

О.А. Лукоянова<sup>1</sup>, Т.Э. Боровик<sup>1,2</sup>, Т.В. Потехина<sup>1</sup>, А.В. Лазарева<sup>1</sup>, О.А. Крыжановская<sup>1</sup>, Г.В. Яцык<sup>1</sup>, Е.В. Щепкина<sup>3</sup>, А.И. Кузнецов<sup>4</sup>

## ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ СЦЕЖЕННОГО МАТЕРИНСКОГО И ДОНОРСКОГО ГРУДНОГО МОЛОКА

<sup>1</sup>ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» МЗ РФ, <sup>2</sup>ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), Институт здоровья детей, кафедра педиатрии и детской ревматологии, <sup>3</sup>Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте РФ, <sup>4</sup>Акционерное общество «Сфера», г. Москва, РФ



**Цель исследования:** изучение влияния разных температурных условий и сроков хранения сцеженного материнского и донорского грудного молока (ГМ) на его микробиологическую безопасность. **Материалы и методы исследования:** проведено открытое проспективное исследование, в котором были включены 120 кормящих женщин. Пробы ГМ подвергали микробиологической оценке при различных режимах хранения. Посев биологического материала осуществляли полуколичественным методом. Видовую идентификацию полученных микроорганизмов проводили на масс-спектрометре MALDI-TOF-MS Biotyper MicroFlexi в бактериологическом анализаторе VITEK. **Результаты:** у 66% женщин в пробах сцеженного ГМ был выявлен рост ( $10^3$ – $10^5$  КОЕ/мл) условно патогенных бактерий (УПБ) с преобладанием *S. epidermidis* (55%). Ни в одном образце сцеженного ГМ, хранящегося в течение 3 ч при комнатной температуре ( $t^{\circ} +23^{\circ}\text{C}$ ), в течение суток в холодильной камере ( $t^{\circ} +4$ – $6^{\circ}\text{C}$ ) и в течение 1 мес в морозильной камере ( $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$ ), не был зарегистрирован рост УПБ. Однако было выявлено снижение роста общего числа бактерий, в т.ч. *S. epidermidis*, при хранении сцеженного молока в течение 24 ч при  $t^{\circ} +4$ – $6^{\circ}\text{C}$  и в течение 1 мес при  $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$ . Установлено, что пастеризация ГМ приводит к достоверному снижению количества УПБ. Показано отсутствие роста общего числа бактерий при хранении донорского ГМ при  $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$  в течение как 1, так и 3 мес.

**Ключевые слова:** сцеженное материнское молоко, индивидуальный банк молока, банк донорского грудного молока, микробиологическая безопасность, хранение молока, «дерево принятия решений».

**Цит.:** О.А. Лукоянова, Т.Э. Боровик, Т.В. Потехина, А.В. Лазарева, О.А. Крыжановская, Г.В. Яцык, Е.В. Щепкина, А.И. Кузнецов. Оценка микробиологической безопасности сцеженного материнского и донорского грудного молока. *Педиатрия*. 2019; 98 (5): 102–109.

O.L. Lukoyanova<sup>1</sup>, T.E. Borovik<sup>1,2</sup>, T.V. Potechina, A.V. Lazareva<sup>1</sup>, O.A. Kryzhanovskaya<sup>1</sup>, G.V. Yatsyk<sup>1</sup>, E.V. Schepkina<sup>3</sup>, A.I. Kuznetsov<sup>4</sup>

## ASSESSMENT OF MICROBIOLOGICAL SAFETY OF EXPRESSED MOTHER AND DONOR BREAST MILK

<sup>1</sup>National Medical Research Center of Children's Health; <sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Institute of Children's Health, Pediatrics and Pediatric Rheumatology Department; <sup>3</sup>Russian Presidential Academy of National Economy and Public Administration; <sup>4</sup>«Sphere» JSC, Moscow, Russia

### Контактная информация:

**Лукоянова Ольга Леонидовна** – д.м.н., вед. научн. сотрудник лаборатории питания здорового и больного ребенка ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ, проф. каф. подготовки медицинских кадров для детского здравоохранения Института подготовки медицинских кадров ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ  
**Адрес:** Россия, 119991, г. Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1  
**Тел.:** (495) 132-26-00, **E-mail:** anlouk@yandex.ru  
Статья поступила 20.08.19, принята к печати 20.09.19.

### Contact Information:

**Lukoyanova Olga Leonidovna** – MD., leading researcher of the Laboratory of Nutrition of a Healthy and Sick Child, National Medical Research Center of Children's Health; prof. of the Department of Training of Medical Personnel for Children's Healthcare, National Medical Research Center of Children's Health  
**Address:** Russia, 119991, Moscow, Lomonosovskiy prospekt, 2/1  
**Tel.:** (495) 132-26-00, **E-mail:** anlouk@yandex.ru  
Received on Aug. 20, 2019, submitted for publication on Sep. 20, 2019.

**Objective of the research:** to study the effect of different temperature conditions and shelf life of expressed mother and donor breast milk (BM) on its microbiological safety. **Materials and methods:** an open prospective study was performed, which included 120 lactating women. BM samples were microbiologically evaluated under various storage conditions. Seeding of biological material was performed by a semi-quantitative method. Species identification of the obtained microorganisms was performed using a MALDI-TOF-MS Biotyper MicroFlex mass spectrometer and a VITEK bacteriological analyzer. **Results:** in 66% of women, samples of expressed BM showed an increase ( $10^3$ – $10^5$  CFU/ml) of conditionally pathogenic bacteria (CPB) with a predominance of *S. epidermidis* (55%). None of the samples of the expressed BM stored for 3 hours at room temperature ( $t^\circ + 23^\circ\text{C}$ ) during the day in the refrigerator ( $t^\circ + 4$ – $6^\circ\text{C}$ ) and for 1 month in the freezer ( $t^\circ - 18^\circ\text{C}$ ), the growth of CPB was not recorded. However, a decrease in the growth of bacteria total number was revealed, including *S. epidermidis*, when storing expressed milk for 24 hours at  $t^\circ + 4$ – $6^\circ\text{C}$  and for 1 month at  $t^\circ - 18^\circ\text{C}$ . It was found that BM pasteurization leads to a significant decrease in the number of CPB. The study revealed no increase in the total number of bacteria during storage of donor milk at  $t^\circ - 18^\circ\text{C}$  for both 1 and 3 months.

