

# Efectos beneficiosos de los probióticos de la leche materna

M. Olivares, F. Lara-Villoslada, S. Sierra, J. Boza, J. Xaus  
Departamento de Nutrición y Salud. Puleva Biotech. Granada

## Resumen

La leche materna es el mejor alimento para los bebés durante sus fases de rápido desarrollo, puesto que no sólo aporta todos los nutrientes necesarios, sino que además contiene importantes factores funcionales implicados en el desarrollo y la maduración del sistema inmunitario neonatal, así como en la protección frente a infecciones. Entre estos factores cabe incluir también las bacterias comensales de la leche materna. Este trabajo pretende mostrar los posibles efectos beneficiosos ejercidos por las bacterias presentes en la leche materna, así como de cepas probióticas aisladas de dicha fuente. Entre ellos, cabe resaltar los efectos antimicrobianos, antiinflamatorios y/o moduladores de la respuesta inmunitaria, tanto en modelos de experimentación animal como en estudios clínicos. La demostración de la existencia de bacterias en la leche materna y los efectos beneficiosos potencialmente ejercidos por éstas en el lactante ofrecen nuevas ideas para la sustentación de las propuestas dirigidas a la inclusión de determinadas cepas probióticas en las fórmulas infantiles.

## Palabras clave

Probióticos, leche materna, nutrición infantil, beneficios

## Abstract

*Title:* Beneficial effects of the probiotics of breast milk

Breast milk is the best food for the neonate because it provides a unique combination of proteins, carbohydrates, lipids, minerals and vitamins that ensures the correct growth and development of infants. In addition, it also contains bioactive compounds responsible for a wide range of beneficial effects, such as the promotion of immune system maturation and protection against infections. Among these bioactive agents, probiotic bacteria have recently been isolated from human milk. The present report reviews the beneficial effects of these bacteria both in animal models and in clinical trials. The promotion of immune system maturation and defence against infections, as well as the anti-inflammatory properties, are among the major health effects of these bacteria. The isolation of probiotic bacteria with beneficial effects for the host provides scientific support for the supplementation of infant formula with these bacteria, in order to advance toward the main target of these formula, to mimic the functional effects observed in breastfed infants.

## Keywords

Probiotics, human milk, infant nutrition, benefits

## Introducción

La leche materna satisface todos los requerimientos nutricionales de los recién nacidos y, adicionalmente, diversos estudios han demostrado que la lactancia protege a los neonatos frente a las infecciones<sup>1,2</sup>. Se ha sugerido que este efecto protector de la leche materna podría deberse a la acción combinada de una serie de componentes presentes en el calostro y/o en la leche materna, como inmunoglobulinas, células inmunocompetentes, ácidos grasos antimicrobianos, poliaminas, oligosacáridos fucosilados, lisozima, lactoferrina y otras glucoproteínas y péptidos antimicrobianos, entre otros, los cuales podrían inactivar las bacterias y/o los virus patógenos de manera individual, aditiva o, incluso, actuando de forma sinérgica<sup>3,4</sup>.

Estudios recientes han demostrado que la leche materna no es estéril, sino que más bien constituye una fuente excelente y continua de bacterias comensales para el intestino del recién nacido<sup>5,6</sup>. Estas bacterias pueden, sin duda, ejercer un papel clave en la reducción de la incidencia y la gravedad de las in-

fecciones del lactante. La importancia del factor microbiano de la leche materna en la protección frente a infecciones se resalta mediante la observación de que su actividad antimicrobiana se pierde tras un proceso de pasteurización<sup>7</sup>.

Entre las bacterias comúnmente aisladas de la leche materna se encuentran representantes de los géneros estafilococos, estreptococos, lactococos, enterococos y lactobacilos (tabla 1)<sup>5,6</sup>. De todos ellos, los lactobacilos son los que han despertado un mayor interés. Entre ellos se ha descrito la presencia de cepas de *Lactobacillus gasseri*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, y/o *L. fermentum* en muestras de leche materna, todas ellas pertenecientes a especies potencialmente probióticas (tabla 1).

