

Lactància materna exclusiva front a introducció d'altres aliments en infants: efectes sobre la microbiota

- Modalitat REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA -

Treball Final de Màster Nutrició i Salut

Autora: **Laura Blasco Momparler**

Directora: **M^a José Rodríguez Lagunas**

Juny 2018



Aquesta obra està subjecta a una llicència de Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.ca>)

Llistat d'abreviatures

LM: llet materna

LF: llet de fórmula

HMOs: oligosacàrids de la llet materna

GOS: galactooligosacàrids

FOS: fructooligosacàrids

Resum

La llet materna és el principal aliment dels nadons, tot i així, en certes ocasions on la mare no pot o no vol alletar el seu nadó aquesta es substitueix per llet de fórmula. Tot i els nombrosos beneficis que té la lactància materna, la seva prevalença és significativament menor del que seria desitjable.

L'objectiu d'aquest treball és conèixer com el tipus d'alimentació durant la primera infància determina la microbiota del nadó i quines conseqüències tindrà a la seva salut i, en particular, sobre el seu pes.

El gènere més representat en les microbiotes de tots els infants, independentment de la seva alimentació, és *Bifidobacterium*. Els nens i nenes alletats amb llet materna presenten més del doble de *Bifidobacterium* i menys presència de *Bacteroides*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* i *Staphylococcus* que aquells alimentats amb llet de fórmula.

Amb una petita suplementació amb llet de fórmula, la microbiota normal d'un nadó alletat amb llet materna canvia de manera ràpida al patró de la microbiota d'un nen/a alimentat/ada exclusivament amb llet de fórmula. No obstant, sembla que és l'abandó de la lactància materna, més que la introducció d'altres aliments, allò que ocasiona el canvi més dràstic de microbiota.

Per últim, la relació entre la microbiota intestinal infantil i l'obesitat passa per un procés d'inflamació intestinal que sembla estar causat per nivells baixos de *Bifidobacterium* i nivells alts de *Bacteroides* i *Staphylococcus*, condicions que serien afavoridores de l'obesitat.

Paraules clau

Microbiota, lactància materna, llet de fórmula, obesitat

Abstract

Human milk is the principal nourishment for babies. However, many times when the mother is not able or doesn't want to breastfeed, this milk is substituted by instant formula milk. In spite of the so many benefits of breastfeeding, its prevalence is significantly lower than it would be desirable.

The goal of this work is to know how first infancy feeding determines the baby's microbiome and which consequences it will have on his/her health and, especially, on his/her weight.

The most represented genre in any child microbiome, no matter the feeding type, is *Bifidobacterium*. Breastfed children have more than double the amount of *Bifidobacterium* and low amount of *Bacteroides*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* and *Staphylococcus* than instant formula fed children.

Little amounts of infant formula supplementation will produce a quick change on the child's microbiome, resembling more to the microbiota of exclusive infant formula fed babies. Nevertheless, it seems that it is breastfeeding withdrawal, rather than other food introduction, what causes an even bigger microbiome change.

Finally, relationship between infant gut microbiome and obesity goes over a gut inflammation, process which is likely to be caused by low bifidobacteria levels and high *Bacteroides* and *Staphylococcus* levels, appropriate conditions for obesity.

Key words

Microbiota, breastfeeding, instant formula, obesity

Índex

1. Introducció	1
<i>1.1.Opcions alimentícies del nadó</i>	1
<i>1.2.Beneficis coneguts de la lactància materna</i>	1
<i>1.3.La microbiota intestinal</i>	2
<i>1.4.Factors que influeixen en la composició de la microbiota intestinal</i>	3
<i>1.5.La llet materna</i>	4
<i>1.6.Xifres sobre lactància materna</i>	5
<i>1.7.La llet de fórmula</i>	6
<i>1.8.Riscs de no alletar</i>	7
2. Objectius	8
3. Metodologia	9
4. Resultats	10
<i>4.1.Colonització inicial de l'intestí</i>	10
<i>4.2.Els primers mesos</i>	10
<i>4.3.Suplementació, deslletament i introducció d'aliments sòlids</i>	11
<i>4.4.Estabilitat i diversitat de la microbiota</i>	12
<i>4.5.Comparativa general: llet materna vs llet de fórmula</i>	13
<i>4.6.El resultat de la suplementació i l'abandó de la lactància materna sobre la microbiota</i>	16
<i>4.7.Microbiota i obesitat</i>	17
5. Discussió	19
6. Aplicabilitat i noves línies de recerca	22
6. Conclusions	25
7. Bibliografia	26

1. Introducció

1.1.Opcions alimentícies del nadó

L'èsser humà, com a mamífer que és, té mames que generen llet per a alimentar als seus nadons acabats de nàixer per un temps variable, que pot ser de dies, setmanes, mesos o anys, depenent de les circumstàncies de la mare o l'infant.

Nutricionalment, la llet materna (LM) és un aliment complet, adaptat i adequat per als nens i les nenes, que neixen en situació de total dependència de les seves mares i que els protegeix front a malalties actuals i futures.

Diversos organismes competents en qüestions de salut infantil, com l'Associació Espanyola de Pediatria (AEP), l'Organització Mundial per a la Salut (OMS) i Fons Internacional d'Emergència de les Nacions Unides per a la Infància (UNICEF), recomanen que l'alimentació dels infants sigui (1, 2):

- exclusivament basada en LM fins als 6 primers mesos
- que, paral·lelament a la continuació de l'alletament, a partir dels 6 mesos s'acompanyi d'alimentació complementària fins als 12 mesos
- com un aliment més fins als 24 mesos (2 anys)
- i, després, que continuï fins que la mare i/o el fill així o decideixin

La llet de fórmula (LF) per a lactants és una imitació fabricada de l'aliment únic que és la LM i que, en moltes ocasions, és utilitzada en l'alimentació dels nadons, independentment de que pugui ser estrictament necessari emprar-la o no. Sovint, és un dels primers aliments diferent a la LM amb el que alimentem a l'infant.

1.2.Beneficis coneguts de la lactància materna

Més enllà dels aspectes nutricionals, es troba el fet de que la LM, en sí, és un factor protector contra determinades malalties infectocontagioses, de l'espectre atòpic, així com contra la leucèmia, enterocolitis necrotitzant (3), malalties inflamatòries intestinals, malalties cardiovasculars, obesitat i diabetis tipus II (4), i també beneficia front a la hipertensió, síndrome metabòlic, diabetis tipus I, dermatitis atòpica (5), rinitis i asma (6), desordres autoimmunes i al·lèrgics (7), inclosa la celiaquia (8, 9) i intolerància a la

glucosa (10). De fet, la lactància materna pot previndre un 13% la mortalitat infantil mundial i redueix el risc de mort súbita del lactant en un 36% (11).

A més a més, alimentar a l'infant amb LM també està relacionat amb un major quocient intel·lectual, major desenvolupament cognitiu en general i menor presència de símptomes d'autisme i TDAH (12, 13).

Un altre aspecte a valorar és l'emocional. Durant la lactància materna, el vincle afectiu entre la mare i el fill és veu enfortit, de manera que no sols implica beneficis nutricionals, sinó també emocionals (14).

Però tornant als aspectes nutricionals i immunològics, un de molt interessant és la influència que pot tenir en particular sobre la microbiota que habita als intestins.

1.3.La microbiota intestinal

La microbiota intestinal és un complex ecosistema de microorganismes, que inclou bacteris, fongs i virus que habiten als nostres intestins, on s'hi han adaptat des de fa milenies. La microbiota aporta nutrients i energia a través de la fermentació dels components de la dieta no digerits a l'intestí que mantenen en equilibri el metabolisme i el sistema immunològic. Independentment de que alguns d'aquests microorganismes poden viure sent paràsits i altres simbiotes, el que és evident és que la seva presència afectarà a la salut de l'hoste, bé sigui perquè intervien en processos metabòlics o fisiològics. La microbiota suposa un ajuda a la digestió i absorció de nutrients (sobretot fruites i hortalitxes), proporciona vitamines essencials (com la vitamina K o la B₁₂) i té a veure amb el desenvolupament d'una major resistència front a patògens (5, 15).

La microbiota intestinal humana està dominada per membres de 4 divisions o phylums: Firmicutes, Bacteroidetes i, en menor extensió, Actinobacteria i Proteobacteria. Està composta per uns quants centenars de diversos microorganismes, principalment bacteris (10^{11-12} bacteris/g de contingut colònic, formant el 60% del total de la massa fecal (16). El nombre total de bacteris d'un intestí humà excedeix 10 vegades el nombre de les cèl·lules que formen el seu cos, i el conjunt del genoma d'aquests microbis conté 100 vegades més gens que el genoma humà (17). Amb l'anàlisi de l'ARN ribosòmic 16S dels bacteris que formen la microbiota humana s'han detectat més de 7000 filotipus (17), però que pertanyen bàsicament al nombre de divisions taxonòmiques esmentades, principalment les anaeròbies *Bacteroides*, *Eubacterium* i *Clostridium* (16, 18, 19).

