

Pediatría

www.elsevier.es/revistapediatria



Original

Microbiota de la glándula mamaria



Lina María Osorio^{a,*} y Ana Solanye Umbarila^b

^a Médica pediatra, docente, Departamento de Pediatría, Universidad El Bosque, Clínica El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

^b Médica general, Departamento de Pediatría, Clínica El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 29 de enero de 2015

Aceptado el 27 de marzo de 2015

Palabras clave:

Microbiota

Glándula mamaria

Lactancia materna

Lactobacillus reuteri DSM 17939

Bifidobacterium longum

Lactobacillus fermentum CECT 5716

Inmunidad

RESUMEN

Revisar y describir aspectos importantes de la literatura científica sobre la microbiota de la glándula mamaria. Se revisaron las bases de datos de revistas científicas.

En sus primeros días de vida, los recién nacidos son rápidamente colonizados por diferentes bacterias, a las que se les atribuye la iniciación de un poderoso sistema de defensa. Se cree que dichas bacterias garantizan un buen desarrollo físico e inmunológico.

La leche materna es uno de los factores que permite la colonización temprana, la cual confiere un sinnúmero de beneficios y tiene un impacto en la salud infantil y en la modulación de determinadas enfermedades a largo plazo.

La forma como las diferentes bacterias colonizan el intestino neonatal formando su propia microbiota, es debatida. Se asume que es multifactorial y que está influenciada por la vía del parto y la lactancia, que determinan una microbiota sana o una alterada de la cual se derivan diferentes enfermedades.

La microbiota de la glándula mamaria es única y son múltiples los factores que convergen para su conformación; con su adecuado establecimiento se generan factores protectores para la vida futura. La administración oral de probióticos derivados de la leche materna, abre la puerta para entender una nueva forma de colonización más eficiente de la microbiota del neonato. *Lactobacillus reuteri* DSM 17939, *Bifidobacterium longum* y *Lactobacillus fermentum* CECT 5716, fueron aislados de la leche materna de mujeres sanas y varios estudios confirman que pueden utilizarse en la nutrición humana.

© 2015 Revista Pediatría EU. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: linamo12@hotmail.com (L.M. Osorio).

Mammary gland microbiota

A B S T R A C T

Keywords:

Microbiota

Mammary gland

Breast feeding

Lactobacillus reuteri DSM 17939

Bifidobacterium longum

Lactobacillus fermentum CECT 5716

Immunity

To review the literature and to describe the important aspects of mammary gland microbiota using scientific journal databases.

Newborns are quickly colonized in their first days of life by different bacteria, which are associated with the beginning of a powerful defense system. It is believed that these bacteria ensure good physical and immunological development.

Breast milk is one of the factors that allow early colonization, giving a number of benefits that impact on children's health and the modulation of certain long-term diseases.

The way the neonatal intestine colonizes different bacteria and forming its own microbiota is debated. It is assumed to be multifactorial, influenced according to the route of delivery and type of feeding, determining a healthy or altered form where microbiota may modulate different diseases.

The mammary gland microbiota is unique, with multiple factors that lead to its formation. Its proper establishment will generate protective factors for future life. Oral administration of probiotic milk derivatives open the door to understanding a new way that infant microbiota colonize more efficiently. *Lactobacillus reuteri* DSM 17939, *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 were isolated from the milk of healthy women and several studies confirm that they can be used in human nutrition.

© 2015 Revista Pediatría EU. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access item distributed under the Creative Commons CC License BY-NC-ND 4.0.

Introducción

Se sabe que las bacterias residentes de forma natural en el ser humano no producen enfermedades, al contrario, contribuyen de manera decisiva al desarrollo y la inmunidad infantiles¹; este conocimiento permite entender la importancia del microbioma humano en pediatría². En el 2007, los *National Institutes of Health* (NIH) respaldaron el proyecto microbioma humano, creado para aumentar y consolidar el conocimiento sobre su composición, y determinar si, al alterarlo, se afectan la salud y la presentación de determinadas enfermedades³.

La leche materna es el mejor alimento para los recién nacidos y niños lactantes⁴; tiene una única combinación de nutrientes y componentes bioactivos que aseguran el crecimiento y desarrollo de los infantes^{5,6}. Los lactantes ingieren 800 ml de leche al día y una cantidad de 10^5 a 10^7 bacterias⁷. El mayor provecho de la leche humana radica en mantener la salud y la supervivencia del lactante por ser un alimento seguro y rentable⁸. Tiene beneficios para la vida del niño, como alcanzar un buen crecimiento pondo-estatural y observar mejores resultados en las pruebas de desarrollo intelectual⁹. Se han encontrado aportes a la salud materna¹⁰, ya que el inicio de la lactancia en el posparto inmediato, estimula la producción de oxitocina, hormona encargada de contraer el útero, expulsar la placenta y, así, reducir el sangrado posparto², además de contribuir a disminuir el riesgo de presentar cáncer de mama y de ovario, a largo plazo¹¹.

