

Je mateřské mléko pro novorozence zdrojem prebiotik a probiotik?

Ing. Šárka Musilová, Ph.D., Ing. Věra Bunešová, Ph.D., prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze

Mateřské mléko bylo považováno za sterilní. Avšak nedávné studie ukázaly, že obsahuje velké množství bakterií, z nichž některé by mohly sloužit jako první probiotikum pro novorozence. K dispozici jsou dvě hypotézy, jak se bakterie dostávají do prsní žlázy: kontaminace a/nebo aktivní migrace. Lepší pochopení, jak vzniká mikrobiota mateřského mléka a zda má nějakou potenciální úlohu, by mělo být předmětem budoucího zkoumání.

Klíčová slova: probiotika, mikrobiota mateřského mléka, bakteriální diverzita, kontaminace, aktivní migrace.

Human milk is a source of prebiotics or also probiotics for babies?

Human milk has been considered sterile. However, recent studies have shown that it contains a lot of bacteria, which some of them could be first probiotics for newborns. There are two hypotheses how bacteria can reach the mammary gland: contamination and/or active migration. Better understanding microbiota of human milk, its creation and its potential role should be aim of future investigation.

Key words: probiotics, microbiota of human milk, bacterial diversity, contamination, active migration.

Úvod

Za nejlepší výživu pro kojence z hlediska jeho růstu a zdravého vývoje je považováno mateřské mléko. Kojení přispívá k ochraně před gastrointestinálními infekcemi (1–4), respiračním onemocněním (1–3, 5, 6), alergiemi (2, 3, 7) a je mu také přisuzován nižší výskyt obezity a diabetu (8). Ochrannou roli plní mateřské mléko díky svému obsahu nukleotidů, mastných kyselin, oligosacharidů, imunoglobulinů, cytokinů, imunitních buněk, lysozymu, laktoferinu, laktahedrinu a ostatních imunomodulačních faktorů (9–13). Pro pochopení zázračné role mateřského mléka jsou také v poslední době zkoumány oligosacharidy mateřského mléka, kterým je přisuzována celá řada funkcí (14). Dalším předmětem zkoumání je jeho bakteriální obsah a diverzita. Vědci zjistili, že mateřské mléko zdravých žen obsahuje 10 až 10⁵ cfu/ml bakterií, jejichž stanovená množství jsou závislá nejen na geografických faktorech, ale také na použitých kultivačních

technikách tabulka 1 (15–17). Často diskutovanou otázkou ale zůstává, jak se tato mikrobiota utváří a jak se bakterie do mléka dostávají.

Bakteriální diverzita mateřského mléka

Poprvé byla bakteriální diverzita popsána v roce 2003 (15, 18). Ačkoliv je otázkou, zda je možné asepticky odebrat mateřské mléko, bylo popsáno bakteriální zastoupení v asepticky odebraném mléce (tabulka 1). Nejčastěji byly z mateřského mléka izolovány *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* a nově popsán druh *Streptococcus lactarius* (19).

Hunt et al. (20) zjistili, že polovina bakteriální komunity mateřského mléka (kterou nazývá jako „bakteriální jádro“) je tvořena z těch-

to devíti rodů *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacteria*, *Ralstonia*, *Propionibacterium*, *Sfingomonas* a *Bradyrhizobiaceae*. Tato mikrobiální komunita je v mateřském mléce stabilní. Oproti ostatním studiím nebyly z mléka izolovány bifidobakterie a laktobacily a tím tedy nejsou tyto bakterie součástí jádra devíti kmenů, které Hunt ve své studii popisuje. Což může být způsobeno jinými stravovacími návyky, popřípadě geneticky, a jinými vnějšími faktory. Rubio et al. popsali, že na složení mléčné mikrobioty má v průběhu laktace velký vliv BMI matky a také způsob porodu (21). Také fáze laktace a gestační věk jsou důležitými faktory, které ovlivňují její složení (22). Bifidobakterie byly nalezeny častěji a ve vyšších počtech v mléce matek, které rodily vaginálně než u těch, které rodily císařským řezem (22, 23). Také byly častěji nalezeny v mléce matek s dětmi narozenými s řádným gestačním věkem než u matek s předčasně narozenými dětmi. Bylo



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: Ing. Šárka Musilová, Ph.D., musilovas@af.czu.cz
Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů
Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbát

Cit. zkr: Pediatr. praxi. 2016; 17(1): 27–31
Článek přijat redakcí: 8. 8. 2015
Článek přijat k publikaci: 16. 9. 2015

Tab. 1. Bakteriální diverzita v mateřském mléce stanovena kultivačními a molekulárně-genetickými technikami upraveno (45, 46)

Kmen a rod	Druh Kultivační metody	Molekulární metody
Actinobacteria		
<i>Actinomyces</i>	<i>A. neuii</i> , <i>A. odontolyticus</i>	<i>A. spp.</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>A. spp.</i>	-
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i> , <i>B. angulatum</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. dentium</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. pseudocatenulatum</i>	<i>B. adolescentis</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. catenulatum</i> , <i>B. dentium</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. pseudocatenulatum</i>
<i>Collinsella</i>	-	<i>C. spp.</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>C. amicolatum</i>	<i>C. spp.</i>
<i>Kocuria</i>	<i>K. rhizophila</i>	-
<i>Microbacterium</i>	-	<i>M. spp.</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>M. luteus</i> , <i>M. roseus</i>	-
<i>Parascardovia</i>	<i>P. denticolens</i>	-
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. acnes</i> , <i>P. avidum</i> , <i>P. granulosum</i>	<i>P. acnes</i>
<i>Rhodococcus</i>	-	<i>R. spp.</i>
<i>Rothia</i>	<i>R. mucilaginis</i>	<i>R. spp.</i>
Bacteroidetes		
<i>Bacteroides</i>	-	<i>B. skupina</i> , <i>B. spp.</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>F. spp.</i>	<i>F. spp.</i>
<i>Pedobacter</i>	-	<i>P. spp.</i>
<i>Prevotella</i>	-	<i>P. spp.</i>
Firmicutes		
<i>Bacillus</i>	<i>B. sphaericus</i>	-
<i>Blautia</i>	-	<i>B. spp.</i>
<i>Carnobacterium</i>	-	<i>C. spp.</i>
<i>Clostridium</i>	-	<i>Clostridium</i> klastyry IV a XI/IVa – XIV/b
<i>Caprococcus</i>	-	<i>C. spp.</i>
<i>Dorea</i>	-	<i>D. spp.</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>E. spp.</i>	-
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. hirae</i> , <i>E. mundtii</i> , <i>E. gallinarum</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>
<i>Eubacterium</i>	-	<i>E. spp.</i>
<i>Faecalibacterium</i>	-	<i>F. spp.</i>
<i>Finegoldia</i>	<i>F. magna</i>	-
<i>Granulicatella</i>	-	<i>G. spp.</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. animalis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. gastricus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. oris</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. peores</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. vaginalis</i>	<i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i>	<i>L. lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>L. citreum</i> , <i>L. fallax</i>
<i>Lysinibacillus</i>	-	<i>L. spp.</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. pentosaceus</i>	-
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. spp.</i>	-
<i>Roseburia</i>	-	<i>R. spp.</i>
<i>Ruminococcus</i>	-	<i>R. spp.</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i> , <i>S. capitis</i> , <i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. hominis</i>
<i>S. hominis</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. pasteurii</i>		
<i>Streptococcus</i>	<i>S. agalactiae</i> , <i>S. anginosus</i> , <i>S. australis</i>	<i>S. mitis</i> , <i>S. parasanguinis</i>
<i>S. gallolyticus</i> , <i>S. lactarius</i> , <i>S. mitis</i>	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. salivarius</i>	
<i>S. parasanguinis</i> , <i>S. peroris</i> ,		
<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. salivarius</i>		
<i>S. vestibularis</i>		
<i>Subdoligranulum</i>	-	<i>S. spp.</i>
<i>Veillonella</i>	-	<i>V. spp.</i>
<i>Weissella</i>	-	<i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i>
Proteobacteria		
<i>Acinetobacter</i>	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. calcoaceticus</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>A. spp.</i>	-
<i>Bradyrhizobium</i>	-	<i>B. spp.</i>