## Lactancia y protección frente a enfermedades

Una de las principales causas de muerte en la edad infantil son las enfermedades infecciosas, dentro de las cuales las infec-

TABLA 1

**Grupos bacterianos y especies comúnmente aisladas de la leche materna de mujeres sanas<sup>a</sup>**

Grupos bacterianos	Especies principales
<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>S. epidermidis</i> <i>S. hominis</i> <i>S. capitis</i> <i>S. aureus</i>
<i>Streptococcus</i> sp.	<i>S. salivarius</i> <i>S. mitis</i> <i>S. parasanguis</i> <i>S. peoris</i>
<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>L. gasseri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. acidophilus</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. salivarius</i> <sup>b</sup> <i>L. reuteri</i> <sup>c</sup>
<i>Enterococcus</i> sp.	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>

<sup>a</sup>Adaptada de Martín et al.<sup>32</sup>; <sup>b</sup>Adaptada de Martín et al.<sup>22</sup>;  
<sup>c</sup>Adaptada de Biogaia<sup>23</sup>.

ciones respiratorias y gastrointestinales son las más frecuentes. En este sentido, los niños que no han sido alimentados con leche materna tienen una probabilidad 17 veces mayor de ser hospitalizados por neumonía que los que han sido amamantados. Esta probabilidad es aún mayor para los niños de menos de 3 meses<sup>8</sup>. Algunos estudios sugieren también que el riesgo de muerte por diarrea aumenta 14,2 veces en niños no amamantados<sup>9</sup>. Asimismo, la lactancia materna se ha relacionado con una menor incidencia de otitis media, infecciones urinarias y meningitis causada por *Haemophilus influenzae*<sup>10</sup>.

Además de la actividad antiinfecciosa, se ha demostrado que la leche materna puede modular la respuesta inmunológica del lactante<sup>11</sup>. En la actualidad no se ha demostrado *in vivo* una actividad antiinflamatoria directa de la leche humana, pero estudios epidemiológicos sugieren que los niños amamantados están protegidos frente a las infecciones, sin la observación de lesiones de la mucosa intestinal o respiratoria debidas a una respuesta inflamatoria<sup>12</sup>, probablemente como resultado de un sistema antiinflamatorio mejor regulado gracias a factores presentes en la leche materna. La acción de la leche materna sobre el sistema inmunitario del lactante también podría explicar la mejor respuesta de éste frente a determinadas vacunas. Así, diferentes estudios han demostrado una mayor producción de anticuerpos en niños amamantados y vacunados frente a la poliomielitis, el tétanos y la difteria<sup>13</sup>.

Los niños amamantados presentan una microbiota intestinal más saludable que los niños alimentados con fórmula<sup>14</sup>, probablemente debido a la presencia de bacterias ácido-lácticas en la leche materna, así como también por la existencia de los denominados factores bifidogénicos en la leche que favorecen el

mayor crecimiento de lactobacilos y bifidobacterias en los niños lactantes<sup>15</sup>. Se ha sugerido extensamente que estas diferencias en la composición microbiana de los recién nacidos, en función de su alimentación, podrían ser las responsables de los efectos protectores de la lactancia. Así, diferentes estudios muestran que lactobacilos y bifidobacterias ejercen un efecto antagonista del crecimiento de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* o *Clostridium perfringens*<sup>16</sup>. Dichas bacterias colonizan la mucosa intestinal del lactante de forma competitiva, impidiendo la adhesión de patógenos. Asimismo, se establece una competencia por los nutrientes que impide el crecimiento de estos patógenos<sup>17</sup>.

Por otro lado, la homeostasis del sistema inmunitario depende también de la colonización microbiana intestinal. Las bacterias intestinales estimulan las respuestas linfocitarias T<sub>H</sub>1 de los recién nacidos, compensando el desequilibrio T<sub>H</sub>2 propio de éstos. En este sentido, se ha descrito que la administración de determinados probióticos a los lactantes supone una reducción de la incidencia de fenómenos alérgicos<sup>18</sup> e incluso de la incidencia de procesos inflamatorios, como la enterocolitis necrosante<sup>19</sup>.