La leche materna contiene probióticos, los cuales son "microorganismos vivos", que confieren beneficios al huésped¹², además de prebióticos, que son sustancias no digeribles que estimulan selectivamente el crecimiento favorable de las

bacterias probióticas^{10,13,14}; al contener estos compuestos, la leche materna protege contra enfermedades infecciosas¹, permite el inicio de la maduración intestinal del niño y confiere efectos inmunomoduladores en su vida futura⁸, convirtiéndolo en un alimento óptimo para los lactantes^{15,16}.

Una de las recomendaciones de la *European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) con respecto a la alimentación de los infantes, es conseguir una lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de edad, considerándola como una meta deseable¹⁷. De los seis meses hasta los dos años de edad, la OMS recomienda continuar la lactancia materna con refuerzo de alimentos complementarios; esta entidad afirma que la lactancia materna reduce la mortalidad infantil. Las tasas de diarrea y de las infecciones de vías respiratorias y otitis media, son más bajas en los niños alimentados con leche materna en comparación con los demás^{1,16}. Los intereses mundiales están dirigidos a los primeros mil días de vida¹⁸, desde la concepción hasta los dos años de edad^{3,19}. Este periodo se conoce como la ventana de la oportunidad, ya que es crucial para garantizar un óptimo desarrollo físico e intelectual, por medio de una nutrición adecuada; a este respecto, a la microbiota de la leche materna humana se le atribuye un papel importante²⁰.

Se ha encontrado que la lactancia materna protege contra algunas enfermedades infecciosas, lo cual se atribuye a sus múltiples componentes, de los cuales diferentes artículos destacan: inmunoglobulinas, células inmunitarias¹¹, probióticos, carbohidratos, ácidos grasos², minerales, vitaminas^{16,21} y prebióticos como los galacto-oligosacáridos¹, que inducen el desarrollo y la actividad metabólica de las bacterias benéficas en la

flora intestinal del infante, favoreciendo efectos inmunológicos directos¹⁰. Estos oligosacáridos actúan en el sistema del tejido linfoide asociado a las mucosas, parecen influir en la maduración de linfocitos y, además, confieren un efecto protector frente a la enterocolitis necrosante en neonatos nacidos prematuros¹. La lactancia también sobresale por sus aportes a las madres que lactan por un periodo mínimo de seis meses, al producir un efecto protector para la madre contra la obesidad¹⁶, la osteoporosis, el cáncer de seno y la diabetes mellitus, entre otros^{1,2}.

Composición del microbioma humano

El término ‘microbioma’ se refiere al “número total de microorganismos y su material genético”, y ‘microbiota’ es la “población microbiana presente en los diferentes ecosistemas en el cuerpo”²².

En el ser humano, se han identificado microbiotas en varios sitios del cuerpo que están colonizados por diferentes grupos de bacterias²³. Se clasifican en filos, donde se destacan diferentes especies y géneros, con predominio de *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Bacterioidetes*³. A este grupo de bacterias se les atribuye un papel determinante en el desarrollo de la inmunidad y la capacidad para responder frente a diferentes microorganismos; se considera la primera línea de defensa contra agentes patógenos²⁴.

En el tubo digestivo de los neonatos predominan *Firmicutes*, *Bacterioidetes* y *Proteobacterias*, aunque hay gran variabilidad individual según el tiempo en que se adquiere esta microbiota. El intestino del recién nacido es colonizado en los primeros días por *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Streptococcus* α -hemolítico y *Staphylococcus* spp.^{3,12}. Existen diferencias en la composición del microbioma del recién nacido según la vía del parto, la hospitalización y la dieta; por ejemplo, los nacidos por vía vaginal adquieren la microbiota materna vaginal e intestinal, mientras que en los nacidos por cesárea predomina la microbiota de la piel materna y del ambiente hospitalario. Morelli postuló que los niños nacidos por cesárea parecen tener un menor número de bacterias, en comparación con los nacidos por vía natural²⁵, ya que cuentan con niveles más bajos de bifidobacterias, y niveles superiores de *Clostridium difficile*; los bebés prematuros tienen una microbiota intestinal diferente a la de los nacidos a término²⁶. Factores como su estancia prolongada en unidades neonatales y el uso de antibióticos, retrasan la adquisición de la microbiota intestinal, que facilita la presentación de enfermedades por microorganismos patógenos¹².

Composición de la leche materna

Hace algunos años se creía que la leche materna era un fluido estéril^{3,7,27-29} y se excluía de los análisis microbiológicos. Sin embargo, desde 2003 empezaron a verse estudios sobre una posible microbiota en la leche materna de mujeres sanas²; esto despertó interés para investigar la diversidad bacteriana en la leche materna. Así, se han identificado en diferentes géneros, como *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp.,

Leuconostoc spp., *Weissella* spp., *Enterococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp.^{3,21} que, por medio de la lactancia, colonizan el intestino neonatal.