**Keywords:** expressed breast milk, individual milk bank, donor breast milk bank, microbiological safety, milk storage, «decision tree».

**Quote:** O.L. Lukoyanova, T.E. Borovik, T.V. Potetchina, A.V. Lazareva, O.A. Kryzhanovskaya, G.V. Yatsyk, E.V. Schepkina, A.I. Kuznetsov. Assessment of microbiological safety of expressed mother and donor breast milk. *Pediatrics*. 2019; 98 (5): 102–109.

Современные научные исследования убедительно демонстрируют уникальные преимущества грудного молока (ГМ) не только для обеспечения полноценного роста и психофизического развития ребенка, но и для профилактики отдаленных метаболических расстройств [1, 2].

Известно, что многие патологические состояния младенца приводят к необходимости полного, частичного или временного отказа от кормления из груди с переходом на питание сцеженным материнским, а в случае его отсутствия – донорским молоком [3–5].

Кормление ребенка сцеженным материнским молоком, в т.ч. и из индивидуального банка, является удобным и современным способом сохранения грудного вскармливания (ГВ) в ситуациях, не позволяющих осуществлять полноценное кормление из груди матери [6]. Индивидуальный банк молока представляет собой запасы замороженного сцеженного материнского молока, размещенного порционно в удобные емкости, хранящиеся при низких температурах ( $t^\circ - 18^\circ\text{C}$ ) и готовые к использованию для кормления ребенка в особенных ситуациях (болезнь матери или ребенка, выход матери на работу и др.).

Наиболее актуальна эта технология в случае организации ГВ больных детей в неонатальных стационарах [7–9].

При отсутствии материнского молока предоставление больному ребенку донорского молока входит в число его основных прав [10]. В резолюции 61-й сессии ВОЗ (2008) отмечена важность изучения в качестве стратегии сокращения рисков развития различных заболеваний, связанных с использованием молочных смесей, возможности и безопасности применения донорского молока через банки ГМ для уязвимых категорий пациентов, в частности недоношенных детей и детей с иммунодефицитными состояниями [11].

Согласно заявлению Американской академии педиатрии (AAP), сделанному в 2017 г., рекомендуется использование донорского ГМ для вскармливания недоношенных детей с массой тела менее 1500 г в случае отсутствия материнского молока [12]. По официальным данным,  $\frac{2}{3}$  всех неонатальных госпиталей в США используют донорское молоко, учитывая его высокие доказанные преимущества перед молочными смесями для здоровья младенца [13].

В нашей стране отмечается низкая осведомленность населения о достоинствах и безопасности использования донорского ГМ при недостатке или отсутствии материнского молока. Опрос, проведенный нами среди матерей, отцов и медицинских работников, выявил, что  $\frac{1}{3}$  всех респондентов не считает применение донорского молока в питании детей безопасным, и лишь 27% матерей и отцов и менее половины медработников уверены в безопасности применения донорского молока в питании детей [14].

Зарубежные исследования последних десятилетий подтверждают инфекционную безопасность донорского ГМ, которая обеспечивается тщательным отбором женщин-доноров, процедурой пастеризации ГМ, соответствующей международным стандартам (при температуре  $62,5^\circ\text{C}$  в течение 30 мин), и проведением неоднократных микробиологических тестов [15].

В многочисленных работах доказано, что после пастеризации инактивируются все известные патогенные вирусы и бактерии, в т.ч. цитомегаловирус, вирусы гепатитов В и С, микобактерии туберкулеза и ВИЧ [16].

Кормление ребенка как сцеженным материнским, так и донорским (пастеризованным) молоком поднимает важные вопросы его микробиологической безопасности при различных методах хранения и обработки (охлаждение, замораживание, размораживание, пастеризация, подогрев), что является предметом актив-

ного изучения и обсуждения за рубежом [17, 18], но представлено лишь единичными работами в нашей стране [19, 22].

Несмотря на то что в нашей стране технология хранения сцеженного ГМ, а также использование донорского молока в стационаре и родильных домах не регламентированы существующими законами, многие учреждения родовспоможения и детства берут на себя ответственность за составление подобных методик и внедрение их в свою практическую деятельность. Кроме того, чрезвычайно распространено запасание сцеженного ГМ в домашних условиях. Все более популярной становится передача донорского молока из рук в руки, что неизбежно повышает риск инфицирования посредством его употребления.

В отсутствие официальных отечественных рекомендаций по хранению сцеженного и обработке донорского ГМ на практике можно использовать протокол Академии медицины грудного вскармливания, в котором подробно описана технология хранения, замораживания и размораживания, а также пастеризации ГМ в домашних условиях [18].

Вопросы безопасности хранения сцеженного материнского и донорского ГМ и возможности их использования для питания ребенка у нас в стране являются малоизученными, но чрезвычайно актуальными для исследования и широкого практического внедрения.