1.4. Factors que influeixen en la composició de la microbiota intestinal

L'intestí de l'infant que naix estarà exposat a una imminent colonització bacteriana. El tipus de part serà el primer factor que determinarà la futura microbiota de l'infant. La microflora vaginal materna és decisiva quan l'infant ha passat pel canal vaginal per al seu naixement. Els fills nascuts a través d'aquest tipus de part compten amb una microbiota més diversa que aquells cesarians (20, 21). Particularment, els nadons nascuts a través d'una cesària presenten, concretament, un menor nombre de bifidobacteris i *Bacteroides* spp. (22). Seran els bacteris vaginals, fecals, orals i cutanis de la mare, a banda dels ambientals, aquells que seran transferits al nadó mitjançant diferents processos com ara besar, alletar i acariciar. Els factors que condicionen aquesta colonització són:

- Factors extrínsecs: tipus de part, si el part ha sigut a terme o no, alimentació, àrea geogràfica, exposició als bacteris del medi extern, hospitalització, higiene del pit i higiene general i ús de medicaments
- Factors intrínsecs: genètica, receptors de la mucosa bacteriana i les seves interaccions, pH intestinal i secrecions, peristaltisme i resposta immune

Un dels més fonamentals, i motiu de moltes investigacions, és el factor alimentació. El seu paper és dominant i decisiu i és el factor que s'estudia en aquest treball.

El primer aliment que el nadó es posarà a la boca és la llet. Així doncs, l'opció més natural és la LM, mentre que també existeix una opció molt recorrent, que és la de la LF. La composició de la LM és dinàmica. No serà la mateixa, depenent del pes, de la dieta i de l'edat de la mare, de en quin moment del període de la lactància ens trobem i també del dia i la nit (23).

La influència de la dieta de la mare és un aspecte important i és objecte de diversos estudis, així doncs s'ha determinat que afectarà tant a l'estructura de la microbiota intestinal com a la composició microbiana i nutricional de la LM que fabrica (24). Un altre punt de vista complementari és el de que la llet de mares obeses fabriquen una LM menys diversa que la de mares amb pes normal (20). La vacunació materna incrementaria els nivells de immunoglobulines en la LM i tindria un efecte molt significatiu, per exemple, reduint les infeccions per influenza (23).

1.5. La llet materna

El primer fluid produït per les mares durant els primers dies després de part s'anomena calostre, ric en components immunològics com immunoglobulines A (Ig)A, lactoferrina, leucocits, el factor de creixement epidèrmic (EGF), lactosa, sodi, clor i magnesi i amb nivells baixos de potasi i calci. La seua funció és substancialment immunològica. L'activació de la secreció de les glàndules mamàries dona lloc a la fabricació de la llet de transició, que té algunes de les característiques del calostre, tot i que conté més nutrients per a poder donar suport al ràpid creixement del nadó. I després d'unes 4 setmanes la llet és considerada completament madura (23).

La LM està composta per una rica barreja de proteïnes, greixos i oligosacàrids de la llet humana (HMOs):

- La quantitat de proteïnes és prou variable, sent les més abundants la caseïna, l'alfa-lactalbúmina, la lactoferrina, l'IgA i la lisozima (23, 26).
- La proporció de greixos encara pot ser més variable, sent els més abundants l' àcid palmític i l'oleic. S'ha de matisar que la última llet de la presa conté més greixos que la llet del principi i també en contenen més les preses del vespre i inici de la nit que les de la nit i el matí (23).
- El principal sucre de la llet humana és la lactosa, que sol tindre una concentració prou estable d'unes mares a altres sent molt importants els oligosacàrids de la llet humana (23). Aquests HMOs són un conjunt de glicans que no poden ser digerits per l'hoste però sí poden ser-ho per un subconjunt de la microbiota intestinal (27). Això és degut a que aquesta microbiota adaptada al mucus té una sèrie d'enzims de tipus hidrolasa que metabolitzen aquests compostos carbonatats. El procés transcorre de manera que aquests HMOs passen a través de l'intestí prim de l'infant al colon sense ser digerits i, una vegada allí, actúen a mode de prebiòtics facilitant l'establiment dels bifidobacteris (21).
- Respecte als micronutrients, si el nadó s'alimenta exclusivament de LM, es recomana suplementar la seua dieta amb vitamina K, per ser la LM extremadament baixa en aquesta.

A continuació, gràcies a les aportacions de Calvillo (28), es mostra la composició de la LM amb detall:

Composición de la leche humana

Agua, Hidratos de carbono (fuente de energía), Lactosa, Oligosacáridos*, Ácidos carboxílicos, Alfa hidroxiaácidos, Ácido láctico, Proteínas (para los músculos y los huesos), Lactoalbumina, Alfalactoalbumina, HAMLET (Alfa-Lactoalbumina modificada para atacar células de tumores), Lactoferrina, Multitud de factores antimicrobianos**, Caseína, Albumina sérica, Nitrógenos no proteicos, Creatina, Creatinina Urea, Ácido úrico, Peptidos***. Aminoácidos (los ladrillos que forman las proteínas): Ácido glutámico, Glutamina, Taurina, Alanina, Treonina, Serina, Glicina, Ácido aspártico, Leucina, Cistina, Valina, Lisina, Histidina, Fenilalanina, Tirosina, Arginina, Isoleucina, Ornitina, Metionina, Fosfoserina, Fosfoetanolamina-aminobutirato, Triptofano, Prolina, Carnitina (compuesto de aminoácidos necesarios para hacer uso de ácidos grasos como fuente de energía). Nucleótidos (las unidades estructurales del ADN y el ARN): 5'-Adenosin monofosfato (5'-AMP), 3':5'-Adenosin monofosfato cíclico (3':5'-cyclic AMP), 5'-Citidina Monofosfato (5'-CMP), Citidina Difosfato Colina (CDP colina), Guanosin difosfato (GDP), Guanosina difosfato Manosa, 3'-Uridina monofosfato (3'-UMP), 5'-Uridina monofosfato (5'-UMP), Uridina difosfato (UDP), Uridina difosfato hexosa (UDPH), Uridina Difosfato N-Acetilglucosamina (UDPAH), Uridina Difosfato, Ácido Glucurónico (UDPGA) y otros muchos nucleótidos del tipo UDP recién descubiertos. Lípidos: Triglicéridos, Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, Ácido docosahexaenoico (DHA importante para el desarrollo del cerebro), Ácido araquidónico (AA importante para el desarrollo del cerebro), Ácido linoleico (LA), Ácido alfa-linoléico (ALA), Ácido eicosapentaenoico (EPA), Ácido linoleico conjugado (ácido ruménico), Ácidos grasos libres, Ácidos grasos monoinsaturados, Ácido oleico, Ácido palmítico, Ácido heptadecanoico, Ácidos grasos saturados, Ácido estearico, Ácido palmítico, Ácido laurico, Ácido mirístico. Fosfolípidos: Fosfatidilcolina, osfatidiletanolamina, Fosfatidilinositol, Lisofosfatidilcolina, Lisofosfatidiletanolamina, Plasmalógenos. Esfingolípidos: Esfingomielinas, anglosíidos GM1, GM2, GM3, Glucosilceramida, Glucosfingolípidos, Galactosilceramida, Lactosilceramida, Globotriaosilceramida (GB3), Globosido (GB4). Esteroles: Escualeno, Lanosterol, Dimetilsterol, Metosterol, Latosterol, Desmosterol, Triacilglicerol, Colesterol 7- ehidrocolesterol, Estigmaesterol y campesterol 7-ketocolesterol, β -Sitosterol, Latosterol, Metabolitos de la vitamina D, Hormonas esteroides. Vitaminas: Vitamina A, Beta caroteno, Vitamina B6, Vitamina B8 (Inositol), Vitamina B12, Vitamina C, Vitamina D, Vitamina E a-Tocoferol, Vitamina K, Tiamina, Riboflavina, Niacina, Ácido fólico, Ácido pantoténico, Biotina. Minerales: Calcio, Sodio, Potasio, Hierro, Zinc, Cloruro, Fósforo, Magnesio, Cobre, Manganeseo, Yoduro, Selenio, Colina, Azufre, Cromo, Cobalto, Fluor, Níquel. Metal: Molibdeno elemento esencial en muchas enzimas), Factores de crecimiento (contribuyen a la maduración del recubrimiento intestinal), Citokinas interleucina-1 β (IL-1 β), IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), Factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), Factor de crecimiento de los hepatocitos - α (HGF- α), HGF- β , Factor de necrosis tumoral- α interferon- γ , Factor de crecimiento epitelial (EGF), Factor de crecimiento transformante- α (TGF- α), TGF β 1, TGF- β 2, Factor de crecimiento insulínico-I (IGF-I conocido como somatomedina C), Factor de crecimiento insulínico- II, Factor de crecimiento nervioso (NGF), Eritropoyetina. ***Peptidos (combinaciones de aminoácidos): HMGF I, (Factor de crecimiento humano) HMGF II, HMGF III, Colecistoquinina (CCK) β -endorfinas, Hormona paratiroidea (PTH), Peptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP) β -defensinas-1, Calcitonina, Gastrina, Motilina, Bombesina (peptido liberador de gastrina, también conocido como neuromedina B), Neurotensina, Somatostatina. Hormonas (mensajeros químicos que mandan señales desde una célula, o grupo de células, a otras a través de la sangre): Cortisol, Tiroyodina (T3), Tiroxina (T4), Hormona estimulante de la Tiroides (TSH también conocida como Tirotropina), Hormona liberadora de Tirotropina (TRH), Prolactina, Oxitocina, Insulina, Corticosterona, Trombopoyetina, Hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH GRH), Leptina (contribuye a la regulación de la ingesta de alimentos), Grelina (contribuye a la regulación de la ingesta de alimentos), Adiponectina, Factor inhibidor de la lactancia (FIL), icosanoides, Prostaglandinas (enzimáticamente derivadas de los ácidos grasos), PG-E1, PG-E2, PG-F2, Leucotrienos, Tromboxanos, Prostaciclina. Enzimas (catalizadores que regulan las reacciones químicas en el cuerpo humano): Amilasa, Arilsulfatasa, Catalasa, Histaminasa, Lipasa, Lisozima, PAF-acetilhidrolasa, Fosfatasa, Xantina oxidasa, Antiproteasas (se cree que se unen a las macromoléculas, como las enzimas, y, como consecuencia, previenen reacciones alérgicas y anafilácticas) a-1-antitripsina, a-1-antiquimotripsina.**Factores inmunológicos (utilizados por el sistema inmune para identificar y neutralizar objetos extraños, como bacterias o virus): Leucocitos (glóbulos blancos), Fagocitos, Basófilos, Neutrófilos, Eosinófilos, Macrófagos, Linfocitos B (también conocidos como células B), Linfocitos T (también conocidos como células C) IgA (Inmunoglobulina A Secretora factor inmunológico más importante), IgA2, IgG, IgD, IgM, IgE, Complemento C1, Complemento C2, Complemento C3, Complemento C4, Complemento C5, Complemento C6, Complemento C7, Complemento C8, Complemento C9, Glicoproteínas, Mucinas (atacan a las bacterias y los virus para evitar que se aferren a las mucosas), Lactadherina, Alfa-lactoglobulina, Alfa-2 macroglobulina, Antígenos Lewis, Ribonucleasa, Inhibidores de la hemaglutinina, Factor Bifidus (incrementa el crecimiento de Lactobacillus bifidus que son bacterias beneficiosas para el organismo), Lactoferrina (encierra el hierro para evitar que las bacterias lo utilicen para reproducirse y propagarse) Lactoperoxidasa (Proteína que aísla la vitamina B12 inhibe el crecimiento de microorganismos), Fibronectina (hace a los fagocitos más agresivos, minimiza la inflamación y repara el daño causado por la inflamación) *Oligosacáridos (más de 200 tipos diferentes).