## Probióticos aislados de leche materna

Los primeros trabajos relacionados con la microbiología de la leche materna datan de los años setenta, aunque por aquel entonces se asumió que las bacterias presentes en la leche materna eran el resultado de una mera contaminación<sup>20</sup>. No es hasta el inicio del siglo XXI cuando dos grupos europeos demuestran, independientemente, la existencia de bacterias ácido-lácticas en la leche materna y su potencial probiótico<sup>5,6</sup>. En este sentido, Hekkilä et al.<sup>5</sup> demostraron que las bacterias ácido-lácticas presentes en la leche materna son capaces de proteger tanto a la madre como al recién nacido de infecciones causadas por *S. aureus*.

A partir de los estudios realizados por Martín et al. se aislaron de muestras de leche materna las cepas *L. gasseri* CECT5714, *L. salivarius* CECT5713 y *L. fermentum* (Puleva Biotech S.A.)<sup>21,22</sup>. Además de éstas, existen otras dos cepas comerciales que han estado relacionadas con la leche materna. Por un lado, la cepa de *L. reuteri* ATCC55730 comercializada por Biogaia (Suecia), que ha sido reclamada como originaria de la leche materna<sup>23</sup>, aunque dicho origen no ha sido nunca demostrado; por otro lado, la cepa de *L. rhamnosus* LGG originalmente aislada a partir de fuentes intestinales<sup>24</sup>, pero que fue también detectada en leche materna por el grupo de estudio finlandés<sup>5</sup>. A pesar de ello, este trabajo se centrará básicamente en los efectos beneficiosos demostrados por las cepas *L. gasseri* CECT5714, *L. salivarius* CECT5713 y *L. fermentum* CECT5716, que están resumidos en la tabla 2.

## Efectos antimicrobianos

La protección frente a infecciones víricas, gastroenteritis u otras infecciones bacterianas es uno de los reclamos más fre-

TABLA 2

## Efectos beneficiosos de algunas cepas de probióticos aisladas de leche materna

Cepa	Efecto beneficioso	Referencia
<i>L. salivarius</i> CECT5713	Coloniza el intestino	Martín et al. <sup>22</sup>
	Producción de antibacterianos	Martín et al. <sup>22</sup>
	No produce D-láctico	Martín et al. <sup>22</sup>
	Efecto antimicrobiano	Olivares et al. <sup>27</sup>
	Efecto inmunomodulador	Díaz-Ropero et al. <sup>30</sup>
	Efecto antiinflamatorio	Peran et al. <sup>40</sup>
<i>L. gasseri</i> CECT5714	Coloniza el intestino	Martín et al. <sup>21</sup>
		Olivares et al. <sup>41</sup>
	Efecto gastrointestinal	Lara-Villoslada et al. <sup>38</sup>
		Olivares et al. <sup>41</sup>
	Producción de antibacterianos	Martín et al. <sup>21</sup>
	Efecto antimicrobiano	Olivares et al. <sup>27</sup>
	Efecto inmunomodulador	Olivares et al. <sup>37</sup> Olivares et al. <sup>39</sup> Lara-Villoslada et al. <sup>38</sup>
Efecto antialérgico	Olivares et al. <sup>34</sup>	
<i>L. fermentum</i> CECT5716	Coloniza el intestino	Martín et al. <sup>21</sup>
		Olivares et al. <sup>39</sup>
	Producción de antibacterianos	Martín et al. <sup>21</sup>
	Efecto antimicrobiano	Olivares et al. <sup>27</sup>
	Efecto inmunomodulador	Díaz-Ropero et al. <sup>30</sup>
	Efecto adyuvante	Olivares et al. <sup>39</sup>
Efecto antiinflamatorio	Díaz-Ropero et al. <sup>30</sup> Peran et al. <sup>35</sup>	