Цель нашей работы – оценка микробиологических рисков технологий индивидуального банка ГМ и банка донорского ГМ, включившая в себя изучение влияния разных температурных условий и сроков хранения сцеженного материнского (нативного) и донорского ГМ на его микробиологическую безопасность.

### Материалы и методы исследования

Проведено открытое проспективное исследование. Составление дизайна исследования и обработка полученного материала проведены в лаборатории питания здорового и больного ребенка ФГАУ «НМИЦ

здоровья детей» МЗ РФ. Получение образцов ГМ осуществляли у кормящих женщин, госпитализированных со своими детьми в отделение патологии новорожденных «НМИЦ здоровья детей». Хранение и обработку молока (пастеризацию) производили в банке ГМ «НМИЦ здоровья детей», а микробиологические исследования выполняли в лаборатории микробиологии учреждения. Работа продолжалась с декабря 2017 г. по май 2019 г.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» (протокол заседания № 25 от 21.11.2017).

В исследование были включены 120 кормящих женщин, подписавших информированное согласие на участие в нем, согласие быть донором ГМ и удовлетворявших критериям донорства: отрицательные результаты на ВИЧ, сифилис, гепатиты В и С, отсутствие вредных привычек (курение, употребление алкоголя, наркотиков), незащищенных половых связей, а также переливания крови за 6 мес до донорства. Для каждой женщины заполняли индивидуальную регистрационную карту.

### Получение образцов ГМ

Для исследования брали переходное и зрелое ГМ на 5–60-й день лактации. Женщины сцеживали ГМ в стерильных перчатках в контейнеры Philips AVENT, предварительно обработав околососковую область молочной железы 0,5% водным раствором хлоргексидина. Затем молоко разделяли на порции с последующим распределением в зависимости от вида обработки и срока хранения. Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Для оценки микробиологической безопасности технологии индивидуального банка ГМ отобранные пробы сцеженного (нативного) ГМ подвергали анализу в зависимости от режима хранения: 1) сразу после сцеживания; 2) через 3 ч после его хранения при комнатной температуре ( $t^{\circ} +23-25^{\circ}\text{C}$ ); 3) через 24 ч после хранения в холодильнике ( $t^{\circ} +4-6^{\circ}\text{C}$ ), 4) через 1 мес после хранения в замороженном виде при  $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$ .

Пастеризацию ГМ проводили на водяной бане при  $t^{\circ} +62,5^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин (метод Холдера). По окончании процесса пастеризации контейнеры с

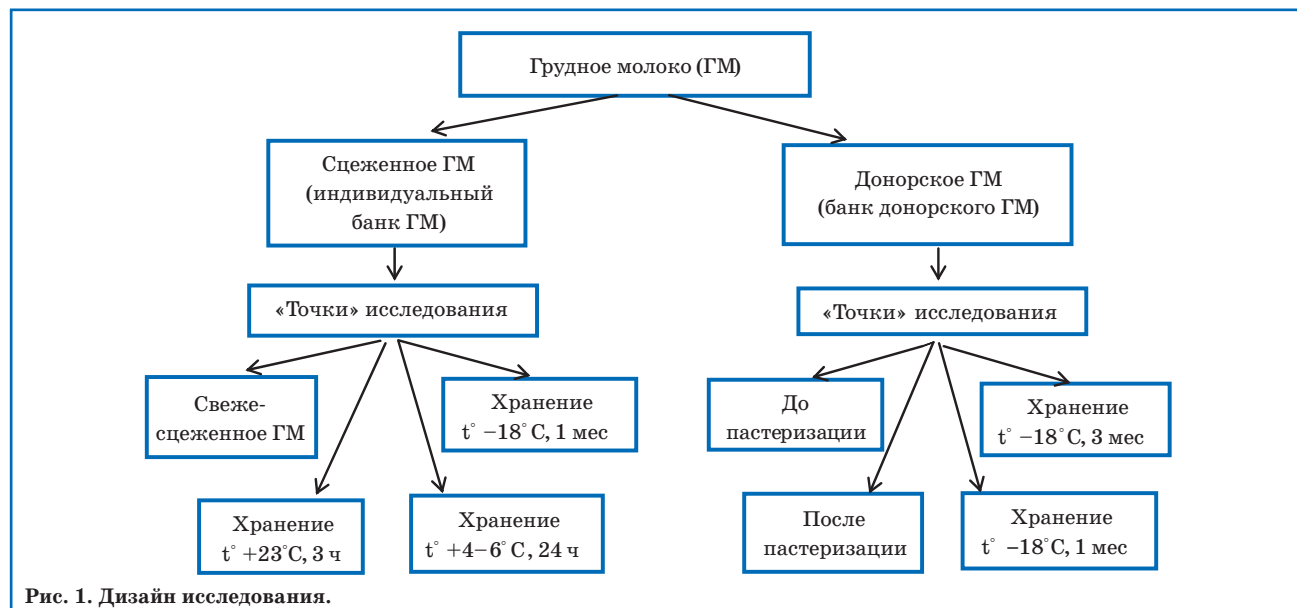


Рис. 1. Дизайн исследования.

Таблица 1

### Характеристика роста общего количества бактерий

Общее количество бактерий	Характеристика роста числа бактерий
До 1000 ( $10^3$ ) КОЕ/мл	Ухудный
От 1000 до 10 000 ( $10^4$ ) КОЕ/мл	Умеренный
От 10 000 до 100 000 ( $10^5$ ) КОЕ/мл	Обильный
Более 100 000 ( $10^5$ ) КОЕ/мл	Сплошной

молоком вынимали из пастеризатора и охлаждали под проточной холодной водой до  $t^{\circ} +4-10^{\circ} \text{C}$ , после чего донорское молоко в асептических условиях (ламинарный поток воздуха в предварительно обработанном ультрафиолетом пространстве специальной камеры) разливали в стерильные контейнеры Philips AVENT и подвергали заморозке при  $t^{\circ} -18^{\circ} \text{C}$  с последующим хранением при этой же температуре.