Fuente: Calvillo A, Cabada X, García K. La alimentación industrializada del lactante y el niño pequeño. El nuevo meganegocio. El poder del consumidor. México 2013.

Figura 1: Composición de la leche humana.
Extret de (28)

1.6. Xifres sobre lactància materna

La prevalència de la lactància materna exclusiva en el món entre 2000 i 2005 va ser del 90% en els dies posteriors al part, però tan sols del 41% entre els 4-6 mesos després del part, amb percentatges superiors en Àfrica, seguida de Àsia oriental i meridional, Amèrica Latina i, finalment, Europa (29). En la nostra societat, el moment dels 4 mesos és crític, en part degut a la incorporació laboral de la dona després de la baixa maternal,

i es produeixen molts abandons de la lactància materna. Les dades obtingudes són d'un mínim del 6% i un màxim del 66% d'alletament exclusiu amb LM, basat en dades de 13 països, és a dir una mitjana del 33% (30).

Respecte a la situació econòmica del país, actualment tan sols un 37% dels lactants menors de 6 mesos en països de ingressos baixos i mitjos són alletats de forma exclusiva, i aquest nombre és encara menor en països de ingressos alts. Durant el segle passat, la duració de la lactància materna exclusiva es va anar reduint al llarg dels anys (Figura 2):

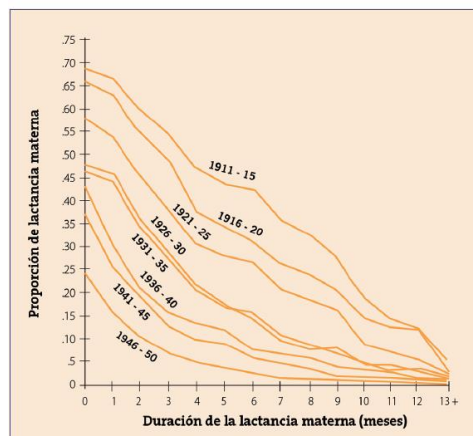



Figura 2: Durada de la lactància materna en l'últim segle Extret de (11)

Per últim, a l'Unió Europea les dones que donen el pit més d'un any als seus nens són menys del 30%, segons estudis realitzats entre l'any 1998 i 2013 (30).

1.7. La llet de fórmula

La LF intenta igualar les propietats de la LM, però la composició no és igual (Figura 1):



FÓRMULA: Agua, Hidratos de carbono, Lactosa, Maltodextrina de maíz. Proteínas: Concentrado de lactoalbúmina parcialmente hidrolizado y con menos minerales (procedente de leche de vaca). Lípidos: Oleína de palma, Aceite de soja, Aceite de coco, Aceite de cártamo alto oleico o aceite de girasol, Aceite de M. alpina (DHA de hongos), Aceite de C.cohnii (AA de algas). Minerales: Citrato de potasio, Fosfato de potasio, Cloruro de calcio, Fosfato tricalcio, Citrato de sodio, Cloruro de magnesio, Sulfato ferroso, Sulfato de zinc, Cloruro de sodio, Sulfato de cobre, Yoduro de potasio, Sulfato de manganeso, Selenato de sodio. Vitaminas: Ascorbato de sodio, Inositol, Bitartrato de Colina, Alfa-tocoferol acetato, Niacinamida, Pantotenato de calcio, Riboflavina, Vitamina A acetato, Clorhidrato de piridoxina, Mononitrato de tiamina, Filoquinona, Biotina, Vitamina D3, Vitamina B12. Enzima: Tripsina. Aminoácidos: Taurina, L-Carnitina (una combinación de dos aminoácidos diferentes). Nucleótidos: Citidina 5', Monofosfato Uridina 5', Monofosfato Disódico Adenosin 5' Monofosfato, Guanosin disódico

Figura 3: Composició de la llet de fórmula. Extret de (28)

Front al caràcter dinàmic de la LM del qual ja s'ha parlat, es troba la LF, la composició de la qual està estandarditzada dins d'uns rangs molts estrets. Però, aquesta composició pot variar lleugerament d'unes marques a altres. Els darrers productes que s'estan addicionant a les LF per a fer-les més similars a la LM són (31, 32):

- Reducció de proteïnes i millora de la seua qualitat
- Addició de greixos de consum diari (colesterol, membrana del glòbul de greix de la llet, omega-3 i omega-6)

- Suplementació amb prebiòtics, probiòtics i sinbiòtics, com galactooligosacàrids (GOS) i fructooligosacàrids (FOS).

1.8.Riscs de no alletar

Ha estat demostrat que la lactància materna protegeix davant diverses malalties. Existeix una disminució del risc a patir determinades patologies, superior a un mínim de 3 mesos, si els infants han estat alletats amb LM amb una durada variable (Taula 1).

TAULA 1. Percentatge de disminució del risc a presentar patologies, segons el tipus de lactància materna. Extret de (11).

Patologia	Porcentaje de disminució de riesgo	Tipo de Lactancia Materna
Gastroenteritis	64	Cualquiera
Infecciones respiratorias altas	63	LME > 6 meses
Infecciones respiratorias bajas	72	LME ≥ 4 meses
	77	LME ≥ 6 meses
Bronquiolitis por VRS	74	> 4 meses
Otitis media aguda	23	Cualquiera
	50	LME ≥ 3 o 6 meses
Otitis media aguda recurrente	77	LME ≥ 6 meses
Dermatitis atópica	27	> 3 meses sin historia familiar
	42	> 3 meses con historia familiar
Asma	26	≥ 3 meses, sin historia familiar de atopía
	40	≥ 3 meses, con historia familiar de atopía
Obesidad	24	Cualquiera
DM tipo 1	30	> 3 meses
DM tipo 2	40	Cualquiera
Leucemia	15-20	> 6 meses
Enterocolitis necrotizante	77	Leche humana exclusiva durante hospitalización en UCI
Enfermedad celíaca	52	> 2 meses, con exposición al gluten durante la LM
Enfermedad inflamatoria intestinal	31	Cualquiera

S'observa, en particular, una disminució del 24% de la possibilitat de patir obesitat amb la LM, sense tindre que ser exclusiva obligatòriament. De fet, el risc a patir sobrepès i obesitat al que fa referència és tant a curt com a llarg termini, és a dir en la primera infància, en els anys següents i ja com adults (28).