Kmen a rod	Druh Kultivační metody	Molekulární metody
<i>Brevundimonas</i>	-	<i>B. spp.</i>
<i>Burkholderia</i>	<i>B. spp.</i>	<i>B. spp.</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>C. spp.</i>	<i>C. spp.</i>
<i>Dyella</i>	-	<i>D. spp.</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>E. spp.</i>	-
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
<i>Gemella</i>	<i>G. haemolysans</i>	<i>G. haemolysans</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	-
<i>Kluyvera</i>	<i>K. cryoescens</i>	-
<i>Mesorhizobium</i>	-	<i>M. spp.</i>
<i>Moraxella</i>	<i>M. spp.</i>	-
<i>Ochrobactrum</i>	-	<i>O. spp.</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. synxantha</i>
<i>Ralstonia</i>	-	<i>R. spp.</i>
<i>Salmonella</i>	<i>S. enterica</i>	-
<i>Serratia</i>	-	<i>S. proteomaculans</i>
<i>Shigella</i>	<i>S. spp.</i>	-
<i>Sphingomonas</i>	-	<i>S. spp.</i>
<i>Stenotrophomonas</i>	-	<i>S. spp.</i>
<i>Verrucomicrobia</i>		
<i>Akkermansia</i>	-	<i>A. municipihila</i>

zjištěno, že celkové počty bakterií, počty bifidobakterií a enterokoků rostou v průběhu laktanční periody (22).

Podle nejnovějších vědeckých publikovaných výsledků patří mezi nejčastěji izolované rody: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus* a *Pseudomonas*, které jsou známy jako běžná rezidentní lidská bakteriální flóra, ale také některé patogeny jako *S. aureus* občasné kontaminant mateřského mléka. Predominantní skupinou byly také bakterie mléčného kvašení, zejména *Lactococcus lactis*. V této práci bylo popsáno, že kojenci, kteří vypili denně 800 ml mléka, také vypili i spolu s mlékem okolo 8×10^4 až 8×10^6 komenzálních bakterií během sání (24).

Je otázkou, zda se jedná pouze o kontaminaci, anebo je možný přesun bakterií přes dendritické buňky ze střeva matky.

Tradiční hypotéza – kontaminace mateřského mléka bakteriemi z úst dítěte a okolního prostředí

Tradiční hypotézou je, že bakterie se dostávají do mléka jako kontaminace z kůže matky a ústní dutiny dítěte a mikrobiota novorozeneckého střeva se zakládá během porodu při průchodu porodním kanálem. Existují ale také novější tvrzení, že jsou bakterie obsaženy i v placentě matky, přesněji byly izolovány z pupečnickové šňůry, pupečnickové krve, plodové

vody a mekonie. Což by znamenalo, že trávicí trakt před narozením dítěte nemusí být sterilní, jak se doposud vědci domnívali (25–27).

K výměně mikroorganismů mezi dítětem a matkou zcela určitě dochází při sání dítěte díky zpětnému toku mléčných kanálků (28). Narození dítěte je považováno za tzv. přírodní transplantaci mikroorganismů z vaginy a trávicího traktu matky do novorozeneckého střeva (29). Avšak role vaginy jako zdroje bakterií není zcela objasněna. Martin et al. (30) zjistili, že laktobacily přítomné v dětské stolici jsou shodné jako laktobacily přítomné v mléce matky, ale nejsou totožné s laktobacily přítomnými ve vagině matky. Také Matsumiya et al. (31) zjistili, že měsíc po porodu jsou původní laktobacily získané z vaginální mikrobioty matky nahrazeny laktobacily přítomnými v mléce. Tyto studie tedy dokazují, že dochází k přenosu vaginální mikrobioty matky do střeva dítěte, ale nedochází k úspěšné kolonizaci těmito mikroorganismy.

Kultivačními i molekulárně genetickými mikrobiologickými technikami bylo dokázáno, že ústa dítěte i kůže matky jsou bakteriálním zdrojem pro mikrobiotu mateřského mléka (29). Toto může tedy nasvědčovat tomu, že ústa dítěte poskytují bakterie pro osídlení mateřského mléka, ale také tomu může být i naopak, že by mateřské mléko mohlo být zdrojem pro ustanovení mikrobioty úst dítěte (29).