Для размораживания молоко выкладывали на 12 ч в холодильник ( $t^{\circ} +4-6^{\circ} \text{C}$ ), после чего подогревали под струей теплой проточной воды до температуры кормления ( $+36-37^{\circ} \text{C}$ ).

Всего было исследовано 840 проб ГМ.

Посев биологического материала осуществляли полуквантитативным методом: 0,1 мл ГМ наносили на питательные среды (кровяной и желточно-солевой агар) и шпателем равномерно распределяли на поверхности. Видовую идентификацию полученных микроорганизмов проводили на масс-спектрометре MALDI-TOF-MS Biotyper MicroFlex (Bruker, Германия) и в бактериологическом анализаторе VITEK (BioMerieux, Франция).

Результат микробной обсемененности ГМ выражали количеством колониеобразующих единиц в 1 мл молока (КОЕ/мл) (табл. 1).

Образцы ГМ, в которых определяли рост общего количества бактерий  $>100\ 000$  КОЕ/мл либо кишечных бактерий или *S. aureus*  $>10\ 000$  КОЕ/мл, выбраковывали и считали непригодными для питания ребенка, согласно рекомендациям Европейской ассоциации банков ГМ [14], но использовали для дальнейшего исследования и статистической обработки, согласно протоколу.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета программ SPSS 21.0 (SPSS Inc., США). В ходе корреляционного анализа применены критерий Спирмена. Зависимость роста бактерий от способов хранения рассчитывали на основе непараметрического критерия Мак Немара для связанных выборок (уровень значимости  $=0,05$ , доверительный интервал 95%).

Было построено дерево принятия решений – схематическое представление проблемы принятия решений средствами языка Питон (Python 3.6. Anaconda) с использованием встроенного метода «Decision Tree Classifier» (классификатор дерева решений) из библиотеки Sklearn [18, 19]. На вход метода были поданы все существующие переменные из анамнеза матери и ребенка. Алгоритм метода выбрал среди них наиболее значимые, которые и были использованы для постро-

ения дерева (автоматический отбор переменных). В дальнейшем программа позволяла произвести оценку всех имеющихся переменных из анамнеза женщин и детей и выбрать ту переменную, разбиение по которой имело максимальное различие. Качество разбиения оценивали с помощью статистического критерия – индекса Gini.

### Результаты

В исследование были включены 120 женщин. Большинство из них были в возрасте до 30 лет. Каждая 5-я мать имела избыточный вес (индекс массы тела – ИМТ  $25-30$  кг/м<sup>2</sup>) или ожирение (ИМТ  $>30$  кг/м<sup>2</sup>). У половины женщин имелись различные хронические заболевания (гастрит, холецистит, пиелонефрит, аднексит, цистит), обострившиеся во время беременности у 38 (31,7%) из них. У каждой 2-й женщины отмечалась угроза прерывания беременности, у каждой 3-й – гестоз. Оперативные или преждевременные роды были практически у каждой 2-й женщины (45%). Прием антибиотиков во время беременности и лактации был у 12,5 и 10,8% женщин соответственно. Обострение хронической патологии во время лактации имело место у 12 (10%) женщин. У 6 (5%) женщин отмечался лактационный мастит.

Более половины детей (55,8%) имели оценку по шкале APGAR 8–10 баллов, 50 (41,6%) детей – 5–7 баллов (состояние легкой гипоксии), 3 (2,5%) ребенка – 3 балла (тяжелое состояние). Мальчиков было 68 (56,6%), девочек – 52 (43,3%). Большинство детей (85,8%) родились с массой тела более 1500 г. Наличие воспалительного очага было зарегистрировано у 28 (23,3%) детей.

#### 1. Микробиологическая оценка нативного ГМ

Микробиологическая характеристика свежецеженного (нативного) ГМ представлена в табл. 2.

Рост бактерий в пробах нативного ГМ обнаружен у 79 (66%) женщин, при этом в 6 (5%) случаях выявлен сплошной рост *S. epidermidis* и *S. aureus* (более  $10^5$  КОЕ/мл), в связи с чем данное молоко было выбраковано как непригодное для питания детей, но использовано для дальнейшего исследования и статистической обработки, согласно протоколу.

В каждой 2-й пробе (55%) определился рост *S. epidermidis*, при этом в каждой 5-й пробе он был умеренным ( $10^4$  КОЕ/мл) или обильным ( $10^5$  КОЕ/мл).

В 7 (6%) пробах выявлен рост *Enterococcus spp.* (от скудного в 3 пробах до обильного в одной пробе) и *Acinetobacter pittii* (умеренный в 6 пробах, обильный в одной пробе).

В 6 (5%) пробах выявлен рост *S. haemolyticus/hominis* – от скудного до умеренного.