cuentas asociados al consumo de probióticos. Se han sugerido diversos mecanismos para explicar cómo la microbiota intestinal contribuye a la defensa del huésped frente a patógenos gastrointestinales<sup>25</sup> (figura 1). Estudios realizados *in vitro* han demostrado que las cepas probióticas son capaces de producir diversas sustancias antimicrobianas, como ácidos orgánicos, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y/o bacteriocinas<sup>26</sup>, las cuales inhiben el crecimiento de patógenos potenciales como *E. coli*, *Salmonella* spp. o *Listeria monocytogenes*<sup>27</sup>. Entre las cepas detectadas en la leche materna, no se han detectado cepas productoras de bacteriocinas pero sí se caracterizan por producir una gran cantidad de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>28</sup>. Además, las cepas de *L. reuteri* se caracterizan por su capacidad de producir la sustancia antimicrobiana reuterina<sup>29</sup>.

El principal mecanismo utilizado por los probióticos para inhibir la capacidad infectiva de los posibles patógenos es probablemente su capacidad para competir con las bacterias enterotoxigénicas por los nutrientes, así como por su adhesión a los receptores de unión en el epitelio intestinal<sup>26,27</sup> (figura 1). Finalmente, se ha descrito que algunas bacterias presentes en la leche materna también pueden aumentar las funciones de la barrera intestinal gracias al incremento en la producción de mucinas y a la reducción de la permeabilidad intestinal que inducen<sup>27</sup>.

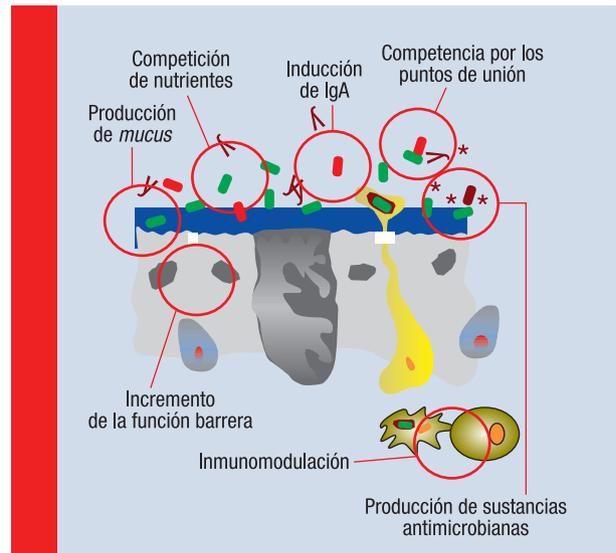


Figura 1. Mecanismos de acción utilizados por los probióticos para ejercer un efecto antiinfeccioso en la mucosa intestinal

A pesar del potencial antimicrobiano de las cepas probióticas presentes en la leche materna, no es posible realizar una generalización sobre su mayor o menor capacidad antiinfecciosa en relación con bacterias probióticas aisladas a partir de otras fuentes. Sin embargo, resultados obtenidos en un modelo experimental de infección bacteriana<sup>27</sup> demuestran que la cepa *L. salivarius* CECT5713 es capaz de ejercer una mejor protección frente a la infección por *Salmonella* que otra cepa de probióticos aislada de una fuente distinta a la leche materna, a pesar de que ésta era capaz de producir reuterina<sup>28</sup>, probablemente debido a la acción combinada entre los efectos competitivos y la modulación del sistema inmunitario ejercido por ésta<sup>30</sup>.

Diversos estudios clínicos realizados en población infantil demuestran el potencial de los probióticos para proteger frente a las infecciones, reduciendo así la incidencia de este tipo de trastornos cuando la lactancia natural no es posible. Hasta la fecha, los estudios realizados con *L. rhamnosus* LGG son los más generalizados, lo que demuestra la eficacia del tratamiento con probióticos en la incidencia de infecciones por rotavirus o en la duración de los procesos diarreicos<sup>31</sup>. En la actualidad, se están realizando estudios para demostrar la tolerancia y la efectividad de otras cepas de probióticos maternos en nutrición infantil, como es el caso de *L. reuteri* ATCC55730 o *L. salivarius* CECT5713.