Oproti této hypotéze je ale celá řada studií, které popírají, že by výskyt mikroorganismů v mateřském mléce byl pouze výsledkem kontaminace, při které kojenec slouží jako její zdroj. Jednou z prací, která tuto hypotézu popírá, je práce (32), ve které autoři popisují, že bifidobakterie jsou striktními anaeroby, které by mohly být takto transportovány velmi obtížně, právě z důvodu oxidačního stresu. Jak je ale možné, že právě bifidobakterie byly stanoveny v mléce matek kojenců porozených vaginálně, zatímco v mléce matek u kojenců porozených císařským řezem nebyly detekovány vůbec, jak bylo popsáno v práci Rada et al. 2011 (23)?

Aktivní migrace bakterií ze střeva matky do mateřského mléka

Novou hypotézou, jak se bakterie dostávají do mateřského mléka, je aktivní migrace. Přesný mechanismus aktivní migrace přes takzvanou vnitřní cestu jakou se mikroorganismy dostanou přes střevní epitel, vyhnou se imunitnímu systému a dostanou se do mléčné žlázy, nebyl zatím objasněn.

Vědci se však domnívají, že velkou roli zde hrají dendritické buňky nebo makrofágy, které mohou pomáhat při penetraci přes epitelální buňky a to tak, že dokážou otevřít těsné spojení mezi epitelálními buňkami (33). Tento mechanismus již demonstrovali u *Salmonella typhimurium* (33). Tato teorie byla následně podepřena dalšími

pracemi. Například Fernandéz et al. podávali dva týdny před porodem březím myším označené bakterie, které byly nalezeny v žaludku mláďat myši právě po laktaci, ale nikoliv před ní (34). Právě na myších byla naznačena možnost migrace bakterií ze střeva do mesenterických lymfatických uzlin a mléčné žlázy během pozdní fáze těhotenství a laktace. Perez et al. zjistili, že 70 % březích myši mělo v mesenterických lymfatických uzlinách přítomné bakterie, oproti konvenčním nebřezím myším, kde pouze 10 % z nich mělo v mesenterických uzlinách bakterie (35). Během 24 hodin po porodu pouze 10 % lymfatických uzlin obsahovalo bakterie, zatímco 80 % mléčných žláz bylo kolonizováno.

Zdá se, že tento migrační proces je selektivní. Pouze některé kmeny jsou rozpoznány imunitními buňkami a mohou být přeneseny do mléčné žlázy. Nebo spíše všechny bakterie jsou rozpoznány imunitními buňkami, ale některé jsou ušetřeny zabítí vrozeným imunitním systémem (jsou imunologicky tiché) a mohou být přeneseny do mléčné žlázy a sloužit tak jako zdroj bakterií pro kolonizaci novorozence. Navíc kapacita bakterií, které jsou přeneseny je ovlivněna produkcí exopolysacharidů, které udělují schopnost bakteriím zůstat imunologicky tiché a chrání je před B-buňkami (36), které by je jinak zlikvidovaly. Tyto exopolysacharidy jsou schopné produkovat i některé patogeny, a proto stále zůstává otázkou, jak přesně funguje tento

mechanismus, který uděluje bakteriím „neviditelnost“ před imunitním systémem.

Co ovšem není zcela objasněno je, kdy tento migrační proces začíná, a kdy končí a jakými faktory je ovlivněn. Otázkou také zůstává, zda k němu dochází i při císařském řezu a jaké mechanismy tento proces spouští. Perez 2010 tvrdí, že migrace bakterií do mléčné žlázy začíná jeden den před porodem (37, 38).

Vliv mléčné mikrobioty

Bylo zjištěno, že mikrobiota mateřského mléka představuje pro novorozence určité zdravotní výhody. Například kolonizace *Staphylococcus epidermidis*, může inhibovat kolonizaci *Staphylococcus aureus* (39–41). Také některé streptokoky mohou inhibovat kolonizaci methicillin-rezistentního *S. aureus* (41) a mléčná mikrobiota pomáhá při dozrávání dětského imunitního systému (42–44).

Potenciální úloha této mléčné mikrobioty není pouze probiotická funkce, ale také do určité míry chrání prsní žlázu před možnými infekcemi. Avšak je třeba více studií, které pomohou objasnit, jak dochází k utvoření mléčné mikrobioty, a jaké představuje zdravotní výhody nejen pro kojence, ale také pro samotnou matku.