Los factores que influyen en la colonización de la microbiota de la leche materna, pueden ser extrínsecos, como área geográfica materna, ambiente bacteriano circundante, tipo de parto, medidas de higiene, hábitos alimentarios y tratamientos con medicamentos³⁰; los factores intrínsecos incluyen genética neonatal, receptores de mucosa bacteriana, pH intestinal y respuesta inmunitaria^{3,31}.

La leche materna tiene una microbiota característica. Se discute el origen de estas bacterias benéficas. En varios estudios se han encontrado dos teorías para justificar la presencia de bacterias en la leche materna. La primera, tradicionalmente aceptada, exponía que la microbiota encontrada en la leche materna era debida a contaminación^{7,32}, con la piel alrededor de la glándula mamaria, con la cavidad oral del neonato asumiendo un paso de bacterias desde la boca del niño a la glándula mamaria y a la leche materna, favorecido por un flujo retrógrado entre los conductos mamarios, obtenidas desde el intestino materno, además de inoculación durante el paso por el canal del parto, este último conocido como “trasplante natural de bacterias”² (fig. 1).

Se encuentran argumentos en contra de esta teoría, entre las que se destaca el hecho de que las bifidobacterias son anaerobios estrictos; las bacterias pueden aislarse del calostro antes de que el niño nazca, y bacterias vivas administradas oralmente a la madre lactante, son encontradas en la leche materna²; además, Jeurink et al. sugieren que, aunque algunos lactobacilos vaginales se transfieren al niño cuando nace, no colonizan con éxito el intestino neonatal². La secuencia de lactobacilos aislados de las heces de los niños, es similar a la encontrada en la leche materna de su respectiva madre. Los lactobacilos de leche materna no son iguales a los lactobacilos vaginales².

La segunda teoría, conocida como ‘migración activa’², postula una ruta entero-mamaria endógena^{7,21}. Se considera que, de alguna forma, las bacterias del intestino materno colonizan la glándula mamaria y, finalmente, pasarían por medio de la lactancia al neonato, confiriendo múltiples beneficios, previ-

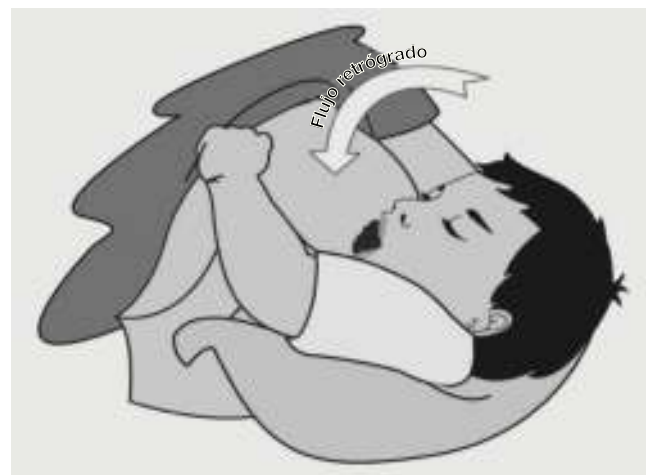


Figura 1 – Teoría de la contaminación.
Modificado de Jeurink et al.².

niendo enfermedades infecciosas y contribuyendo a la maduración del sistema inmunológico. Aún no se ha establecido claramente el proceso por el cual las bacterias eluden el escudo protector del huésped sano, evitando ser fagocitadas³³.

Se postula que las bacterias propias de la microbiota intestinal se unen a las células dendríticas o macrófagos en el intestino materno³⁴, acceden al epitelio intestinal sin cambiar la estructura de la barrera epitelial, transportando estos microorganismos desde las placas de Peyer³⁵ a los ganglios linfáticos mesentéricos²⁹; de allí, acceden a otros tejidos del sistema linfático asociado a mucosas, entre las que sobresalen, la respiratoria y la genitourinaria, y las glándulas salivales y lacrimales, incluyendo la misma glándula mamaria (fig. 2).

Uno de los mecanismos mencionados por Jeurink et al. es la propiedad que se le ha conferido a los exopolisacáridos de las bacterias de la microbiota intestinal por su habilidad de permanecer inmunológicamente silenciosos, para evadir la respuesta inmunitaria del huésped², lo cual favorece su migración activa a la glándula mamaria. También, se cree que el influjo

hormonal durante la gestación y la lactancia contribuye a este proceso, recordando que durante el embarazo hay un aumento de la linfa y de la circulación hacia la glándula mamaria, lo que ayuda a la dilatación de los conductos mamarios.