В единичных случаях обнаружен скудный или умеренный рост таких условно-патогенных микроорганизмов (УПИМ), как *Str. anginosus* (2%),

Рост УПМ в пробах нативного ГМ (n=120)

Микроорганизмы	Наличие роста		1000 КОЕ/мл		10 000 КОЕ/мл		100 000 КОЕ/мл		>100 000 КОЕ/мл	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Общее число проб	79	66								
<i>S. aureus</i>	2	2	1	1	—**		—		1*	1
<i>Klebsiella spp.</i>	2	2	2	2	—		—		—	
<i>E. coli</i>	2	2	2	2	—		—		—	
<i>S. epidermidis</i>	66	55	12	10	25	21	24	20	5*	4
<i>Enterococcus spp.</i>	7	6	3	2,5	3	2,5	1	1	—	
<i>S. haemolyticus/hominis</i>	6	5	3	2,5	3	2,5	—		—	
<i>A. pittii</i>	7	6	—		6	5	1	1	—	
<i>S. anginosus</i>	2	2	—		2	2	—		—	
<i>A. baumannii</i>	2	2	—		—		2	2	—	
<i>Kocuria kristinae</i>	2	2	—		2	2	—		—	
<i>Rothia spp.</i>	2	2	2	2	—		—		—	
<i>Corynebacterium spp.</i>	2	2	2	2	—		—		—	
<i>A. junii</i>	2	2	—		2	2	—		—	
<i>S. maltophilia</i>	2	2	—		2	2	—		—	

\*Выбракованные пробы, \*\*отсутствие роста бактерий в указанном количестве.

*Acinetobacter baumannii* (2%), *Kocuria kristinae* (2%), *Rothia spp.* (2%), *Corynebacterium spp.* (2%), *Acinetobacter junii* (2%), *Stenotrophomonas maltophilia* (2%).

При проведении анализа возможной зависимости роста бактерий в ГМ от данных материнского анамнеза была обнаружена статистически значимая положительная корреляционная связь между приемом антибиотиков во время беременности и отсутствием УПМ в молоке матери ( $p=0,013$ ).

Зависимость роста отдельных УПМ в ГМ от различных способов его хранения представлена на рис. 2.

Результаты корреляционного анализа показали:

- при хранении нативного ГМ в течение 3 ч при  $t^{\circ} +23^{\circ}C$  значимый рост бактерий не происходит ( $p=0,415$ );
- при хранении нативного ГМ в течение 24 ч при  $t^{\circ} +4-6^{\circ}C$  происходит значимое снижение роста общего числа бактерий ( $p=0,012$ ), в т.ч. *S. epidermidis* ( $p=0,001$ );
- при хранении ГМ в течение 1 месяца при  $t^{\circ} -18^{\circ}C$  значимый рост общего числа бактерий не происходит ( $p=0,058$ ), но установлено значимое снижение роста *S. epidermidis* ( $p=0,033$ ).

В отношении других исследуемых бактерий статистически значимый рост либо его снижение в зависимости от способа хранения молока не были выявлены.

## 2. Микробиологическая оценка донорского ГМ

Микробиологическая характеристика ГМ после пастеризации представлена в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что после пастеризации в большинстве проб ГМ (115=96%) рост бактерий не обнаружен. Скучный рост *S. epidermidis*, опре-

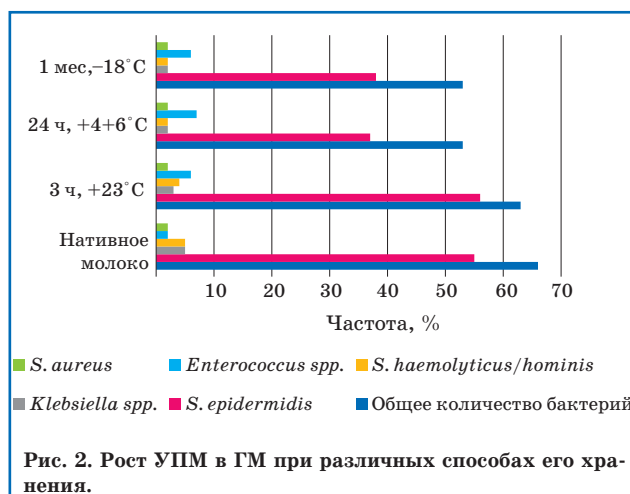


Рис. 2. Рост УПМ в ГМ при различных способах его хранения.

делившийся в 5 (4%) пробах после пастеризации, имелся лишь в тех образцах, которые были выбракованы как непригодное ГМ для питания детей еще до пастеризации из-за обнаружения в них сплошного роста *S. epidermidis*, что может быть связано с контаминацией пробы в момент ее получения или обработки.

Сравнительная оценка обнаружения роста бактерий в ГМ до и после пастеризации представлена на рис. 3.

В результате проведения корреляционного анализа было выявлено, что сразу после пастеризации происходит статистически значимое снижение роста общего числа бактерий ( $p=0,001$ ).

Оценка влияния длительности хранения замороженного донорского ГМ на рост в нем микроорганизмов показала, что при хранении его в течение 1 мес при  $t^{\circ} -18^{\circ}C$  не происходит достоверный рост общего числа бактерий ( $p=0,48$ ).

Через 3 мес хранения донорского молока при  $t^{\circ} -18^{\circ}C$  выявлено статистически значимое снижение роста общего числа бактерий, представ-

Рост УПМ в пробах донорского ГМ после пастеризации (n=120)

Микроорганизмы	Наличие роста		1000 КОЕ/мл		10 000 КОЕ/мл		100 000 КОЕ/мл		>100 000 КОЕ/мл	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Общее число проб	5	4	–**		–		–		–	
<i>S. aureus</i>	0		–		–		–		–	
<i>Klebsiella spp.</i>	0		–		–		–		–	
<i>E. coli</i>	0		–		–		–		–	
<i>S. epidermidis</i>	5*	4	5	4	–		–		–	
<i>Enterococcus spp.</i>	0		–		–		–		–	
<i>S. haemolyticus/hominis</i>	0		–		–		–		–	
<i>A. pittii</i>	0		–		–		–		–	
<i>S. anginosus</i>	0		–		–		–		–	
<i>A. baumannii</i>	0		–		–		–		–	
<i>Kocuria kristinae</i>	0		–		–		–		–	
<i>Corynebacterium spp.</i>	0		–		–		–		–	
<i>A. junii</i>	0		–		–		–		–	
<i>S. maltophilia</i>	0		–		–		–		–	

\*Выбракованные пробы, \*\*отсутствие роста бактерий в указанном количестве.