Závěr

Stále nedeřešenou otázkou tedy zůstává, zda je možné, že by hormonální a fyziologické

změny, ke kterým dochází v pozdní fázi těhotenství a laktace, umožňovaly vhodné podmínky pro transport bakterií imunitními buňkami do mezenterických lymfatických uzlin s cílem dopravit je do mléčné žlázy. Dále také jaké faktory určují toto načasování a které bakterie jsou transportovány, aby následně mohly kolonizovat mléčnou žlázu a vytvořit mléčnou mikrobiotu. Mateřské mléko s obsahem jeden až deset tisíc bakterií se tedy možná stává probiotickou potravinou pro novorozence již v prvních dnech. Jeho bakteriální diverzita byla popsána v mnoha studiích, otázkou však stále zůstává, zda lze mateřské mléko asepticky odebrat a poté hovořit o primární či sekundární mikrobiotě.

Probiotická funkce mateřského mléka by tedy mohla být dalším přirozeným benefitem oproti umělým kojeneckým výživám, ve kterých by jen stěží bylo možné dosáhnout vyváženého poměru a diverzity mikroorganismů jaké obsahuje mateřské mléko, jehož množství a složení (bakterií, prebiotických oligosacharidů, imunoglobulinů, glykoproteinů apod.) se neustále mění v závislosti na potřebách kojence. Zatím jen stěží vypadá, že ho někdy budeme schopni syntetizovat přesně tak jako sama matka. Každou další práci a objevem se tomu však snažíme přiblížit.

Poděkování: Publikace vznikla za podpory GAČR 14-31501P a GAČR 14-31984P.

LITERATURA

- Duijts L, Jaddoe VW, Hofman A, et al. Prolonged and exclusive breastfeeding reduces the risk of infectious diseases in infancy. *Pediatrics* 2010; 126: e18–e25.
- Ip S, Chung M, Raman G, et al. A summary of the Agency for Healthcare Research and Quality's evidence report on breastfeeding in developed countries. *Breastfeeding medicine* 2009; 4: S17–S30.
- Slusser W. Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries. *AAP Grand Rounds* 2007; 18: 15–16.
- Quigley MA, Kelly YJ, Sacker A. Breastfeeding and hospitalization for diarrheal and respiratory infection in the United Kingdom Millennium Cohort Study. *Pediatrics* 2007; 119: e837–e842.
- Chantry CJ, Howard CR, Auinger P. Full breastfeeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children. *Pediatrics* 2006; 117: 425–432.
- Nishimura T, Suzue J, Kaji H. Breastfeeding reduces the severity of respiratory syncytial virus infection among young infants: A multi-center prospective study. *Pediatrics International* 2009; 51: 812–816.
- Greer FR, Sicherer SH, Burks AW. Effects of early nutritional interventions on the development of atopic disease in infants and children: the role of maternal dietary restriction, breastfeeding, timing of introduction of complementary foods, and hydrolyzed formulas. *Pediatrics* 2008; 121: 183–191.

- Eidelman AL. Breastfeeding and the use of human milk: an analysis of the American Academy of Pediatrics 2012 Breastfeeding Policy Statement. *Breastfeeding Medicine* 2012; 7: 323–324.
- Boehm G, Moro G. Structural and functional aspects of prebiotics used in infant nutrition. *The Journal of nutrition* 2008; 138: 1818S–1828S.
- Euler AR, Mitchell DK, Kline R, et al. Prebiotic effect of fructo-oligosaccharide supplemented term infant formula at two concentrations compared with unsupplemented formula and human milk. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2005; 40: 157–164.
- Penttilä IA. Milk-derived transforming growth factor-β and the infant immune response. *The Journal of pediatrics* 2010; 156: S21–S25.
- Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *The Journal of pediatrics* 2010; 156: S3–S7.
- van't Land B, Boehm G, Garssen J. Breast milk: components with immune modulating potential and their possible role in immune mediated disease resistance. *Dietary components and immune function*: Springer, 2010: 25–41.
- Musilova S, Rada V, Vlkova E, et al. Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. *Beneficial microbes* 2014; 5: 273–283.
- Martín R, Langa S, Reviriego C, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *The Journal of pediatrics* 2003; 143: 754–758.