Por otra parte, se acepta que la progesterona evita la fagocitosis por las células inmunitarias, interrumpiendo la acción de los receptores toll³⁴, los cuales inician la señalización inmunitaria, garantizando así la inactividad de citocinas proinflamatorias, como el $\text{TNF}\alpha$ y la interleucina (IL) 1B, sin afectar la acción de otras citocinas antiinflamatorias como la IL 10. La prolactina se ha encontrado como una posible colaboradora en este proceso; sin embargo, hay un amplio campo por investigar frente a las acciones de las hormonas durante la gestación.

La microbiota de la glándula mamaria está formada por bacterias benéficas que acceden a la glándula a través de una ruta interna. Una vez iniciada la lactancia, son transferidas al intestino de los niños que son amamantados. Un mecanismo que lleva a la conformación de la microbiota intestinal neona-

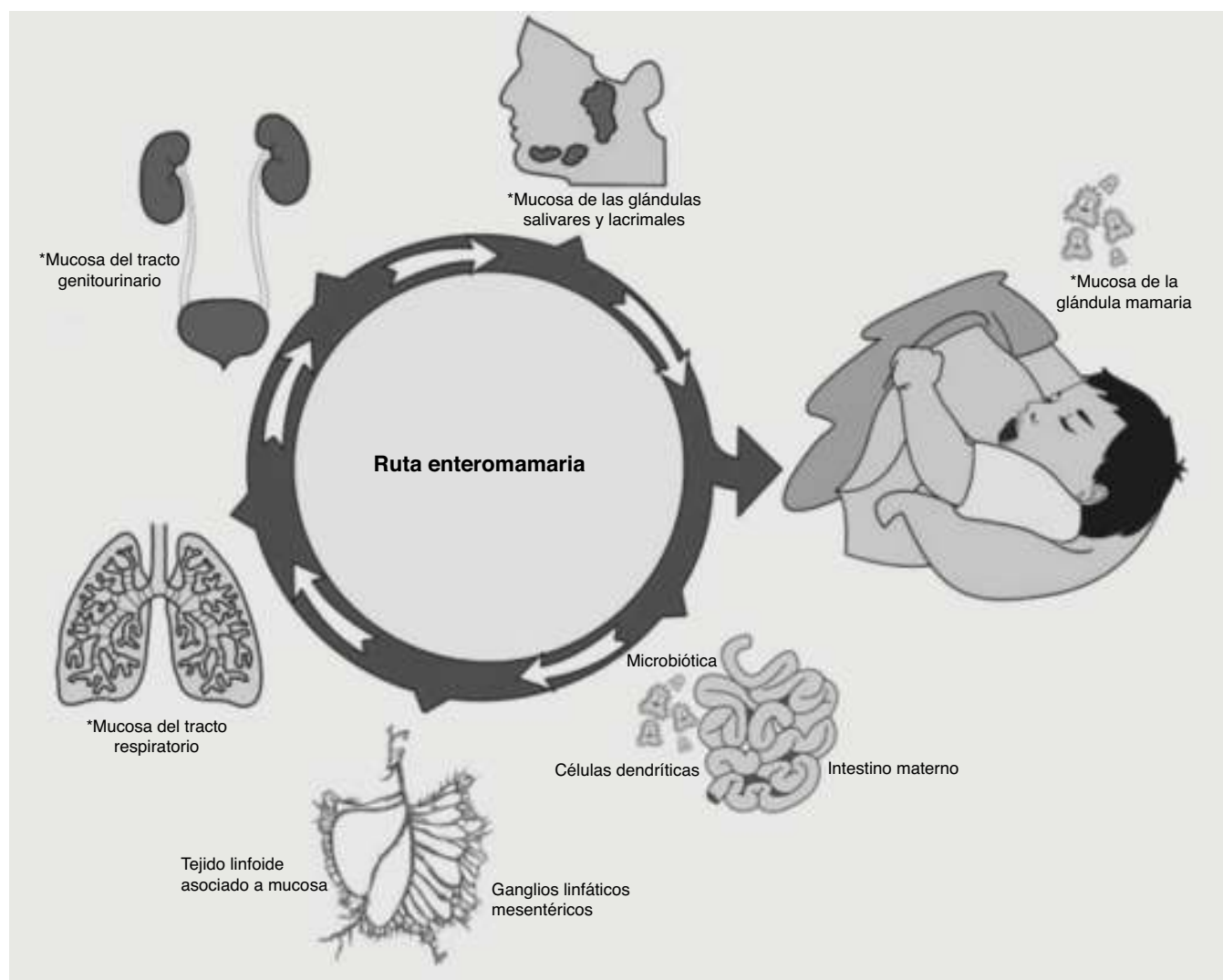


Figura 2 – Teoría de migración activa.
Modificado de Martín et al., 2004¹¹.

tal, es la modulación neuroendocrina; se postula una comunicación bidireccional entre el sistema nervioso entérico y el sistema nervioso central, conocido como eje microbiota-intestino-cerebro³⁶. Se considera que el cerebro influye en la microbiota intestinal, liberando neuropéptidos y hormonas; asimismo, la microbiota intestinal influye en la función cerebral, el comportamiento y el desarrollo. Se ha encontrado que los lactobacilos de la leche materna son indispensables para una función adecuada de este eje; se podrían utilizar en intervenciones nutricionales para promover una microbiota más eficiente³⁷.

