



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**LA ALIMENTACIÓN DEL LACTANTE
COMO MODULADORA DE SU MICROBIOTA
INTESTINAL Y SALUD:**

Oligosacáridos de la leche humana

Autor: Clara Aguado del Amo

Fecha: Junio 2019

Tutor: Rosa M^a Ortega Anta

RESUMEN

La lactancia materna exclusiva (LME) es el modo de alimentación por excelencia para los neonatos, pero no es el único, también se practica la lactancia artificial y mixta, siendo esta última la más frecuentemente utilizada. El objetivo de este trabajo es revisar las evidencias científicas publicadas sobre cómo el tipo de alimentación en el periodo de lactancia modula su microbiota intestinal, resaltando el papel de los oligosacáridos de la leche humana (OLH); y la repercusión que ésta tiene en la salud presente y futura del lactante. La leche humana (LH) es un biofluido dinámico en el que la cantidad y composición de OLH varían de una mujer a otra y en función de la fase de lactancia, adaptándose a las necesidades del infante. Los OLH colaboran en el desarrollo inmune y proporcionan protección frente a enfermedades infecciosas y metabólicas directamente mediante la interacción con las células del epitelio intestinal, e indirectamente por su efecto prebiótico, estimulando el crecimiento selectivo de bacterias beneficiosas, como bifidobacterias. La principal diferencia entre la LH y los preparados para lactantes son los OLH, por lo que estos últimos se suplementan principalmente con carbohidratos no digeribles y, en menor medida, con algunos OLH de síntesis por la dificultad de su producción. Estas fórmulas han demostrado proporcionar beneficios clínicos, pero no sustituyen completamente las funciones de los OLH de la LH. La promoción de la LME por los profesionales sanitarios es mejorable y resulta necesaria para conseguir un beneficio en la salud del niño. Además, se necesitan más ensayos que evalúen la repercusión en la salud de la lactancia mixta, precisando el tiempo y pautas más convenientes.

ABSTRACT

Exclusive breastfeeding (EBF) is defined as the feeding practice par excellence for neonates, but it is not the only one, artificial and mixed lactation are also practised, the last one being the most frequently used. The purpose of this paper is to review the published scientific evidence on how the type of feeding practice in the lactation modulates the babies' intestinal microbiota, highlighting the role of the human milk oligosaccharides (HMOs); and the repercussion that this has on the present and future health of the infant. Human milk (HM) is a dynamic biofluid in which the amount and composition of HMO vary from one woman to another and depending on the stage of lactation, adapting to the needs of the infant. The HMOs collaborate in the immune development and provide protection against infectious and metabolic diseases directly through the interaction with the cells of the intestinal epithelium, and indirectly by their prebiotic effect, stimulating the selective growth of beneficial bacteria, such as bifidobacteria. The main difference between HM and infant formulas are HMOs. This latter type is mainly complemented with non-digestible carbohydrates and, to a lesser extent, with some synthetic HMOs due to the difficulty of their synthesis. These formulas have proven to provide clinical benefits, but they do not completely replace the functions of the HMOs from the HM. The promotion of the EBF by health professionals can be improved. It's required to obtain a benefit in the health of the child. In addition, more tests are needed to evaluate the health impact of mixed breastfeeding, specifying it time and most convenient guidelines.

PALABRAS CLAVE: lactancia materna, oligosacáridos de la leche humana, fórmula infantil, microbiota intestinal, *Bifidobacterium*, prebióticos

KEYWORDS: breastfeeding, human milk oligosaccharides, infant formula, gut microbiota, *Bifidobacterium*, prebiotics

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	3
2. OBJETIVOS.....	4
3. METODOLOGÍA.....	5
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	5
4.1. MODO DE ALIMENTACIÓN DURANTE EL PERIODO DE LACTANCIA.....	5
4.1.1. Lactancia materna exclusiva.....	6
4.1.2. Lactancia artificial y mixta	7
4.2. OLIGOSACÁRIDOS DE LA LECHE HUMANA (OLH)	7
4.2.1. Estructura y composición de los OLH.....	7
4.2.2. Efectos de los OLH sobre la microbiota intestinal	9
4.2.3. Repercusión sobre la salud actual y futura	11
4.3. AVANCES EN FÓRMULAS INFANTILES	13
4.3.1. Suplementación con OLH sintéticos.....	13
4.3.2. Suplementación con carbohidratos no digeribles	14
4.3.3. Suplementación con bifidobacterias	16
4.4. PROMOCIÓN DE LA LACTANCIA MATERNA EXCLUSIVA	16
5. CONCLUSIONES.....	17
6. BIBLIOGRAFÍA.....	18

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La leche materna humana es el alimento por excelencia para la nutrición de los recién nacidos, ya que les proporciona todos los nutrientes necesarios para su correcto desarrollo y crecimiento en la primera etapa de la infancia, conocida como periodo de lactancia. Por esta razón, la lactancia materna exclusiva (LME) es la práctica alimentaria recomendada por las distintas organizaciones e instituciones sanitarias durante los primeros seis meses de vida.

Al mismo tiempo que las necesidades nutricionales y el estado metabólico del lactante varían en el tiempo, también lo hace la composición de la leche humana (LH), la cual contiene un extenso repertorio de macro, micronutrientes y compuestos bioactivos (hormonas, factores inmunológicos, microorganismos probióticos, etc.). De ahí que se la considere un fluido biológico complejo y dinámico ⁽¹⁾.