- Beasley SS, Saris PE. Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains isolated from human milk. *Applied and environmental microbiology* 2004; 70: 5051–5053.
- Albesharat R, Ehrmann MA, Korakli M, et al. Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies. *Systematic and Applied Microbiology* 2011; 34: 148–155.
- Heikkilä M, Saris P. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology* 2003; 95: 471–478.
- Martín V, Mañes-Lázaro R, Rodríguez JM, et al. *Streptococcus lactarius* sp. nov., isolated from breast milk of healthy women. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 2011; 61: 1048–1052.
- Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One* 2011; 6: e21313.
- Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, et al. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *The American journal of clinical nutrition* 2012; 96: 544–551.
- Khodayar-Pardo P, Mira-Pascual L, Collado M, et al. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *Journal of Perinatology* 2014; 34: 599–605.

23. Rada V, Nevoral J, Flajšmanová K, et al. Occurrence of bifidobacteria in human milk. *Milchwissenschaft* 2011; 66.
24. Vaidya Y, Patel S, Patel R, et al. Exploring the microbiota of human milk using the culture-dependent method. *International Journal* 2015; 3: 462–471.
25. Jiménez E, Fernández L, Marín ML, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Current microbiology* 2005; 51: 270–274.
26. Jiménez E, Marín ML, Martín R, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in microbiology* 2008; 159: 187–193.
27. Aagaard K, Ma J, Antony KM, et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Science translational medicine* 2014; 6: 237ra265–237ra265.
28. Ramsay DT, Kent JC, Owens RA, et al. Ultrasound imaging of milk ejection in the breast of lactating women. *Pediatrics* 2004; 113: 361–367.
29. Jeurink P, Van Bergenhenegouwen J, Jimenez E, et al. Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial microbes* 2013; 4: 17–30.
30. Martín R, Heilig G, Zoetendal E, et al. Diversity of the Lactobacillus group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *Journal of applied microbiology* 2007; 103: 2638–2644.
31. Matsumiya Y, Kato N, Watanabe K, et al. Molecular epidemiological study of vertical transmission of vaginal Lactobacillus species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Journal of infection and chemotherapy* 2002; 8: 43–49.
32. Xiao M, Xu P, Zhao J, et al. Oxidative stress-related responses of Bifidobacterium longum subsp. longum BBMN68 at the proteomic level after exposure to oxygen. *Microbiology* 2011; 157: 1573–1588.
33. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature immunology* 2001; 2: 361–367.
34. Fernández L, Marín M, Langa S, et al. A novel genetic label for detection of specific probiotic lactic acid bacteria. *Food science and technology international* 2004; 10: 101–108.
35. Perez PF, Doré J, Leclerc M, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 2007; 119: e724–e732.
36. Fanning S, Hall LJ, Cronin M, et al. Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012; 109: 2108–2113.
37. Donnet-Hughes A, Perez PF, Doré J, et al. Potential role of the intestinal microbiota of the mother in neonatal immune education. *Proceedings of the Nutrition Society* 2010; 69: 407–415.
38. Perez-Cano FJ, Gonzalez-Castro A, Castellote C, et al. Influence of breast milk polyamines on suckling rat immune system maturation. *Developmental & Comparative Immunology* 2010; 34: 210–218.
39. Iwase T, Uehara Y, Shinji H, et al. Staphylococcus epidermidis Esp inhibits Staphylococcus aureus biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010; 465: 346–349.
40. Park B, Iwase T, Liu GY. Intranasal application of S. epidermidis prevents colonization by methicillin-resistant Staphylococcus aureus in mice. *PloS one* 2011; 6: e25880.
41. Uehara Y, Kikuchi K, Nakamura T, et al. H2O2 produced by viridans group streptococci may contribute to inhibition of methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization of oral cavities in newborns. *Clinical infectious diseases* 2001; 32: 1408–1413.
42. Díaz-Ropero M, Martín R, Sierra S, et al. Two Lactobacillus strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. *Journal of applied microbiology* 2007; 102: 337–343.
43. Olivares M, Díaz-Ropero M, Martín R, et al. Antimicrobial potential of four Lactobacillus strains isolated from breast milk. *Journal of applied microbiology* 2006; 101: 72–79.
44. Olivares M, Díaz-Ropero MP, Sierra S, et al. Oral intake of Lactobacillus fermentum CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. *Nutrition* 2007; 23: 254–260.
45. Jost T, Lacroix C, Braegger C, et al. Impact of human milk bacteria and oligosaccharides on neonatal gut microbiota establishment and gut health. *Nutrition Reviews* 2015: nuu016.
46. Fernández L, Langa S, Martín V, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research* 2013; 69: 1–10.