Probióticos derivados de la leche materna utilizados en pediatría

En la medicina pediátrica, se encuentran tres probióticos utilizados para mejorar la microbiota intestinal de los niños.

Lactobacillus reuteri DSM 17939

Este lactobacilo resulta de la manipulación genética del *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 pues este transmitía resistencia para las tetraciclinas y las lincosamidas, por lo que se retira este plásmido y se obtiene el *Lactobacillus reuteri* DSM 17939, que es el que se encuentra comercialmente disponible³⁸.

Los estudios con este probiótico están orientados, entre otras cosas, para el tratamiento del cólico del lactante³⁹. En el estudio doble ciego de asignación aleatoria de Savino, et al., se incluyeron 105 niños, 51 en el grupo experimental, a quienes se les administró *L. reuteri* DSM 17939 (10^8 UFC) más vitamina D3, y 54 niños en el grupo control, a quienes se les administró vitamina D3; se halló disminución del cólico y reducción de las consultas al pediatra, en el grupo tratado⁴⁰.

En el estudio de Szajewska et al., se estudiaron 80 niños menores de cinco meses con cólico del lactante, quienes eran alimentados exclusivamente o parcialmente (50%) con leche materna; se incluyeron 40 infantes en el grupo experimental, quienes recibieron *L. reuteri* (10^8 UFC) una vez al día durante 21 días, y 40, en el grupo con placebo; Se observó una mayor respuesta terapéutica en el grupo tratado con este probiótico⁴¹.

En el estudio de Sung et al., se incluyeron 167 niños menores de tres meses, alimentados con leche materna o con leche de fórmula; 85 recibieron el probiótico *L. reuteri* DSM 17939 y, 82, el placebo; se concluyó que el uso de *L. reuteri* no beneficiaba a la población estudiada⁴².

Bifidobacterium longum

Las bifidobacterias forman parte de la microbiota de los lactantes⁴³ y es uno de los microorganismos dominantes en el intestino desde la primera semana de vida hasta el destete; se asocia con la protección de la mucosa intestinal contra las bacterias patógenas y con el desarrollo de la barrera de defensa de la mucosa del infante⁴⁴.

En el estudio de Makino et al., se demostró que *B. longum* se transmite del intestino de la madre a su hijo inmediatamente

después de nacer y que estas cepas posteriormente colonizan el intestino del bebé; cada cepa se identifica solo en un par madre-hijo en particular y pertenece a su propia agrupación⁴⁴.

En otro estudio, de Hascoët et al., se observó el efecto bifidogénico de una "fórmula estudio" que incluía proteínas de suero de leche, fórmula baja en fosfato y proteínas, con *B. longum* y sin ella, lo que permite una composición cercana a la de la leche humana; se comparó con otra "fórmula control" con *B. longum* y con un tercer "grupo de referencia" de bebés alimentados con leche materna. Se demostró que la "fórmula estudio" conduce a un perfil de la microbiota intestinal más cercana a la de los bebés alimentados con leche materna⁴⁵.

Simakachorn et al., en un estudio en dos unidades de cuidados intensivos en un hospital de Tailandia, evaluaron la tolerancia y la seguridad de una fórmula entérica que contenía una mezcla simbiótica (compuesta por dos cepas probióticas [*Lactobacillus paracasei* NCC 2461 y *B. longum* NCC 3001], fructo-oligosacáridos, inulina y goma arábica), que se administró a niños gravemente enfermos; esta fórmula fue tan bien tolerada como la fórmula utilizada en la actualidad y se demostró que era seguro su uso en relación con la fórmula de control⁴⁶.

Lactobacillus fermentum CECT 5716

Lactobacillus fermentum CECT 5716 fue aislado de la leche materna de mujeres sanas; se encontró en la cavidad oral, en el intestino y en la materia fecal de los niños⁴⁷. *Lactobacillus* es capaz de colonizar la glándula mamaria cuando se suministra oralmente a mujeres lactantes⁴⁸; tiene una supervivencia del 70% en el tubo digestivo³². Esto demuestra que posee una adecuada función en el lugar de acción; produce glutatión, un antioxidante natural, ácido láctico y ácido acético; posee capacidad de adhesión a los enterocitos, evitando que se unan bacterias patógenas a ellos^{32,49}. Se encuentra incluido en la lista de las bacterias QPS (con presunción de inocuidad reconocida) de la European Food Safety Authority (EFSA), lo cual permite que se utilice en la nutrición humana, y no transmite información de resistencia antibiótica a otras bacterias^{49,50}.