2. Objectius

OBJECTIU GENERAL

Existeix una gran evidència científica de la influència de la microbiota en la prevenció de diferents tipus de trastorns. Així doncs, l'objectiu general és conèixer com el tipus d'alimentació durant la primera infància pot determinar la futura microbiota del nadó i quines conseqüències tindrà a la seva salut i, en particular, sobre el seu pes.

S'ha treballat per investigar de quina manera la introducció d'altres elements diferents a la LM condicionen l'existència d'uns microorganismes o d'altres.

OBJECTIUS ESPECÍFICS

- Comparar la diversitat de la microbiota de nens alimentats amb lactància materna, lactància amb llet maternitzada o lactància mixta
- Conèixer si hi ha una relació entre la microbiota i el sobrepès i la obesitat
- Conèixer algunes relacions inhibidores o facilitadores que es produeixen entre bacteris a l'intestí dels infants
- Investigar si existeix una relació entre la presència d'algun gènere o espècie bacteriana i la dieta de l'infant

Les preguntes que s'han investigat són:

- Com afecta la introducció de llet de fórmula a la microbiota intestinal dels nens/es?
- Té alguna relació amb la possibilitat de que l'infant siga obés?

3. Metodologia

L'estratègia a seguir per fer la revisió bibliogràfica ha sigut, en primer lloc, la cerca en buscadors d'articles científics relacionats amb la temàtica del treball. Aquesta recerca s'ha realitzat a partir del cercador de la biblioteca de la UOC i les següents bases de dades:

- ✓ *Pub Med*
- ✓ *Scopus*
- ✓ *ScienceDirect*
- ✓ *Google Academics*
- ✓ *Scimagojr*

I les paraules clau que s'han fet servir són:

- ✓ *Breastfeeding*
- ✓ *Microbiome*
- ✓ *Gut*
- ✓ *Neonatal*
- ✓ *Early infancy*
- ✓ *Infant formula*
- ✓ *Fecal*
- ✓ *Human lactation*
- ✓ *Human milk*
- ✓ *Formula lactation*
- ✓ *Infant obesity*
- ✓ *Microbes*
- ✓ *Microbiota*
- ✓ *Weaning*

Els operadors booleans han estat:

- ✓ *AND*

La llengua vehicular en articles científics és l'anglès, raó per la qual les cerques s'han fet en aquest idioma. Tanmateix, també s'han utilitzat algunes paraules en francès, castellà o català.

Els resultats dels articles en els que s'ha aprofundit sempre s'han referit a humans i no a animals. S'han utilitzat articles publicats des de l'any 1998 fins a l'actualitat, és a dir, un marge de 20 anys de publicacions.

4. Resultats

4.1. Colonització inicial de l'intestí

Durant molts anys s'ha recolzat amplament la idea de que el líquid amniòtic que forma el mig intra-uterí era estèril i, per tant, l'intestí del fetus, banyat en aquest líquid, també seria estèril. Alguns autors afirmen que aquest mig sí que contindria alguns bacteris (33). Mentre que d'altres preconitzen que l'intestí d'un neonat no conté cap microorganisme en el moment previ al naixement (3, 34, 35, 36).

Els colonitzadors inicials de l'intestí dels infants seran bacteris aerobis degut a la gran quantitat d'oxigen present al medi. En particular, la colonització inicial es caracteritza per l'aparició d'*Escherichia coli* i de *Streptococcus* spp. (34). També trobarem altres espècies del grups Enterobacteriaceae, així com Staphylococci i *Enterococcus* spp., molts d'ells amb potencial patogen. Els màxims representants són: *Escherichia coli*, *Enterococcus fecalis* i *Enterococcus faecium*, seguits de *Klebsiella* i *Enterobacter* i, a continuació, per *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *alpha*hemolyticus Streptococci i coagulase negativa Staphylococci. Com a conseqüència del seu metabolisme, l'oxigen s'anirà consumint, raó per la qual començaran a proliferar bacteris anaerobis, dominant *Bifidobacterium*, *Bacteroides* i *Clostridium*, seguits d'espècies de *Veillonella*, *Eubacterium* i *Ruminococcus* (5, 17, 22, 37). Alguns autors han confirmat l'establiment tant de *Bacteroides*, com de *Bifidobacterium* i de *Clostridium* ja al voltant dels dies 4-7 (3). Ha sigut amb la tècnica DGGE que s'ha trobat *Clostridia* spp. aquests primers dies després del naixement (34).

4.2. Els primers mesos

De forma genèrica, es pot afirmar que els bifidobacteris són el grup predominant en mostres fecals d'infants, seguits per *Bacteroides* i Enterobacteria, tant en investigacions més antigues com en estudis més recents que venen a confirmar-ho. Del ordre del 30% al 40% de bifidobacteris es trobaren en mostres fecals de nens de 2 mesos, mentre altres treballs mostren una proporció aproximada del 22% (35). Els bifidobacteris han estat presents en major abundància en les mostres d'infants alletats amb LM de forma exclusiva, comparats amb altres tipus d'alletament (22, 38). En infants de 20 dies, s'han

obtingut xifres del 30-80% de presència de bifidobacteris, sent les més elevades en nens alletats amb LM (35), i un 20-60% de *Bacteroides*, amb les xifres més elevades en nens alimentats amb LF (39). Aquest és un dels resultats que més es repeteix al llarg de tota la investigació: la menor presència de bifidobacteris en infants alimentats amb LF, en algun cas amb LF sense prebiòtics, respecte a aquells alletats amb LM (40).

Aquesta reducció en el nombre de *Bifidobacterium* spp. en infants alimentats amb LF es produeix a favor d'un major nombre d'*Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium coccoïdes* i *Clostridium* spp. (3, 35, 59).

Alguns autors han apreciat majors proporcions de *Lactobacillus* spp. en nens alimentats amb LF (22, 35). Paradoxalment al que s'acaba de comentar respecte als lactobacils, s'ha suggerit que la LM pot ser una font rellevant de lactobacils. I, de fet, alguns estudis informen sobre la seua aparició, ja als 2-3 dies del naixement (34). Alguns autors afirmen que la lactància materna afavoreix una microbiota dominada per *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* (41).

En particular, els infants alletats amb LM van presentar les següents espècies de *Lactobacillus*, en ordre decreixent: *L. acidophilus*, *L. casei* i *L. paracasei*, front als nadons alimentats amb llet de fórmula que van presentar, per ordre decreixent: *L. delbrueckii*, *L. reuteri* i *L. acidophilus* (34).

En general, en nens alletats amb LM, els bacteris més freqüents que apareixen són stafilococs, streptococs, corynebacteris, lactobacils, micrococs, propionibacteris i bifidobacteris, que provindrien del mugró i pell que l'envolta i de les glàndules mamàries, lògicament a més de provindre de la pròpia LM. Mentre que els bacteris que apareixen en els nens alimentats amb LF tindrien com a origen el preparat utilitzat, inclosa l'aigua i els utensilis emprats (3).

No obstant, d'altres estudis es desprèn una conclusió general que crida l'atenció, la de que als pocs dies després del naixement, la microbiota d'un infant alletat amb LM de forma exclusiva i la d'un altre alimentat amb lactància mixta no pareix implicar canvis significants (42).

4.3. Suplementació, deslletament i introducció d'aliments sòlids

A l'inici de la suplementació i deslletament, el nombre de *Bacteroides* i cocs gram positius (peptococci i peptostreptococci) es veu augmentat, i d'altres grups poden

aparèixer: eubacteria, veillonella, staphylococci, propionibacteria, bacilli, fusobacteria i fongs (3). Pot afirmar-se que, a l'edat de 4 mesos, infants alimentats amb LF tenen una microbiota que pareix més pròpia de nens més majors si comparem amb els nens de 4 mesos que encara són alletats de forma exclusiva amb LM (42). La suplementació de les LF amb GOS i FOS dona com a resultat mostres fecals amb més bifidobacteris i lactobacils si comparem amb aquelles de LF sense suplementar (22).

La introducció d'aliments sòlids en la dieta del infant implica un increment de la diversitat microbiana. La disminució d'espècies de les famílies de Lactobacillaceae, Bifidobacteriaceae, Enterococcaceae, Enterobacteriaceae i Clostridiaceae aniria a favor de l'augment de la presència d'espècies de les famílies Lachnospiraceae, Bacteroidaceae i Ruminococcaceae (43). Aquest canvi, que normalment es produeix als 6 mesos d'edat, provocarà la redefinició de les comunitats microbianes existents, fent-les més paregudes a aquelles dels infants alimentats amb LF, nens de dos anys d'edat i inclús dels adults. Segons altres autors, augmentaran els bacteris anaerobis obligats en nombre i diversitat, amb un increment significatiu particular d'Enterococci i Enterobacteria i amb l'aparició, o continuïtat si ja hi estiguessin presents, de Bacteroides, Clostridia i Streptococci (3, 37).