Finalmente, los probióticos de leche materna ofrecen una nueva alternativa en el tratamiento de infecciones durante la lactancia, debido a que su capacidad de transferencia a la glándula mamaria ofrece la posibilidad de mejorar la microbiota comensal mamaria y, por tanto, determinar la colonización inicial del lactante<sup>32</sup>.

## Efectos inmunomoduladores

La colonización inicial del intestino del recién nacido supone la primera estimulación bacteriana del organismo. Diversos trabajos han descrito que las diferencias en la composición microbiana del intestino humano pueden afectar a la incidencia y/o la gravedad de diversas afecciones, entre las que se pueden incluir los procesos alérgicos o inflamatorios<sup>33</sup>. En tales condiciones, el efecto beneficioso de los probióticos se ha asociado a su efecto estimulador de la respuesta inmunitaria, mientras que en otras se ha reclamado un efecto antialérgico o antiinflamatorio. ¿Cómo puede ser esto posible? ¿Pueden ciertos probióticos tanto activar como reducir la respuesta inmunitaria según el estado del organismo?

Basándonos en la hipótesis de la higiene y en el balance  $T_H1/T_H2$  existente en el sistema inmunitario, la microbiota intestinal puede proteger frente a los fenómenos de alergia ( $T_H2$ ) a través de la estimulación de la respuesta  $T_H1$ . Pero, si esto es así, ¿cómo pueden los probióticos a su vez reducir la respuesta inflamatoria ( $T_H1$ )?

Estudios realizados *in vitro* con células inmunitarias han demostrado que la capacidad inmunomoduladora de algunas cepas probióticas depende del estado de activación de dichas células<sup>30</sup>. Así, en ausencia de otro estímulo, los probióticos de leche materna actúan como agentes inmunoestimulantes produciendo un aumento de la expresión de citocinas  $T_H1$  y mediadores inflamatorios, como interleucina (IL)-2, IL-12 o TNF- $\alpha$ . Sin embargo, la misma cepa es capaz de producir un efecto contrario en el caso de que las células se encuentren previamente activadas, reduciendo la expresión de las citocinas inducidas por agentes bacterianos. Dicha modulación está basada principalmente en la inducción de la citocina reguladora IL-10<sup>30</sup>, principal responsable de la maduración del fenómeno de la tolerancia intestinal. De esta manera, los estudios *in vitro* sugieren que las cepas de leche materna se caracterizan por inducir una elevada producción de IL-10 en las células inmunitarias, lo que tiende a equilibrar la respuesta inmunitaria.

Dichos resultados *in vitro* han sido confirmados *in vivo* mediante la utilización de diversos modelos animales de enfermedades humanas. En este sentido, las cepas probióticas de leche materna han demostrado que aumentan las defensas inmunitarias de ratones sanos<sup>30</sup> potenciando los parámetros pertenecientes tanto a la inmunidad natural como a la adquirida. Dicho efecto podría explicar el papel protector de estas cepas en el modelo animal de infección por *Salmonella*<sup>27</sup>. Además, estas cepas son capaces de reducir la incidencia y los síntomas de una alergia alimentaria en modelos animales de alergia a la leche de vaca y en humanos<sup>34</sup>, o de reducir la respuesta inflamatoria observada en un modelo de enfermedad inflamatoria intestinal en ratones<sup>35</sup>. A pesar de ello, la eficacia o la potencia de cada probiótico es una característica específica de cada cepa en particular y, por ello, no es posible realizar generalizaciones. En este sentido, por ejemplo, se ha demostrado que la cepa *L. fermentum* CECT5716 ejerce una actividad antiinflama-

toria intestinal más potente que la ejercida por *L. reuteri* AT-CC5730, a pesar de que ambas cepas son bacterias homofermentativas<sup>35</sup>. Una posible explicación de estas diferencias podría ser la capacidad de *L. fermentum* CECT5716 de producir, a diferencia de *L. reuteri*, grandes cantidades del antioxidante glutatión<sup>35</sup>.