Lactobacillus fermentum CECT 5716 ha sido estudiado *in vitro* y en animales; en el estudio de Peran et al. se indujo colitis en 20 ratones. Al grupo experimental ($n = 10$) se le administró oralmente *L. fermentum* durante tres semanas, comenzando dos semanas antes de la intervención (colitis), y se encontró mejoría de la reacción inflamatoria, evidenciada histológicamente y por una reducción de la mieloperoxidasa ($p < 0,05$). El probiótico contrarrestó la disminución de glutatión, mostró cantidades menores de FNT α ($p < 0,01$) y sintetasa inducible de óxido nítrico (iNOS)⁵¹.

En el estudio de Olivares et al., se encontró inhibición del crecimiento de *Salmonella* spp. *in vitro* e *in vivo* (ratones) y aumento de 60% de la supervivencia de los ratones infectados con *Salmonella* spp. ($p < 0,05$) que habían recibido *L. fermentum*²⁴. Se consideró que el lactobacilo es inmunomodulador, mejora la respuesta TH1 y aumenta la producción de IgA en ratones⁵².

Lactobacillus fermentum se ha estudiado en humanos. El primer estudio fue hecho por Maldonado et al. Se incluyeron 215 niños saludables, inicialmente con edad de seis meses, los cuales habían sido alimentados exclusivamente con leche de

fórmula, sin prebióticos o probióticos. El objetivo principal fue evaluar el índice de infecciones gastrointestinales y respiratorias, y el secundario fue evaluar los parámetros de crecimiento (peso, talla, perímetro cefálico), según las tablas de la OMS. Fue un estudio doble ciego controlado y con asignación aleatoria. De los 215 niños incluidos, se excluyeron 27 y quedaron 188, los cuales recibieron leche de fórmula, 91 en el grupo control y 97 en el grupo con probiótico durante seis meses. La incidencia de infección fue de 1,46 episodios por niño con probiótico frente a 2,08 episodios por niño en el grupo control. La reducción del riesgo general de infección fue de 30% (proporción de incidencia: 0,70; IC_{95%}: 0,57-0,88; $p = 0,002$) y la fórmula probiótica mostró un efecto benéfico en la prevención de infecciones respiratorias y gastrointestinales. Se encontraron 33 episodios gastrointestinales en el grupo control y, en el grupo con probiótico, 19 episodios, lo que corresponde a una reducción de 46% (IC_{95%}: 0,31-0,95; $p = 0,032$); hubo 134 episodios de infecciones respiratorias en el grupo control y, en el grupo con probiótico, 106 episodios, con una reducción de 26% en los episodios (IC_{95%}: 0,58-0,96; $p = 0,022$)⁵³.

En otro estudio, de Gil-Campos et al., con niños de uno a seis meses de edad, se incluyeron 137 niños alimentados exclusivamente con leche de fórmula sin probióticos, 71 alimentados con fórmula sin probióticos en el grupo control y 66 en el grupo con probiótico; fue un estudio controlado doble ciego y de asignación aleatoria. El objetivo principal era evaluar la ganancia de peso en los niños estudiados y, el secundario, evaluar la talla, el perímetro cefálico, la incidencia de infecciones gastrointestinales, el consumo de la fórmula y la tolerancia. Ambas fórmulas fueron administradas durante cinco meses, desde el mes hasta los seis meses de edad. Los niños estudiados tuvieron una ganancia de peso en concordancia con los estándares de la OMS, sin diferencia significativa ($p = 0,061$). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos⁵⁴. Se encontró una reducción de 71% de infecciones gastrointestinales, por una reducción en la tasa de incidencia (IRR = 0,289; IC_{95%}: 0,085-0,831; $p = 0,018$). La posibilidad de presentar infección gastrointestinal en el grupo con probiótico fue tres veces menor que en el grupo control. Se detectó *L. fermentum* vivo en 53% en las heces del grupo con probiótico. No se encontraron diferencias en la incidencia de enfermedades respiratorias entre ambos grupos, aunque fue más bajo en el grupo probiótico.

Conclusión

El estudio del microbioma humano ha abierto las puertas para el entendimiento de la microbiota en diferentes órganos, incluida la glándula mamaria. La conformación de esta microbiota tiene procesos específicos que le confieren características únicas, lo que lleva a entender que la administración de probióticos al recién nacido debería provenir de la glándula mamaria, para lograr una adecuada colonización intestinal y tener una adecuada función del eje cerebro-intestino-microbiota. *L. reuteri*, *B. longum* y *L. fermentum* CECT 5716 se aislaron de la leche materna de mujeres sanas y varios estudios confirman que pueden utilizarse en la nutrición de los lactantes.