4.4. Estabilitat i diversitat de la microbiota

En general, pot afirmar-se que els nens alletats amb LM han presentat una població més estable i uniforme, si comparem amb aquells alimentats amb LF (44). Respecte a la diversitat, alguns autors afirmen que l'alletament amb LM implicaria una microbiota menys diversa, la qual cosa es identificada per aquests com a probablement beneficiosa per a la salut de l'infant (43, 44). Tanmateix, d'altres afirmen que “les mostres de llet materna eren més heterogènies que aquelles de llet de fórmula i contien una diversitat taxonòmica major”, la qual cosa “confirma el benefici recolzat popularment de la lactància materna”, i aquestes afirmacions es basarien en la major estabilitat del sistema que en ecologia es pressuposa a les comunitats més diverses (5). De la mateixa manera, nens alimentats mitjançant lactància mixta van presentar major diversitat microbiana que aquells alimentats amb lactància materna exclusiva. Ara bé, la substitució de la LF per aliments sòlids, com ara la carn, formatge i el pa de sègol encara incrementaria més la diversitat de la microbiota intestinal (43).

Els infants alletats amb LM han mostrat, si més no, tenir una microbiota més estable i simple. Per contra, la microbiota dels nens alimentats amb LF pareix més diversa però menys estable, contenint menys bifidobacteris, lactobacils i stafilococs, a favor de més Bacteroides, enterococs, streptococs i membres del grup dels enterobacteris i del gènere Clostridia (45).

4.5.Comparativa general: llet materna vs llet de fórmula

Com s'aprecia a la taula 2, segons diversos estudis realitzats durant dues dècades amb una població d'infants d'edat igual o superior a quatre setmanes, els bifidobacteris són el gènere més representat a la microbiota infantil, com ja s'ha comentat abans (35), amb el matis de que açò esdevé bé siguin infants alletats amb LM o bé amb LF (3, 35, 39, 46). Així doncs, són nombrosos els estudis que indiquen que no hi ha diferències significatives entre nens i nenes alimentats amb LM i LF pel que fa a la colonització predominant per bifidobacteris, que pareix més que evident (3, 35, 46). Alguns autors afirmen que la lactància mixta continuaria afavorint la presència dels bifidobacteris a la microbiota intestinal dels infants (35). Ara bé, l'intestí prim de nens alimentats exclusivament amb LM en conté en més quantitat que en aquells alimentats amb LF (47). Concretament, el nombre de bifidobacteris que conformen la microbiota intestinal en nens alimentats amb LM es multiplica més de dues vegades, si la comparem amb la de nenes i nens alimentats amb LF (44, 47, 48).

TAULA 2: Resultats quantitatius de diversos estudis de la microbiota infantil comparant les situacions d'alimentació basada en llet materna, en llet de fórmula o lactància mixta (elaboració pròpia).

Referència	Mostra*	Tècnica	Resultats		
			Lactància Materna	Lactància de Fórmula	Lactància Mixta
(44)	12 infants de 11 a 22 dies d'edat	FISH de mostres fecals	69.12% <i>Bifidobacterium</i> 12.06% <i>Bacteroides</i> sp. i <i>Prevotella</i> sp. 2.97% <i>E. coli</i> 1.08% <i>Atopobium</i> 0,65% <i>Lactobacillus</i> i <i>Enterococcus</i> 0.11% <i>Staphylococcus</i> 0.08% <i>Streptococcus</i>	32.07% <i>Bifidobacterium</i> 28.86% <i>Bacteroides</i> sp. i <i>Prevotella</i> sp. 3.02% <i>E. coli</i> 5.80% <i>Atopobium</i> 0.13% <i>Lactobacillus</i> i <i>Enterococcus</i> 0.42% <i>Staphylococcus</i> 0.47% <i>Streptococcus</i> 0.82% <i>Veillonella</i> 0.34% <i>Clostridium histolyticum</i> i <i>Clostridium lituseburense</i> 0.90% <i>Clostridium coccoides</i>	
(35)	606 infants d'edat 6 setmanes	FISH i citometria de fluxe de mostres fecals	44.8% <i>Bifidobacterium</i> 8.8% <i>Bacteroides</i> 3.7% <i>Clostridium coccoides</i> 24.3% <i>Clostridium perfringens</i> 0.9% <i>Lactobacillus</i>	29.9% <i>Bifidobacterium</i> 15.9% <i>Bacteroides</i> 6.9% <i>Clostridium coccoides</i> 4.6% <i>Clostridium perfringens</i> 1.9% <i>Lactobacillus</i>	40.9% <i>Bifidobacterium</i> 13.8% <i>Bacteroides</i>
(38)	102 infants de sis setmanes	Seqüenciació d'ARN ribosòmic 16S	25.5% <i>Bifidobacterium</i> 27.9% <i>Bacteroides</i> 3.4% <i>Lactobacillus</i> 11.7% <i>Streptococcus</i> 3.3% <i>Staphylococcus</i> 6.8% <i>Clostridium</i> 4.8% <i>Enterococcus</i> 3.5% <i>Veillonella</i> 1.8% <i>Blautia</i> 1.5% <i>Planococcus</i> 9.8% Altres gèneres	11.4% <i>Bifidobacterium</i> 28.8% <i>Bacteroides</i> 0% <i>Lactobacillus</i> 16.9% <i>Streptococcus</i> 0.1% <i>Staphylococcus</i> 2.4% <i>Clostridium</i> 14.6% <i>Enterococcus</i> 2.9% <i>Veillonella</i> 9.4% <i>Blautia</i> 2.6% <i>Planococcus</i> 10.9% Altres gèneres	16.8% <i>Bifidobacterium</i> 22.1% <i>Bacteroides</i> 2.8% <i>Lactobacillus</i> 18.7% <i>Streptococcus</i> 1.2% <i>Staphylococcus</i> 11.9% <i>Clostridium</i> 6.1% <i>Enterococcus</i> 3.2% <i>Veillonella</i> 7.1% <i>Blautia</i> 3.3% <i>Planococcus</i> 6.8% Altres gèneres
(49)	120 infants de 7 a 90 dies	PCR	8.17 log copies/g <i>Bifidobacterium</i> 6.90 log copies/g <i>Lactobacillus</i> 4.80 log copies/g <i>Clostridium perfringens</i>	6.94 log copies/g <i>Bifidobacterium</i> 6.66 log copies/g <i>Lactobacillus</i> 4.65 log copies/g <i>Clostridium perfringens</i>	

* Tots a terme i amb part vaginal

D'una altra banda, i ja més específicament, l'espècie *Bifidobacterium infantis* sembla típica de nens i nenes alletats amb LM, mentre que *Bifidobacterium fragilis* ho és d'aquells alimentats amb LF (3, 22).

A més, els infants alimentats amb LF de forma exclusiva són més freqüentment colonitzats amb *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides* spp. i lactobacils, si comparem amb aquells alletats amb LM (22).

Les nenes i nens alimentats amb LF, no exclusiva, presenten majors quantitats d'espècies de *Clostridium*, de *Streptococcus*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Veillonella parvula*, *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (3, 22, 35, 37, 44, 50), *Enterococcus faecalis* (33, 37) i *Atopobium* (44). Mentre que *Lactobacillus rhamnosus* i *Staphylococci* prevaleixen en infants alletats amb LM (37).

Es mostren diferències substancials entre la microbiota d'infants de 4 mesos alletats de forma exclusiva amb LM i aquella de nens i nenes alimentats exclusivament amb LF. Els primers tenen elevades quantitats de *Lactobacillus johnsoni*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei* i *Bifidobacterium longum*, que actuarien a mode de probiòtics. Mentre que el grup de nens alimentats amb LFE presenten valors elevats de *Clostridium difficile*, *Granulicatella adiacens*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter cloacae* i *Bilophila wadsworthia* (42).

El gènere *Ruminococcus* ha aparegut en les mostres fecals d'infants alletats amb LM i es valora la possibilitat que estigui tan estès a la microbiota intestinal dels infants com ho estan els bifidobacteris (34).

En d'altres estudis, s'ha detectat la presència de bacteris del gènere *Desulfovibrio* sobretot en nenes i nens alletats amb LF (51). Aquests bacteris estan relacionats amb la malalties inflamatòries intestinals. És un gènere difícil de determinar i sovint oblidat al recompte de bacteris intestinals al estudis.

També ha pogut detectar-se una presència important de bacteris del grup *Coriobacterium* (*Colinsella* i *Atopobium*) en les mostres d'infants alimentats amb LF, mentre que en aquells alletats amb LM les quantitats eren menyspreables (44).

Basant-se en tot allò, s'ha realitzat una taula en la que apareix un llistat de bacteris que s'ha relacionat amb un tipus o amb un altre d'alimentació, raó per la qual podrien fer-se servir com a indicadors de l'alimentació dels infants (Taula 3).