El efecto inmunomodulador de los probióticos en humanos queda claramente reflejado en un reciente estudio que demuestra el efecto que ejerce sobre el sistema inmunitario de adultos la eliminación de alimentos fermentados durante tan sólo un periodo de 2 semanas, y como éste se restablece tras el consumo de probióticos<sup>36</sup>. Por tanto, no es de extrañar que haya innumerables estudios, tanto en adultos como en niños, que demuestren la capacidad inmunomoduladora de las cepas de probióticos aisladas de leche materna<sup>37,38</sup>. Entre los efectos descritos en personas sanas destacan, por ejemplo, el incremento en las defensas naturales, como puede ser el aumento de la actividad fagocítica en sangre o los niveles de células *natural killer*, así como el aumento de inmunoglobulinas IgA representantes de la inmunidad adquirida<sup>37</sup>. Además, un estudio realizado en adultos con la cepa *L. fermentum* CECT5716 demuestra la capacidad de esta cepa de potenciar los efectos inmunitarios de un vacuna frente a la gripe y aportar así una mayor protección al individuo frente a esta infección vírica<sup>39</sup>.

Sin embargo, quizás el efecto más extensamente demostrado de los probióticos de leche materna es su papel protector frente a los procesos alérgicos tanto en adultos<sup>34</sup> como en población infantil<sup>18</sup>, donde numerosos trabajos realizados, principalmente con la cepa de *L. rhamnosus* LGG, demuestran su eficacia frente a los fenómenos de dermatitis atópica infantil.

## Beneficios gastrointestinales

Aunque menos estudiados, los probióticos pueden ejercer también efectos beneficiosos a través de la regulación de parámetros gastrointestinales y modulando la absorción de nutrientes. Algunos trabajos realizados tanto en animales<sup>40</sup> como en humanos<sup>41</sup> permiten demostrar la capacidad colonizadora intestinal de las cepas aisladas a partir de leche materna. En ellos, la administración oral de estas cepas provoca un aumento de los recuentos de lactobacilos y la subsiguiente modulación de la microbiota intestinal. Además, análisis moleculares demuestran que dichas cepas son metabólicamente activas en el tracto digestivo<sup>41</sup>. Esta modificación de la microbiota provoca cambios en determinadas actividades enzimáticas y fermentativas en el intestino, que suponen un incremento en la producción de metabolitos funcionales, como los ácidos grasos de cadena corta (p. ej., butirato). El butirato es la principal fuente energética para los enterocitos colónicos y también uno de los principales moduladores de los hábitos intestinales. El incremento en los niveles de butirato colónico en voluntarios humanos podría ser la causa que permite explicar los beneficios observados en diversos parámetros gastrointestinales, como pueden ser el incremento en el contenido de agua fecal o el aumento

en la frecuencia y el volumen de defecación, aspectos que son generalmente percibidos como positivos<sup>41</sup>.

Estudios similares realizados en niños, principales consumidores de este tipo de productos, demuestran que algunas cepas de leche materna son capaces de colonizar y modular los hábitos intestinales también en este grupo poblacional<sup>38</sup>. Además, en este estudio se demuestra que la modulación de la microbiota intestinal puede ejercer un efecto beneficioso al reducir la citotoxicidad de las aguas fecales de los voluntarios que consumen dichas cepas probióticas. Finalmente, en un estudio realizado en niños alimentados con una fórmula infantil suplementada con la cepa *L. rhamnosus* LGG durante los 6 primeros meses de vida, se ha observado que el consumo de este probiótico podría mejorar la tasa de crecimiento de los bebés<sup>42</sup>, lo cual puede estar relacionado con una mayor eficiencia en la absorción de nutrientes en estos niños.