Conflicto de intereses

La Dra. Lina María Osorio trabaja como asesora científica de Lactalis – Parmalat.

B I B L I O G R A F Í A

- Smilowitz JT, Lebrilla CB, Mills DA, German JB, Freeman SL. Breast milk oligosaccharides: structure-function relationships in the neonate. *Annu Rev Nutr.* 2014;34:143-69.
- Jeurink PV, van Bergenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels LM, Fernández L, Garssen J, et al. Human milk: a source of more life than we imagine. *Benef Microbes.* 2013;4:17-30.
- Johnson CL, Versalovic J. The human microbiome and its potential importance to pediatrics. *Pediatrics.* 2012;129:950-60.
- Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr.* 2012;96:544-51.
- Jiménez E, Langa S, Martín V, Arroyo R, Martín R, Fernández L, et al. Complete genome sequence of *Lactobacillus fermentum* CECT 5716, a probiotic strain isolated from human milk. *J Bacteriol.* 2010;192:4800.
- Marcobal A, Sonnenburg JL. Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(04 Suppl 4):12-5.
- Rodríguez JM, Jimenez E, Merino V, Maldonado A, Marin ML, Fernandez L, et al. Microbiota de la leche humana en condiciones fisiológicas. *Acta Pediatr Esp.* 2008;66:77-82.
- Newburg DS. Innate Immunity and Human Milk. *American Society for Nutritional Sciences. Symposium by the American Society for Nutritional Sciences.* 2005. p. 1-5.
- León-Cava N, Lutter C, Ross J, Martín L. Quantifying the benefits of breastfeeding: a summary of the evidence. Washington (D.C.): PAHO; 2002.
- Kukkonen K, Savilahti E, Haahela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, et al. Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics.* 2008;122:8-12.
- Martín R, Langa S, Reviriego C, Jimenez E, Marin M, Olivares M, et al. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends Food Sci Technol.* 2004;15:121-7.
- Marques TM, Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Ryan CA, Stanton C. Programming infant gut microbiota: influence of dietary and environmental factors. *Curr Opin Biotechnol.* 2010;21:149-56.
- Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 2012;22:1147-62.
- Thomas DW, Greer FR; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics.* 2010;126:1217-31.
- Gavilanes PS, Manjarrez HA, Cravioto A. Inmunoprotección por leche humana. *Rev Mex Pediatr.* 2002;69:111-119.
- Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UM, Beck DL, Abdo Z, et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One* 2011;6:e21313.
- Binns CW, Lee MK. Exclusive breastfeeding for six months: the WHO six months recommendation in the Asia Pacific Region. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2014;23:344-50.