TAULA 3. Espècies característiques d'un tipus o altre d'alimentació en infants (elaboració pròpia).

Font	Lactància Materna	Lactància de Fórmula	Lactància Mixta
(3, 22)	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Bifidobacterium fragilis</i>	
(37)	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Staphylococcus spp.</i>		
(3, 22, 33, 35, 37, 44, 50)			<i>Clostridium spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacteroides vulgatus</i> <i>Veillonella parvula</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Atopobium spp.</i>
(22)		<i>Escherichia coli</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Bacteroides spp.</i> <i>Lactobacillus spp.</i>	
(34)	<i>Ruminococcus spp.</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus reuteri</i>	
(51)		<i>Desulfovibrio spp.</i>	
(44)		<i>Colinsella spp.</i> <i>Atopobium spp.</i>	
(42)	<i>Lactobacillus johnson</i> <i>Lactobacillus gasseri</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Clostridium difficile</i> <i>Granulicatella adiacens</i> <i>Citrobacter spp.</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Bilophila wadsworthia</i>	

Cal matisar que la detecció d'algun d'aquests bacteris a les mostres d'un infant en cap moment determina quina és la seua alimentació, més bé suposa una informació complementària. S'hauria d'aprofundir més i no valorar aquest indicador com a únic paràmetre informatiu.

4.6.El resultat de la suplementació i l'abandó de la lactància materna sobre la microbiota

Un assumpte decisiu és que la suplementació de la LM amb menudes quantitats de LF, que és un hàbit més que comú a la nostra societat, té una repercussió molt important a la microbiota dels infants: tan sols amb una petita suplementació amb LF, la microbiota normal d'un xiquet alletat amb LM canviarà al patró de la microbiota d'un infant alimentat exclusivament amb LF i serà substancialment diferent a aquella d'un nen alletat exclusivament amb LM (3, 10, 38). Aquest canvi es produiria de manera relativament ràpida fins assolir un patró més propi d'un nen que s'alimenta a base LF

(52). Ara bé, una dieta basada en la LM és selectiva per a un conjunt molt específic d'espècies bacterianes, de manera que “és el cessament de la lactància materna, més que la introducció d'altres aliments, allò que permet que la comunitat canviï totalment” (21). Resultats en l'experimentació amb 98 nens i nenes de diverses edats, iguals o menors als 12 mesos, indiquen que als intestins d'aquells que ja no prenen LM apareixen espècies del grup Clostridia, prevalents als adults, com són: *Roseburia*, *Clostridium* i *Anaeorstipes*, i aquesta microbiota també s'enriqueix en *Bacteroides* i *Bilophila*. Per contra, *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* continuen dominant la microbiota de nenes i nens que encara son alletats amb LM amb 12 mesos, apareguin sovint acompanyats de *Colinsella*, *Megasphaera* i *Veillonella*. Aquestos resultats suggereixen que és, per tant, l'abandó de la lactància materna, em comptes de la introducció d'aliments sòlids, allò que ocasiona que la microbiota intestinal dels infants canviï dràsticament i es desenvolupi cap a la d'un adult (42). D'altres autors no donen més pes a l'abandó de la lactància materna, si no que l'equiparen a la introducció de nous aliments amb elevat contingut proteic i de fibra (43).

4.7. Microbiota i obesitat

L'alimentació amb LF està relacionada amb un major risc de sobrepès i obesitat a curt i llarg termini. Hi ha diversos factors que ho expliquen: en primer lloc, que els nadons que prenen biberó no tenen la capacitat de regular la ingesta, la qual cosa aniria requerint més volum a l'estómac de l'infant i un augment en la ingesta calòrica, i, en segon lloc, la quantitat de sucres presents a les LF, que també explicarien este fet (11).

Els nens i nenes alletats amb LM són més prims que aquells alimentats amb LF i mostren menor incidència d'obesitat, diabetis i malalties inflamatòries (53).

La connexió entre lactància materna i baix risc d'obesitat infantil i adulta, deguda en part a la microbiota de les etapes inicials de vida dels infants, ha estat ben demostrada (54). Particularment, nivells baixos de bifidobacteris en la infància s'han relacionat a un increment del risc de sobrepès amb 10 anys (38). De fet, en una altra investigació, nens de 7 anys amb obesitat presentaren menys quantitat de bifidobacteris, però també una major presència de stafilococs (55).

Que els infants alimentats amb LF tenen majors nivells de *Bacteroides* també pareix un fet. Les conseqüències que això té des del punt de vista de l'obesitat són que el metabolisme de *Bacteroides* incrementa les quantitats i tipus de lipopolisacàrids i també

d'altres productes resultat de la seua degradació que afavoririen la presència d'Enterobacteris, bacteris potencialment patògens. L'efecte creuat d'ambdues conseqüències produiria inflamació intestinal (56). I tant l'obesitat com la resistència a la insulina van sovint acompanyades d'aquest tipus de inflamació. A més, atès que els marcadors de superfícies bacterianes específiques estan implicats en la regulació de la inflamació, la diferència entre uns bacteris o altres podria predisposar a aquesta (41).

Un altre aspecte que s'ha proposat és que la obesitat en adults podria estar relacionada amb la capacitat de la microbiota per a recollir energia mitjançant el catabolisme de polisacàrids indigestibles (41).

5. Discussió

Una de les principals diferències entre la LM i la LF és que la composició i concentració de nutrients d'aquesta última són fixes, no existint cap adaptació per exemple entre el període de lactància (edat del nen) o la dieta de la mare i la llet subministrada. La LF no té eixe caràcter dinàmic de la LM. I tant decisiu, o més, és el fet de que a la LF hi ha una mancança de factors de creixement, citoquinines, immunoglobulines i enzims digestius (29, 57).

Diversos estudis indiquen que una part de la microbiota intestinal adquirida en les primeres etapes de la infància es convertirà en la microbiota del futur adult (45). És per això que qualsevol factor que pugui afectar la microbiota, com per exemple el tipus de lactància, és de gran importància. A través del tipus d'alimentació es produeix una acció selectiva sobre la colonització i creixement de la comunitat bacteriana (10).

L'augment de la diversitat microbiana és un aspecte que genera contradiccions. La majoria d'estudis afirmen que la microbiota de les nenes i nens alimentats amb LF seria més diversa, ara bé, menys estable. El deslletament i la introducció d'aliments sòlids incrementaria l'augment de la diversitat, que inclouria la consolidació dels gèneres *Bacteroides* i *Clostridium* (55). I, de fet, pareix evident que és l'abandó de la lactància materna, el deslletament, més que la pròpia introducció d'altres llets i aliments, el punt a partir del qual la microbiota del nen aniria convertint-se en una microbiota molt més similar a la d'un adult. Aquest increment de diversitat es pot considerar natural, però és necessari abordar la qüestió sobre quan i amb quina velocitat seria desitjable que es produís aquest canvi, la qual cosa implicaria l'abandó de la lactància materna.

Els bifidobacteris, que són el gènere més representat a la microbiota infantil, desbloquegen una font de carboni fonamental i faciliten un treball metabòlic complet que condueix al desenvolupament adaptatiu de la microbiota infantil (56). Els bifidobacteris, tot i que estan presents als tres tipus de microbiotes (la d'infants alletats amb LM, la d'infants alimentats amb LF i la d'aquells que són alimentats de forma mixta), demostren ser característics, pel seu nombre elevat, de la lactància materna, excepte a les investigacions de Liu on l'explicació podria tindre a veure amb la tècnica emprada (PCR). L'ampla presència de bifidobacteris és deguda probablement a una

varietat de factors presents a la LM com ara els HMOs, la lactoferrina i els nivells baixos de ferro.

Els HMOs afavoririen l'establiment d'aquesta ampla comunitat de bifidobacteris, així com els propis bacteris i els productes resultat del seu metabolisme exercirien una activació o inhibició d'altres espècies, el seu efecte prebiòtic, que d'alguna manera també pot aconseguir-se parcialment de forma artificial en algunes LF o suplementes.

Quadren les conclusions de diversos treballs (3, 39, 35, 46) sobre l'aspecte de que, no només sent nens alletats amb lactància materna exclusiva o bé amb lactància de fórmula exclusiva, si no també en el model mixte es continuaria afavorint la presència dels bifidobacteris.

En general, la reducció o absència de Bifidobacteris normalment juga a favor d'una major presència de *Bacteroides*, *Clostridia* i *E. coli*. De fet, els nens alletats amb LM tenen menys enterobacteris i streptococs (3).

L'aparició de *Clostridium* als pocs dies del naixement, que és una dada certament cridanera, s'explicaria amb que l'ambient ja és suficientment anaeròbic per a permetre el seu creixement, tot i que les conclusions no poden extraure's amb certesa degut a que aquest estudi es va fer en una mostra molt menuda d'infants (34).