## Conclusiones

La leche materna no sólo no es estéril, sino que supone el principal factor determinante de la colonización neonatal. La leche materna es una fuente importante de bacterias ácido-lácticas con capacidad probiótica. Dichas cepas probióticas aisladas de leche materna ejercen actividades protectoras para el lactante, como acciones antiinfecciosas o inmunomoduladoras. Por todo ello, la inclusión de bacterias probióticas aisladas de la propia leche materna en fórmulas infantiles podría ser una solución válida para la mejora del equilibrio microbiano intestinal de los niños que no pueden recibir lactancia natural, obteniendo de esta manera los beneficios atribuidos clásicamente a la lactancia. ■

## Bibliografía

- López-Alarcón M, Villalpando S, Fajardo A. Breastfeeding lowers the frequency and duration of acute respiratory infection and diarrhea in infants under six month of age. *J Nutr*. 1997; 127: 436-443.
- Wright AL, Bauer M, Naylor A, Sutcliffe E, Clark L. Increasing breastfeeding rates to reduce infant illness at the community level. *Pediatrics*. 1998; 101: 837-844.
- Saavedra JM. Probiotic agents: clinical applications in infants and children. En: Rähä NCR, Rubaltelli FF, eds. *Infant Formula: Closer to Reference*. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 15-27.
- Isaacs CE. Human milk inactivates pathogen individually, additively and synergistically. *J Nutr*. 2005; 51: 1.286-1.288.
- Hekkilä MP, Saris PEJ. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J Appl Microbiol*. 2003; 95: 471-478.
- 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: 754-758.
- Ford JE, Law BA, Marshall VME, Reiter B. Influence of the heat treatment of human milk on some of its protective constituents. *J Pediatr*. 1977; 91: 29-35.
- Cesar JA, Victoria CG, Barros FC, et al. Impact of breast feeding on admission for pneumonia in postneonatal period in Brazil: nested case-control study. *BMJ*. 1999; 318: 1.316-1.320.
- Victoria CG, Smiyh PG, Vaughan JP, et al. Evidence for protection by breast-feeding against infant deaths from infectious diseases in Brazil. *Lancet*. 1987; 2: 319-322.
- Nascimento MBR. Breastfeeding: making the difference in the development, health and nutrition of term and preterm newborns. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo*. 2003; 58: 49-60.
- Grazioso CF, Werner AL, Alling DW, et al. Antiinflammatory effects of human milk on chemically induced colitis in rats. *Pediatr Res*. 1997; 42: 639-643.
- Garofalo RP, Goldman AP. Expression of functional immunomodulatory and antiinflammatory factors in human milk. *Clin Perinatol*. 1999; 26: 361-367.
- Hahn-Zoric M, Fulconis F, Minoli L, et al. Antibody response to parenteral and oral vaccines are impaired by conventional and low protein formulas as compared to breast-feeding. *Acta Paediatr Scand*. 1990; 79: 1.137-1.142.
- Harmsen HJM, Wildeboer-Veloo ACM, Raangs GC, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000; 30: 61-67.
- Kunz C, Rudloff S. Biological functions of oligosaccharides in human milk. *Acta Paediatr*. 1993; 82: 903-912.
- Gilliland SE, Speck ML. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and food borne pathogens in associative cultures. *J Food Prot*. 1977; 40: 820-823.
- Conway PL. Selection criteria for probiotic microorganisms. *Asia Pacific J Clin Nutr*. 1996; 5: 10-14.
- Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*. 2001; 357: 1.076-1.079.
- Dani C, Biandaioli R, Firmito FR. Potential role of probiotics in the prevention of necrotizing enterocolitis. En: *Infant Formula: Closer to the Reference*. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002.
- Gavin A, Ostovr K. Microbiological characterization of human milk. *J Food Prot*. 1977; 40: 614-616.
- Martín R, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM. Probiotic potential of 3 *Lactobacilli* strains isolated from breast milk. *Hum Lact*. 2005; 21: 8-17.
- Martín R, Jiménez E, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, et al. *Lactobacillus salivarius* CECT5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *Int J Microbiol*. 2006; 112: 35-43.
- Biogaia [citado 8 de diciembre de 2006]. Disponible en: <http://www.biogaia.se>
- Conway PL, Gorbach SL, Goldin BR. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J Dairy Sci*. 1987; 70: 1-12.
- Sanz Y, Collado MC, Dalmau J. Contribución de la microbiota intestinal y del género *Bifidobacterium* a los mecanismos del huésped frente a patógenos gastrointestinales. *Acta Pediatr Esp*. 2006; 64: 74-78.
- Fons M, Gómez A, Karjalainen T. Mechanisms of colonization and colonization resistance of the digestive tract. *Microb Ecol Health Dis*. 2000; 2: 240-246.
- 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: 72-79.
- Martín R, Olivares M, Marín ML, Xaus J, Fernández L, Rodríguez JM. Characterization of a reuterin-producing *Lactobacillus* coryni-