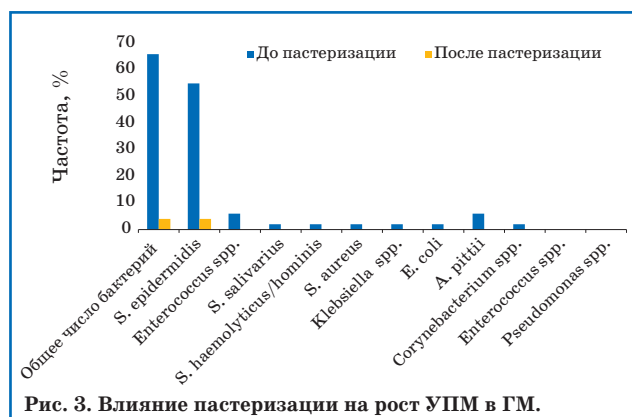


Рис. 3. Влияние пастеризации на рост УПМ в ГМ.

ленных *S. epidermidis*, – с 5 (4%) проб до 2 (2%,  $p=0,015$ ) в образцах молока, выбракованных как непригодное для питания детей, но взятых для дальнейшего исследования.

### Дерево решений

Информационные технологии в медицине приобретают все большую актуальность, а программное обеспечение становится более востребованным. На сегодняшний день актуальным является вопрос разработки средств выражения медицинской информации и средств для ее обработки и анализа. Данная задача относится к классу трудноформализуемых, решение которых связано с применением как формальных, так и эвристических подходов к разработке моделей, адекватно описывающих процессы сбора, обработки, хранения и передачи информации, а также проектированием специальных программных систем. Наиболее эффективным программным средством такого рода являются системы поддержки принятия решений (СППР) [20].

В ходе анализа полученных данных принято решение о построении экспертной системы, которая помогала бы врачам с минимальными затратами (на основе данных анамнеза женщин и детей) прогнозировать наличие возможного роста микроорганизмов в ГМ женщины и способствовать принятию обоснованного решения о ее включении в доноры молока.

Экспертная система была построена на основе метода «дерево решений». Он становится все более популярным и может служить наглядным инструментом, упрощающим принятие решения [21]. В нашем случае это помощь в выборе матери в качестве донора ГМ. Целью такой экспертной системы является создание модели, которая предсказывает значение целевой переменной на основе нескольких переменных на входе (для нас – включение женщины в доноры ГМ исходя из анамнеза матери и ребенка). Важно, что данный метод является лишь дополнительным тестом к основным критериям допуска женщины к участию в сборе ГМ в качестве донора [22, 23].

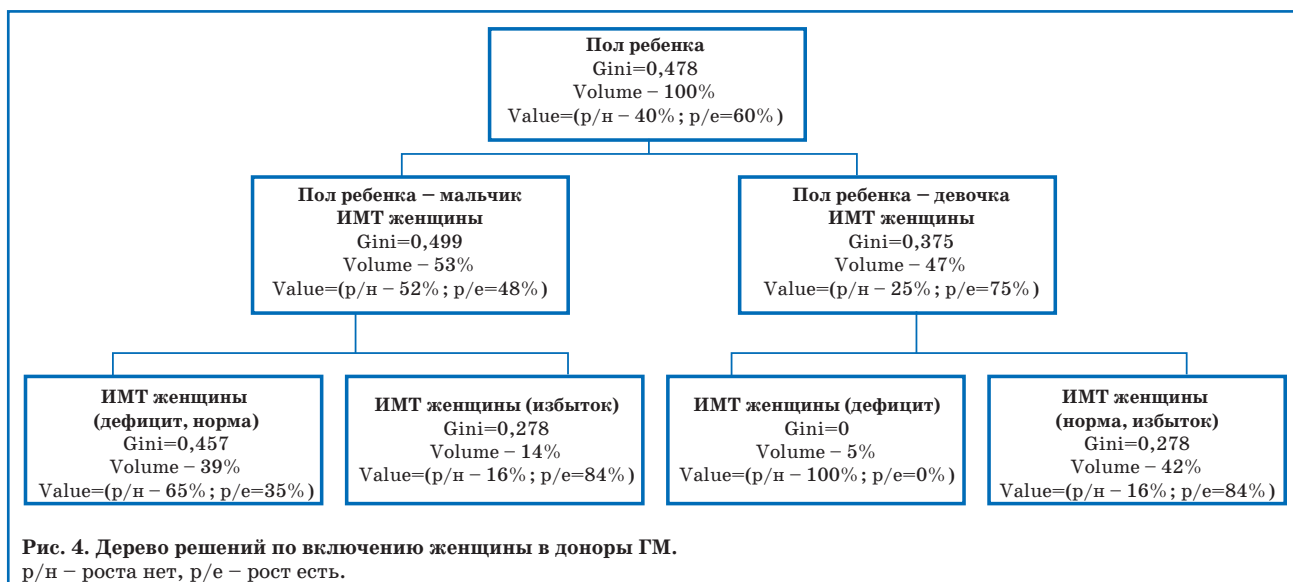
Дерево решений по включению женщины в доноры ГМ на основании оценки микробиологической безопасности ГМ представлено на рис. 4.

Из рис. 4 видно, что для оценки дополнительных рисков микробиологической безопасности ГМ необходимо учесть пол ребенка и ИМТ женщины. Например, если женщина родила мальчика и у нее избыточная масса тела, то вероятность обнаружения у нее повышенного роста общего числа УПМ в ГМ составит 84%.

