I, et al. Air and water processes do not produce the same high-quality pasteurization of donor human milk. *J Hum Lact.* 2017;33:717–24, <http://dx.doi.org/10.1177/0890334417707962>.
7. Moro GE, Billeaud C, Buffin R, Calvo J, Cavallarín L, Christen L, et al. Processing of donor human milk: update and recommendations from the European Milk Bank Association (EMBA). *Front Pediatr.* 2019;28:7–49, <http://dx.doi.org/10.3389/fped.2019.00049>.
8. Weaver G, Bertino E, Gebauer C, Grosvliet A, Mileusnic-Milenovic R, Arslanoglu S, et al. Recommendations for the establishment and operation of human milk banks in Europe: A consensus statement from the European Milk Bank Association (EMBA). *Front Pediatr.* 2019;4:7–53, <http://dx.doi.org/10.3389/fped.2019.00053>.
9. Peila C, Emmerik NE, Giribaldi M, Stahl B, Ruitenbergh JE, Van Elburg RM, et al. Human milk processing: a systematic review of innovative techniques to ensure the safety and quality of donor milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64:353–61, <http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0000000000001435>.
10. Buffin R, Hays S, Drai J, Sarda MN, Picaud JC. Better control of holder pasteurization results in higher retention of human milk lactoferrin, IgA and lysozyme. *Front Pediatr.* 2018;6:381, <http://dx.doi.org/10.3389/fped.2018.00381>.
11. Perrone S, Longini M, Zollino I, Bazzini F, Tassini M, Vivi A, et al. Breast Milk: to each his own From metabolomic study, evidence of personalized nutrition in preterm infants. *Nutrition.* 2019;62:158–61, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2018.12.015>.
12. Bauer J, Gerss J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants. *Clin Nutr.* 2011;30:215–20, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2010.08.003>.

13. Boyce C, Watson M, Lazidis G, Reeve S, Dods K, Simmer K, et al. Preterm human milk composition: a systematic literature review. *Br J Nutr.* 2016;116:1033–45, <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516003007>.
14. Piemontese P, Mallardi D, Liotto N, Tabasso C, Menis C, Perrone M, et al. Macronutrient content of pooled donor human milk before and after Holder pasteurization. *BMC Pediatr.* 2019;19:58, <http://dx.doi.org/10.1186/s12887-019-1427-5>.
15. Sundekilde UK, Downey E, O'Mahony JA, O'Shea CA, Ryan CA, Kelly AL, et al. The effect of gestational and lactational age on the human milk metabolome. *Nutrients.* 2016;8:304, <http://dx.doi.org/10.3390/nu8050304>.
16. Bardanzellu F, Fanos V, Reali A. «Omics» in human colostrum and mature milk: looking to old data with new eyes. *Nutrients.* 2017;9:843, <http://dx.doi.org/10.3390/nu9080843>.