- formis strain isolated from a goat's milk cheese. *Int J Food Microbiol.* 2005; 104: 267-277.
29. Talarico TL, Dobrogosz WJ. Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989; 33: 674-679.
  30. 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.* 2006; 102: 337-343.
  31. Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microb Infect.* 2005; 11: 958-966.
  32. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Olivares M, et al. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends Food Sci Tech.* 2004; 15: 121-127.
  33. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The gut microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy.* 1999; 29: 342-346.
  34. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Lara-Villoslada F, Rodríguez JM, Xaus J. Effectiveness of probiotics in allergy: child's game or adult affair? *Nutrafoods.* 2005; 4: 59-64.
  35. Peran L, Sierra S, Comalada M, et al. A comparative study of the preventative effects exerted by two probiotics, *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum*, in the trinitrobenzenesulfonic acid model of rat colitis. *Br J Nutr.* 2007; 97: 96-103.
  36. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Gómez N, Sierra S, Lara-Villoslada F, Martín R, et al. Dietary deprivation of fermented foods causes a fall in innate immune response. Lactic acid bacteria can counteract the immunological effect of this deprivation. *J Dairy Res.* 2006; 73: 492-498.
  37. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Gómez N, Lara-Villoslada F, Sierra S, Maldonado JM, et al. The consumption of two new probiotic strains, *Lactobacillus gasseri* CECT5714 and *Lactobacillus coryniformis* CECT5711, boost the immune system of healthy adults. *Int Microbiol.* 2006; 9: 47-52.
  38. Lara-Villoslada F, Sierra S, Boza J, Xaus J, Olivares M. Beneficial effects of consumption of a dairy product containing two probiotic strains, *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 and *Lactobacillus gasseri* CECT5714 in healthy children. *Nutr Hosp.* 2007; 22(4): 496-502.
  39. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Sierra S, Lara-Villoslada F, Fonolla J, Navas M, et al. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effect of influenza vaccination. *Nutrition.* 2007; 23: 254-260.
  40. Peran L, Camuesco D, Comalada M, Nieto A, Concha A, Díaz-Ropero MP, et al. Preventative effects of a probiotic, *Lactobacillus salivarius* ssp *salivarius*, in the TNBS model of rat colitis. *World J Gastroenterol.* 2005; 11: 5.185-5.192.
  41. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Gómez N, Lara-Villoslada F, Sierra S, Maldonado JA, et al. Oral administration of two probiotic strains, *Lactobacillus gasseri* CECT5714 and *Lactobacillus coryniformis* CECT5711, enhances the intestinal function of healthy adults. *Int J Microbiol.* 2006; 107: 104-111.
  42. Vendt N, Grünberg H, Tuure T, Malminiemi O, Wuolijoki E, Tillmann V, et al. Growth during the first 6 months of life in infants using formula enriched with *Lactobacillus rhamnosus* GG: double-blind, randomized trial. *J Hum Nutr Diet.* 2006; 19: 51-58.