Bifidobacterium, al igual que *Lactobacillus*, que són poblacions de bacteris més presents als intestins de nens i nenes alletats amb LM, es consideren bacteris beneficiosos per a la seua salut. L'altra cara de la moneda és que hi trobem menys poblacions amb potencial patogen, com ara *Clostridium* i enterobacteris, en aquests intestins (36).

Lactobacillus pareix contribuir a la microbiota del mig intestinal, encara que en menor mesura que *Bifidobacteria*, *Bacteroides* i *Streptococcus* (38). No es poden obtenir conclusions general sobre el gènere *Lactobacillus* respecte a la seua relació amb l'alimentació dels infants estudiats. Tanmateix, sí que existeixen algunes espècies del gènere que es poden fer servir com a indicadors, com es comentava a l'apartat de resultats.

Troblem que els valors *Clostridium perfringens* en algun cas apareixen majors en nenes i nens alimentats amb LM respecte de nens alletats amb LF. S'ha de dir que la detecció de bacteris anaerobis és un procés certament complicat i, si es realitza mitjançant la tècnica PCR, com és el cas, aquesta té una sèrie de limitacions com la manca de sensibilitat, el baix nivell de reproduïbilitat degut a l'elevat nombre d'espècies a

identificar i quantificar i l'aspecte relacionat amb el consum de temps típic dels mètodes convencionals. Això podria explicar el per què les dades no quadren. Si atenem a la majoria de resultats, el gènere *Clostridium* apareix molt més en infants alimentats amb LF. El mateix ocorre en aquest estudi amb el valor de bifidobacteris, que també apareix major en nadons alimentats amb LF, la qual cosa no és la conclusió general.

No es pot oblidar l'efecte inhibidor/afavoridor que algunes espècies tenen sobre altres. Per exemple el cas de les espècies de *Ruminococcus*, que tenen un efecte protector en l'infant degut a que, a través de la producció de ruminococcina A, inhibeixen a les espècies de *Clostridium* (34). Això podria explicar l'absència o baixos nivells de *Clostridium* en la microbiota d'infants alimentats amb LM, respecte d'aquells alimentats amb LF on apareixen amb més freqüència i més quantitat. Un altre cas seria el de la inhibició que produeix, respecte a altres microorganismes, la presència primerenca de *Bifidobacterium* a l'intestí com a gran consumidor d'HMOs de la LM, de manera que ja no estaria disponible per a aquells altres microorganismes (58).

Avui en dia ja són nombroses les llets de fórmula que es suplementen amb prebiòtics, com els GOS i FOS, que incrementen la representació de bifidobacteris als intestins dels infants (38).

És important donar-li el paper d'indicador a alguns bacteris, com per exemple *Bifidobacterium fragilis*, *Clostridium coccoïdes*, *Desulfovibrio* spp., *Colinsella* spp. i *Atopobium* spp., que serien indicadors potencials d'una microbiota d'infant alimentat amb LF (Taula 3).

Pel que fa a l'obesitat, la relació entre microbiota i obesitat infantil passa freqüentment per l'establiment del següent fenomen causa-efecte que s'ha vingut suggerint, el del vincle entre la dieta, la microbiota intestinal infantil, el desenvolupament de l'obesitat i les vies inflamatòries. Pel que hem pogut discernir d'allò investigat respecte a la taxonomia de la microbiota infantil, podem dir que una microbiota rica en bifidobacteris és més pròpia d'un infant alletat amb LM i serà, molt probablement, una microbiota pobra en *Bacteroides*. A la inversa, a la microbiota d'un nen alimentat amb LF, sense suplementes, el domini de *Bacteroides* serà major. El metabolisme de *Bacteroides* pareix estar lligat a la possible inflamació intestinal, que, a la seua vegada, també està relacionada amb problemes de sobrepès.

6. Aplicabilitat i noves línies de recerca

La LM és l'aliment dissenyat per la natura per als nadons. Els beneficis de l'alletament no són sols nutricionals, emocionals i per a l'infant i la mare, si no que també ho són per al conjunt de la societat. Reemplaçar la LM per LF és, de vegades, inevitable, però tindrà uns riscos. Si tenim en compte que la LM s'adapta al nen que està sent alletat, és difícil poder pensar en una única fórmula perfecta de llet artificial que sigui la millor. No només pel que fa respecte a l'obesitat, que és, sense cap dubte, un dels majors problemes de salut en el món actual i que està incrementant-se ràpidament, si no també per millorar l'estat de salut en general dels infants i futurs adults, la solució passa, d'una banda, per millorar les LF i fer-les el més similars a la LM, però sobretot és crucial ajudar a les mares a que puguin alletar als seus infants, que, freqüentment, abandonen la lactància materna per desconeixement, falta de suport i incorporació al treball.

A continuació s'exposa un pòster que s'ha fet per a informar sobre l'efecte de la lactància materna en la microbiota dels nadons. Podria ser un pòster d'una sèrie de pamflets divulgatius que fera accessible a les mares la informació sobre els beneficis de l'alletament.



Cal dir que el fet de que l'alimentació de l'infant no siga l'únic factor que té influència en la seua microbiota intestinal, tant en la colonització inicial com en les diferents fases per les que passa, limita les conclusions que es poden extraure. Així doncs, mai s'ha d'oblidar que la microbiota de l'intestí d'un nen és el resultat de nombrosos factors que s'haurien d'estudiar sempre de forma integrada, però el nombre d'aquests factors és tan elevats i la tipologia tan diversa que un estudi integrat, tot i ser desitjable, seria francament complicat i llarg de fer. Nombrosos estudis s'ocupen dels factors alimentació i tipus de part com a factors dominants, ara bé hi ha molts més.

Per una altra banda, el nombre de sujects dels estudis hauria de ser gran. En aquest TFM s'ha procurat utilitzar estudis on la població era ja significativa. Tanmateix, hi ha moltes investigacions fetes a partir d'una mostra molt petita, quan el que és necessari és que els estudis parteixin d'una mostra estandaritzada i multipoblacional per a ser rigurosos. A més a més, també seria desitjable més estudis sobre la maduració de la microbiota conforme el nen va fent-se gran i inclús en d'adultesa.

7. Conclusions

La LM es caracteritza perquè s'adapta al moment de la lactància, raó per la qual la seva composició no és fixa si no adaptada a les necessitats de l'infant al llarg del temps, i també perquè conté HMOs i components immunològics diversos. No obstant això, en l'actualitat la prevalència de la lactància materna no és l'òptima. I això tindrà efectes sobre la microbiota dels infants.

Ha quedat demostrat que l'ús de LF, tot i que estan fent-se millores en la seva qualitat, canvia la microbiota intestinal infantil:

- ✓ El nombre de bifidobacteris, considerats microbis beneficiosos, en nens i nenes alimentats amb LF és més de dues vegades menor que en nenes i nens alletats amb LM.
 - ✓ El nombre de bacteris potencialment patògens, com *Bacteroides*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* i *Staphylococcus* augmenta significativament.
 - ✓ No queda clar si la LF afavoreix o inhibeix la presència de lactobacils a la microbiota infantil.
-

En particular, els nadons nascuts a terme, vaginalment i alletats amb lactància materna exclusiva mostren la microbiota intestinal més beneficiosa, és a dir, un gran nombre de bifidobacteris i un menut nombre de *Clostridium difficile* i *Escherichia coli*.

Alguns bacteris poden fer-se servir com a indicadors parcials de quina és l'alimentació que està tenint un nadó.

La lactància mixta és molt comú a la nostra societat. Una altra de les conclusions que s'extrauen és que la microbiota d'un nen alletat amb LM i suplementat amb LF s'aproximarà significativament a la microbiota d'un nen alimentat amb LF de forma exclusiva, que pareix ser més diversa i menys estable.

Per últim, nivells baixos de *Bifidobacterium* i nivells alts de *Bacteroides* i *Staphylococcus* són indicatius d'obesitat.