### Обсуждение

В результате проведенного исследования у 66% включенных в исследование женщин в пробах сцеженного ГМ был выявлен рост УПМ, но только в 5% случаев он был сплошным ( $>10^5$  КОЕ/мл), в связи с чем это молоко было выбраковано как непригодное для питания детей. Среди бактерий преобладал рост *S. epidermidis* (55%). Известно, что избыточный рост *S. epidermidis* может быть результатом контаминации с рук женщины при сцеживании ГМ [24].

В единичных случаях в пробах ГМ определился рост таких микроорганизмов, как *S. aureus*, *Klebsiella spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *S. haemolyticus/hominis*, *A. pittii*, *S. anginosus*, *A.*



*baumannii*, *Kocuria kristinae*, *Corynebacterium spp.*, *A. junii*, *S. maltophilia*, которые относятся к группе УПМ, – распространенных повсеместно, живущих в окружающей среде и обитающих на коже, слизистых оболочках, в кишечнике. Высеваемые в невысоких титрах, эти бактерии не имеют какой-либо клинической значимости.

Была доказана высокая степень микробиологической безопасности хранения сцеженного материнского молока в контейнерах Philips AVENT в течение 3 ч при комнатной температуре ( $t^{\circ} +23^{\circ}\text{C}$ ), в течение суток – в холодильной камере ( $t^{\circ} +4-6^{\circ}\text{C}$ ) и в течение 1 мес – в морозильной камере ( $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$ ), при условии соблюдения основных правил сбора, замораживания и размораживания ГМ. Ни в одном из образцов ГМ, хранящегося при указанных температурах, не зарегистрирован рост УПМ. Более того, выявлены снижение роста общего числа бактерий ( $p=0,012$ ) и *S. epidermidis* ( $p=0,001$ ) при хранении сцеженного молока в течение 24 ч в холодильной камере ( $t^{\circ} +4-6^{\circ}\text{C}$ ) и снижение роста *S. epidermidis* при хранении ГМ в течение 1 месяца при  $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$  ( $p=0,033$ ).

В настоящем исследовании выявлено не только отсутствие увеличения роста бактерий в замороженном ГМ через 1 месяц его хранения, но и значимое снижение их количества, что, на наш взгляд, имеет большую практическую ценность.

Установлено, что пастеризация ГМ приводит к достоверному снижению количества УПМ. Отмечено, что сразу после нее происходит статистически значимое снижение роста общего числа бактерий – с 66 до 4% ( $p=0,001$ ).

Показано отсутствие роста общего числа бактерий при хранении донорского молока при  $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$  в течение 1 и 3 месяцев ( $p=0,48$ ).

Несмотря на исследования, показывающие возможность безопасного хранения ГМ в холодильнике до 4–9 суток [25], а в морозильной камере – до 6–12 мес [26], вероятно, подобные сроки не имеют большого практического смысла.

Кроме того, существуют исследования, подтверждающие уменьшение энергетической ценности замороженного ГМ при его хранении в течение 3 мес и более из-за снижения в нем количества жира [27].

Учитывая в целом наличие ограниченного числа исследований по поводу влияния длительного хранения ГМ на его пищевую и биологическую ценность и показанную нами микробиологическую безопасность разных режимов, по всей видимости, наиболее приемлемыми сроками хранения сцеженного ГМ являются: 3–4 ч – при комнатной температуре ( $t^{\circ} +23-25^{\circ}\text{C}$ ); 24 ч – в холодильнике ( $t^{\circ} +4-6^{\circ}\text{C}$ ); 3 мес – в морозильной камере ( $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$ ).

Оптимальным сроком хранения донорского молока в морозильной камере ( $t^{\circ} -18^{\circ}\text{C}$ ), по нашему мнению, следует считать 3 мес.

#### Ограничения исследования

Исследование имеет ряд ограничений, связанных с отсутствием проведения анализа микробиологической безопасности ГМ при более длительных сроках хранения при комнатной температуре, в холодильной и морозильной камерах. Предполагается дальнейшее изучение данного вопроса.

#### Заключение

Проведенное исследование убедительно доказало микробиологическую безопасность двух технологий – индивидуального банка ГМ и банка донорского ГМ, при условии строгого соблюдения правил его сбора, обработки и хранения.

Установленные режимы хранения сцеженного материнского и донорского молока могут быть рекомендованы для применения как в домашних условиях, так и в неонатальных стационарах, многопрофильных педиатрических центрах.

**Источник финансирования:** исследование проведено при поддержке компании Philips AVENT.

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Lukoyanova O.L.  0000-0002-5876-691X