18. Lodesani G. Programa Mundial de Alimentos. Luchando contra el hambre en el mundo. Los primeros mil días [en línea]. 2012 04 Oct [consultado 27 Dic 2014]. Disponible en: <http://es.wfp.org/noticias/comunicado/los-primeros-mil-dias>
19. Prado EL, Dewey KG. Nutrition and brain development in early life. *Nutr Rev*. 2014;72:267-84.
20. Victora C. [The thousand days opportunity for nutritional interventions: from conception to two years of life]. *Arch Argent Pediatr*. 2012;110:311-7.
21. Bergmann H, Rodríguez JM, Salminen S, Szajewska H. Probiotics in human milk and probiotic supplementation in infant nutrition: a workshop report. *Br J Nutr*. 2014;112:1119-28.
22. Khanna S, Tosh PK. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc*. 2014;89:107-14.
23. Urbaniak C, Cummins J, Brackstone M, Macklaim JM, Gloor GB, Baban CK, et al. Microbiota of human breast tissue. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80:3007-14.
24. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Martín R, Rodríguez JM, Xaus J. Antimicrobial potential of four *Lactobacillus* strains isolated from breast milk. *J Appl Microbiol*. 2006;101:72-9.
25. Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *J Nut*. 2008;138:1791S-5S.
26. Groer MW, Luciano AA, Dishaw LJ, Ashmeade TL, Miller E, Gilbert JA. Development of the preterm infant gut microbiome: a research priority. *Microbiome*. 2014;2:38.
27. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res*. 2013;69:1-10.
28. Lara-Villoslada F, Olivares M, Sierra S, Rodríguez JM, Boza J, Xaus J. Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk. *Br J Nutr*. 2007;98(S1 Suppl 1):S96-S100.
29. Donnet-Hughes A, Perez PF, Doré J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, et al. Potential role of the intestinal microbiota of the mother in neonatal immune education. *Proc Nutr Soc*. 2010;69:407-15.
30. Rogier EW, Frantz AL, Bruno ME, Wedlund L, Cohen DA, Stromberg AJ, et al. Lessons from mother: long-term impact of antibodies in breast milk on the gut microbiota and intestinal immune system of breastfed offspring. *Gut Microbes*. 2014;5:663-8.
31. McGuire MK, McGuire MA. Human milk: mother nature's prototypical probiotic food? *Adv Nutr*. 2015;6:112-23.
32. Martín R, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM. Probiotic potential of 3 *Lactobacilli* strains isolated from breast milk. *J Hum Lact*. 2005;21:8-17.
33. Díaz-Ropero MP, Martín R, Sierra S, Lara-Villoslada F, Rodríguez JM, Xaus J, et al. Two *Lactobacillus* strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. *J Appl Microbiol*. 2007;102:337-43.
34. Newburg DS, Walker WA. Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. *Pediatr Res*. 2007;61:2-8.
35. Brunser TO. El desarrollo de la microbiota intestinal humana, el concepto de probiótico y su relación con la salud humana. *Rev Chil Nutr*. 2013;40:283-9.
36. Collins SM, Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology*. 2009;136:2003-14.
37. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Di Mauro A, Francavilla R. Microbiota involvement in the gut-brain axis. *JPGN*. 2013;57:11-4.
38. Rosander A, Connolly E, Roos S. Removal of antibiotic resistance gene-carrying plasmids from *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 and characterization of the resulting daughter strain, *L. reuteri* DSM 17938. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74:6032-40.
39. Savino F, Ceratto S, De Marco A, Cordero di Montezemolo L. Looking for new treatments of Infantile Colic. *Ital J Pediatr*. 2014;40:53.
40. Savino F, Ceratto S, Poggi E, Cartosio ME, Cordero ML, Giannattasio A. Preventive effects of oral probiotic on infantile colic: a prospective, randomised, blinded, controlled trial using *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *Benef Microbes*. 2015;6:245-51.
41. Szajewska H, Gyrzczuk E, Horvath A. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for the management of infantile colic in breastfed infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pediatr*. 2013;162:257-62.
42. Sung V, Hiscock H, Tang ML, Mensah FK, Nation ML, Satzke C, et al. Treating infant colic with the probiotic *Lactobacillus reuteri*: double blind, placebo controlled randomised trial. *BMJ*. 2014;348:g2107.
43. Grönlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Grönroos T, Salminen S, et al. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the Bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:1764-72.
44. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Muylaert D, Kubota H, Sakai T, et al. Transmission of intestinal Bifidobacterium longum subsp. longum strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:6788-93.
45. Hascoët JM, Hubert C, Rochat F, Legagneur H, Gaga S, Emady-Azar S, et al. Effect of formula composition on the development of infant gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;52:756-62.
46. Simakachorn N, Bibiloni R, Yimyaem P, Tongpenyai Y, Varavithaya W, Grathwohl D, et al. Tolerance, safety, and effect on the faecal microbiota of an enteral formula supplemented with pre- and probiotics in critically ill children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;53:174-81.
47. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr*. 2003;143:754-8.
48. Lopez HE. Safety and efficacy of human breast milk *Lactobacillus fermentum* CECT 5716. A mini-review of studies with infant formulae. *Benef Microbes*. 2014;17:1-6.
49. Cárdenas N, Laiño JE, Delgado S, Jiménez E, Juárez Del Valle M, Savoy de Giori G, et al. Relationships between the genome and some phenotypical properties of *Lactobacillus fermentum* CECT 5716, a probiotic strain isolated from human milk. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2015 Feb. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-015-6429-0> PMID:25661998.
50. Lara-Villoslada F, Sierra S, Díaz-Ropero MP, Rodríguez JM, Xaus J, Olivares M. Safety assessment of *Lactobacillus fermentum* CECT5716, a probiotic strain isolated from human milk. *J Dairy Res*. 2009;76:216-21.
51. Peran L, Camuesco D, Comalada M, Nieto A, Concha A, Adrio JL, et al. *Lactobacillus fermentum*, a probiotic capable to release glutathione, prevents colonic inflammation in the TNBS model of rat colitis. *Int J Colorectal Dis*. 2006;21:737-46.
52. Arribas B, Rodríguez-Cabezas ME, Comalada M, Bailón E, Camuesco D, Olivares M, et al. Evaluation of the preventative effects exerted by *Lactobacillus fermentum* in an experimental model of septic shock induced in mice. *Br J Nutr*. 2009;101:51-8.

-
53. Maldonado J, Cañabate F, Sempere L, Vela F, Sánchez AR, Narbona E, et al. Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54:55-61.
54. Gil-Campos M, López MA, Rodríguez-Benítez MV, Romero J, Roncero I, Linares MD, et al. *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 is safe and well tolerated in infants of 1-6 months of age: a randomized controlled trial. *Pharmacol Res.* 2012;65:231-8.