8. Bibliografia

1. Section on Breastfeeding AAP. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*, 2012; 129(3):e827-41
2. WHO. *Infant and young child nutrition*: Geneva (Switzerland): WHO; 2003
3. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *The American journal of clinical nutrition*. 1999;69(5):1035s–1045s
4. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of Breast and Formula Feeding on Gut Microbiota Shaping in Newborns. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2012
5. Pop M. We are what we eat: how the diet of infants affects their gut microbiome. *Genome biology*. 2012;13(4):152
6. Bjorksten B. Evidence of probiotics in prevention of allergy and asthma. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*. 2005;4(5):599–604
7. Kramer, M. S. (2011). Breastfeeding and allergy: the evi-dence. *Ann. Nutr. Metab.* 59, 20–26
8. Akobeng, A. K., Ramanan, A. V., Buchan, I., and Heller, R. F. (2006). Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch. Dis. Child.* 91, 39–43
9. Palma, G. D., Capilla, A., Nova, E., Castillejo, G., Varea, V., Pozo, T., et al. (2012). Influence of milk-feeding type and genetic risk of developing coeliac disease on intestinal microbiota of infants: the PROFICEL study. *PLoS ONE* 7, e30791. doi: 10.1371/journal.pone.0030791
10. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of Breast and Formula Feeding on Gut Microbiota Shaping in Newborns. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2012
11. Brahm P, Valdés V. Beneficios de la lactancia materna y riesgos de no amamantar. *Revista chilena de pediatría*. 2017;88(1):07-14
12. Anderson JW, Johnstone BM, Remley DT. Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis–. *The American journal of clinical nutrition*. 1999;70(4):525–535

13. Boucher O, Julvez J, Guxens M, Arranz E, Ibarluzea J, Sánchez de Miguel M, et al. Association between breastfeeding duration and cognitive development, autistic traits and ADHD symptoms: a multicenter study in Spain. *Pediatric Research*. marzo de 2017;81(3):434-42
14. Gibbs BG, Forste R, Lybbert E. Breastfeeding, Parenting, and Infant Attachment Behaviors. *Maternal and Child Health Journal*. abril de 2018;22(4):579-88
15. Buffie, C. G. & Pamer, E. G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 13, 790–801 (2013)
16. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308: 1635_8
17. Vael, C., and Desager, K. (2009). The importance of the development of the intestinal microbiota in infancy. *Curr. Opin. Pediatr.* 21, 794–800
18. Hayashi, H., Sakamoto, M., and Benno, Y. (2002). Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaero-bic culture-based methods. *Microbiol. Immunol.* 46, 535–548
19. Zoetendal, E. G., Rajilic-Stojanovic, M., and de Vos, W. M. (2008). High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut* 57, 1605–1615
20. 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
21. Lewis ZT, Mills DA. Differential establishment of bifidobacteria in the breastfed infant gut. En: *Intestinal Microbiome: Functional Aspects in Health and Disease*. Karger Publishers; 2017. p. 149–160
22. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *PEDIATRICS*. 1 de agosto de 2006;118(2):511-21
23. Ballard O, Morrow AL. Human Milk Composition. *Pediatric Clinics of North America*. febrero de 2013;60(1):49-74
24. Chu DM, Antony KM, Ma J, Prince AL, Showalter L, Moller M, et al. The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet. *Genome Medicine [Internet]*. 2016;8(1)

25. Valentine CJ, Morrow G, Fernandez S, et al. Docosaehaenoic acid and amino acid contents in pasteurized donor milk are low for preterm infants. *J Pediatr* 2010; 157(6):906–10
26. Rogier EW, Frantz AL, Bruno ME, Wedlund L, Cohen DA, Stromberg AJ, et al. Secretory antibodies in breast milk promote long-term intestinal homeostasis by regulating the gut microbiota and host gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(8):3074–3079
27. Bode L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology*. 1 de septiembre de 2012;22(9):1147-62
28. Calvillo A., Cabada X., García K. La alimentación industrializada del lactante y el niño pequeño. www.elpoderdelconsumidor.org.mx. 2013
29. Le Huerou-Luron I, Blat S, Boudry G. 2010. Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutr. Res. Rev.* 23:23–36
30. Bagci Bosi AT, Eriksen KG, Sobko T, Wijnhoven TM, Breda J. Breastfeeding practices and policies in WHO European Region Member States. *Public Health Nutrition*. marzo de 2016;19(04):753-6
31. Puccio G, Alliet P, Cajozzo C, Janssens E, Corsello G, Wernimont S, Egli D, Gosoni L, Sprenger N, Steenhout P: Effects of infant formula with human milk oligosaccharides on growth and morbidity: a randomized multicenter trial. *JPGN*, in press
32. Lemaire M, Le Huërou-Luron I, Blat S. Effects of infant formula composition on long-term metabolic health. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 5 de febrero de 2018;1-17
33. Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol*. 2008;159:187–93
34. Morelli L. Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *The Journal of nutrition*. 2008;138(9):1791S–1795S
35. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amarri S, Adam R, et al. Intestinal Microbiota of 6-week-old Infants Across Europe: Geographic Influence Beyond Delivery Mode, Breast-feeding, and Antibiotics: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. julio de 2010;51(1):77-84

36. Jost T, Lacroix C, Braegger CP, Chassard C. New Insights in Gut Microbiota Establishment in Healthy Breast Fed Neonates. Ravel J, editor. PLoS ONE. 30 de agosto de 2012;7(8):e44595
37. Adlerberth, I., and Wold, A. E. (2009). Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr.* 98, 229–238
38. Madan JC, Hoen AG, Lundgren SN, Farzan SF, Cottingham KL, Morrison HG, et al. Association of Cesarean Delivery and Formula Supplementation With the Intestinal Microbiome of 6-Week-Old Infants. *JAMA Pediatrics.* 1 de marzo de 2016;170(3):212
39. Harmsen, H. J. M., A. C. M. Wildeboer-Veloo, G. C. Raangs, A. A. Wagendorp, N. Klein, J. G. Bondels, and G. W. Welling. 2000. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30:61– 67
40. Haarman M, Knol J. Quantitative Real-Time PCR Assays To Identify and Quantify Fecal Bifidobacterium Species in Infants Receiving a Prebiotic Infant Formula. *Applied and Environmental Microbiology.* 1 de mayo de 2005;71(5):2318-24
41. Bergstrom A, Skov TH, Bahl MI, Roager HM, Christensen LB, Ejlerskov KT, et al. Establishment of Intestinal Microbiota during Early Life: a Longitudinal, Explorative Study of a Large Cohort of Danish Infants. *Applied and Environmental Microbiology.* 1 de mayo de 2014;80(9):2889-900
42. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host & Microbe.* mayo de 2015;17(5):690-703
43. Laursen MF, Bahl MI, Michaelsen KF, Licht TR. First Foods and Gut Microbes. *Frontiers in Microbiology [Internet].* 6 de marzo de 2017 [citado 21 de junio de 2018];8.
44. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe.* diciembre de 2011;17(6):478-82
45. Jost T, Lacroix C, Braegger C, Chassard C. Impact of human milk bacteria and oligosaccharides on neonatal gut microbiota establishment and gut health. *Nutrition Reviews.* julio de 2015;73(7):426-37
46. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. 2003. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr. Suppl.* 91:48–55

47. Cornelia Liepke, Knut Adermann, Manfred Raida, Hans-Jurgen Magert, Wolf-Georg Forssmann and Hans-Dieter Zucht 2002. Human milk provides peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria. *Eur. J. Biochem.* 269, 712-718
48. Edwards CA. Determinants and Duration of Impact of Early Gut Bacterial Colonization. *Annals of Nutrition and Metabolism.* 2017;70(3):246-50
49. Liu Z, Roy NC, Guo Y, Jia H, Ryan L, Samuelsson L, et al. Human Breast Milk and Infant Formulas Differentially Modify the Intestinal Microbiota in Human Infants and Host Physiology in Rats. *The Journal of Nutrition.* 1 de febrero de 2016;146(2):191-9
50. Benno, Y., K. Sawada, and T. Mitsuoka. 1984. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Microbiol. Immunol.* 28:975–986
51. Hopkins MJ, Macfarlane GT, Furrer E, Fite A, Macfarlane S. Characterisation of intestinal bacteria in infant stools using real-time PCR and northern hybridisation analyses. *FEMS Microbiology Ecology.* septiembre de 2005;54(1):77-85
52. Favier CF, Vaughan EE, De Vos WM, Akkermans ADL. Molecular Monitoring of Succession of Bacterial Communities in Human Neonates. *Applied and Environmental Microbiology.* 1 de enero de 2002;68(1):219-26
53. Christopher G Owen, Richard M Martin, Peter H Whincup, George Davey-Smith, Matthew W Gillman, and Derek G Cook, 2005. The effect of breastfeeding on mean body mass index throughout life: a quantitative review of published and unpublished observational evidence. *Am J Clin Nutr* 2005;82:1298 –307
54. Thompson AL. Developmental origins of obesity: Early feeding environments, infant growth, and the intestinal microbiome. *American Journal of Human Biology.* mayo de 2012;24(3):350-60
55. Rodriguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, Avershina E, Rudi K, Narbad A, Jenmalm MC, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis.* 2015;26:2605
56. Lewis ZT, Davis JCC, Smilowitz JT, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. The impact of freeze-drying infant fecal samples on measures of their bacterial community profiles and milk-derived oligosaccharide content. *PeerJ.* 21 de enero de 2016;4:e1612

57. Roncada, P., Piras, C., Soggiu, A., Turk, R., Urbani, A., and Bonizzi, L. (2012). Farm animal milk proteomics. *J. Proteomics* 75, 4259–4274
58. Sprockett D, Fukami T, Relman DA. Role of priority effects in the early-life assembly of the gut microbiota. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 24 de enero de 2018;15(4):197-205
59. Tannock G.W. (1999). The normal microflora: an introduction. In: Tannock G.W. (eds) *Medical Importance of the Normal Microflora*. Springer, Boston, MA. ISBN 978-1-4757-3021-0

-