Borovik T.E.  0000-0002-0603-3394

Potechina T.V.  0000-0002-4131-5047

Lazareva A.V.  0000-0001-7149-5387

Kryzhanovskaya O.A.  0000-0001-7242-3019

Schepkina E.V.  0000-0002-2079-1482

Kuznetsov A.I.  0000-0003-2182-5792

## Литература

1. Breastfeeding: A Guide for the Medical Profession, 8<sup>th</sup> ed. Ruth A. Lawrence and Robert M. Lawrence, eds. Philadelphia, PA: Elsevier, 2015: 992.
2. Лукоянова О.Л., Боровик Т.Э. Путь эпигенетика и эпигенетические эффекты грудного молока. Вопросы питания. 2015; 84 (5): 4–15.
3. Лукоянова О.Л. Сцеженное материнское молоко: за и против. Вопросы современной педиатрии. 2010; 9 (2): 70–73.
4. Лукоянова О.Л., Боровик Т.Э., Яцык Г.В., Беляева И.А., Фурцев В.И. Возможности организации грудного вскармливания детям с перинатальной патологией центральной нервной системы. Вопросы современной педиатрии. 2012; 11 (1): 83–90.
5. ABM Clinical Protocol #3: Supplementary Feedings in the Healthy Term Breastfed Neonate, Revised 2017. Breastfeeding Medicine. 2017; 12 (3): 1–10.
6. Лукоянова О.Л., Боровик Т.Э., Яцык Г.В., Беляева И.А., Фурцев В.И. Создание индивидуального банка грудного молока: потребности и возможности. Вопросы современной педиатрии. 2014; 13 (2): 101–106.
7. Lukoyanova O, Borovik T, Beljaeva I, Yatsyk G. The organization of prolonged breastfeeding in full-term in infants with a cutaneous hypoxia. In: Abstracts from 6<sup>th</sup> Europaediatrics Conference. Glasgow, UK, 2013: 73.
8. Лукоянова О.Л., Боровик Т.Э., Намазова-Баранова Л.С., Беляева И.А., Яцык Г.В., Скворцова В.А., Рославцева Е.А. Способ поддержки лактации у кормящих женщин в неонатальном стационаре. Патент на изобретение РФ: RU 2555388 от 17.07.2014.
9. Boyd SA, Quigley MA, Brocklehurst P. Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: Systematic review and meta-analysis. Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed. 2007; 92: F169–F175.
10. WHO. Protecting, promoting and supporting breastfeeding in facilities providing maternity and newborn services. Geneva: WHO, 2017: 120. ISBN978 92 4 155008 6. <https://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/breastfeeding-facilities-maternity-newborn/en/>
11. Implementation of the Baby-friendly Hospital Initiative in industrialized countries. Summary of reports by country coordinators/focal points. Geneva: WHO, 2008: 35.
12. AAP Committee on Nutrition, AAP Section on Breastfeeding, AAP Committee on Fetus and Newborn. Donor human milk for the high-risk infant: Preparation, safety, and usage options in the United States. Pediatrics. 2017; 139: pii: e20163440.
13. Perrin MT. Donor human milk and fortifier use in United States level 2, 3, and 4 neonatal care hospitals. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2018; 66: 664–669.
14. Лукоянова О.Л., Боровик Т.Э., Беляева И.А., Намазова-Баранова Л.С., Яцык Г.В., Бомбардинова Е.П., Скворцова В.А., Щепкина Е.В. Необходимость и возможность создания банков донорского грудного молока в России: результаты социологического опроса в рамках пилотного проекта банка донорского молока на базе ФГБНУ «Научный центр здоровья детей». Вопросы современной педиатрии. 2015; 14 (1): 145–154.
15. National Institute for Health and Clinical Excellence. Donor Breast Milk Banks: The preparation of Donor Milk Bank Services. London: National Institute for Health and Clinical Excellence, 2010: 132.
16. Moro GE, Billeaud C, Rachel B, Calvo J, Cavallarin L, Christen L, Escuder-Vieco D, Gaya A, Lembo D, Wesolowska A, Arslanoglu S, Barnett D, Bertino E, Boquien CY, Gebauer C, Groslien A, Weaver GA, Picaud JC Processing of Donor Human Milk: Update and Recommendations From the European Milk Bank Association (EMBA). Front. Pediatr. 2019; 7: 49. doi: 10.3389/fped.2019.00049. e Collection 2019.
17. Igumbor E, Mukura R, Makandiramba B, Chihota V. Storage of breast milk: effect of temperature and storage duration on microbial growth. Cent. Afr. J. Med. 2000; 46 (9): 247–251.
18. ABM Clinical Protocol #8: Human Milk Storage Information for Home Use for Full-Term Infants, Revised 2017. Breastfeeding Med. 2017; 12 (7): 390–395.
19. Лукоянова О.Л., Боровик Т.Э., Беляева И.А., Маянский Н.А., Катосова Л.К., Калакуцкая А.Н., Зубкова И.В., Мельничук О.С. Влияние замораживания и длительности хранения сцеженного грудного молока на его пищевую, биологическую ценность и микробиологическую безопасность. Вопросы современной педиатрии. 2011; 10 (1): 24–29.
20. Левитин А. Алгоритмы: введение в разработку и анализ. Гл. 10. Ограничения мощности алгоритмов: Деревья принятия решения: Пер. с англ. М.: ИД «Вильямс», 2006: 409–417. ISBN: 5-8459-0987-2.
21. Жаркова О.С., Шаропин К.А., Сеидова А.С., Берестнева Е.В., Осадчая И.А. Построение систем поддержки принятия решений в медицине на основе деревьев решений. Современные наукоемкие технологии. 2016; 6 (1): 33–37.
22. Лукоянова О.Л. Научное обоснование и разработка новых технологий организации и поддержки грудного вскармливания: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 2016: 45.
23. Guidelines for the establishment and operation of a donor human milk bank. Italian Association of Human Milk Banks, 2010: 20.
24. Методические рекомендации по бактериологическому контролю грудного молока. М.: б/и, 1984: 32.
25. Vickers AM, Starks-Solis S, Hill DR, Newburg DS. Pasteurized donor human milk maintains microbiological purity for 4 days at 4°C. J. Hum. Lact. 2015; 31: 401–405.
26. Hannah R, Schlotterer, Maryanne T. Perrin. The effects of refrigerated and frozen storage of holder pasteurized donor human milk: a systematic review. Breastfeeding Med. 2018; 13 (7): 5–15.
27. Vieira AA, Soares FVM, Pimenta HP, Abranches AD, Moreira ME. Analysis of the influence of pasteurization, freezing/thawing, and offer processes on human milk's macronutrient concentrations. Early Hum. Dev. 2011; 87: 577–580.