Un aspecto importante que se establece en las primeras etapas de la vida del infante es la adquisición de una microbiota intestinal propia y característica, que modulará su metabolismo y salud, a lo largo de toda su vida.

Conviene subrayar que el recién nacido no es un organismo estéril, puesto que en el interior de la madre está expuesto a la microbiota presente en la placenta y en el líquido amniótico ⁽²⁾. Sin embargo, la primera siembra importante de microorganismos tiene lugar durante el nacimiento, por lo que, según el tipo de parto, la microbiota que adquiere el recién nacido es distinta. Los neonatos nacidos por vía vaginal son colonizados por las bacterias presentes en la vagina y área perineal, en la cual predominan los géneros *Lactobacillus* y *Prevotella*; mientras que, si se produce por cesárea, son colonizados por especies habituales de la piel materna, como *Staphylococcus*, *Corynebacterium spp.* ⁽³⁾.

La colonización microbiana del intestino infantil no solo se ve influida por el tipo de parto, sino también por otros factores como la edad gestacional al nacer, el uso de antibióticos, la genética, el entorno (estilo de vida, localización geográfica y circunstancias higiénicas) y sobretodo, el modo de alimentación (Figura 1) ⁽¹⁾.

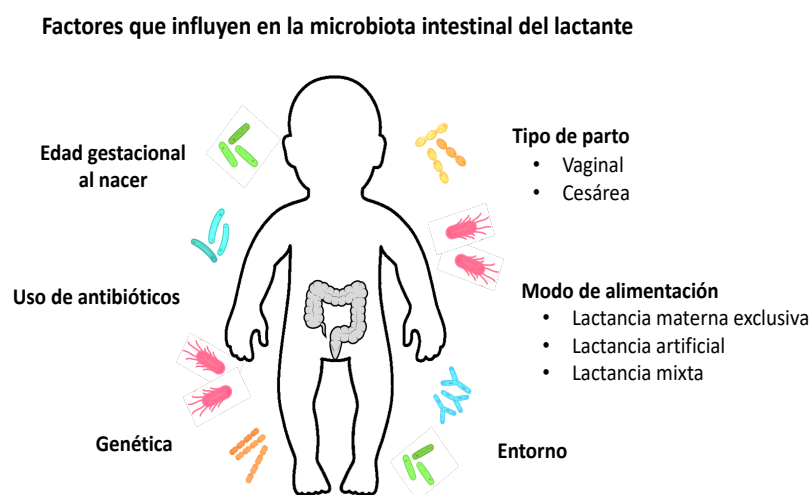


Figura 1. Factores que influyen en la microbiota intestinal del lactante

La capacidad de la lactancia materna (LM) de modular el establecimiento y desarrollo de un microbioma (conjunto de genes procedentes de los microorganismos que habitan el cuerpo

humano) saludable supone un valor añadido, además del nutricional ⁽¹⁾. Los componentes de la LM que proporcionan dicho beneficio son principalmente los microorganismos de la leche y los presentes en el epitelio de la glándula mamaria. Al conjunto de estos microorganismos ingeridos por el lactante se le conoce como “microbiota asociada a la lactancia materna” ⁽⁴⁾. No obstante, también es fundamental el aporte de prebióticos que favorecen el crecimiento de cepas bacterianas saludables, este beneficio lo aportan principalmente los oligosacáridos de la leche humana, que son objeto de atención prioritaria en este trabajo.

Los oligosacáridos de la leche humana (OLH) son un grupo heterogéneo de glucanos complejos, exclusivos de los seres humanos. Una vez ingeridos atraviesan intactos el tracto gastrointestinal hasta llegar al colon, donde ejercen el efecto prebiótico al ser utilizados como sustrato por las bacterias de la flora intestinal, impulsando el crecimiento y desarrollo selectivo de los microorganismos capaces de fermentarlos, como el género *Bifidobacterium*. De modo que se establece una relación simbiótica entre las bifidobacterias y el hospedador, en este caso el neonato ⁽⁵⁾. Además, se ha demostrado que las bifidobacterias asociadas al intestino infantil tienen enzimas con distintas capacidades metabólicas que les permiten degradar de manera específica los diferentes OLH, lo cual plantea una coevolución de estas bacterias con el ser humano ⁽⁶⁾.

Algunas de las funciones de los OLH están mediadas por el efecto que tienen sobre las bifidobacterias, como la prevención de la adhesión de microorganismos patógenos, desarrollo de una función de barrera efectiva y favorecer la transición a los alimentos sólidos. De modo que una alteración de la microbiota intestinal, o disbiosis, se considera un importante mediador en el padecimiento de diferentes enfermedades ⁽⁷⁾. Además, estos glucanos por sí solos son capaces de modular las respuestas de las células epiteliales intestinales y ayudar al desarrollo cerebral y del sistema inmune ⁽¹⁾.

La lactancia materna exclusiva no es el único modo de alimentación del neonato en el periodo de lactancia, también se puede dar lactancia mixta, combinación de leche humana y preparados para lactantes, o lactancia artificial, alimentación exclusiva con fórmula. Estos preparados son fabricados a partir de leche de animales (vaca o cabra) o proteínas vegetales (avena o soja), las cuales son sometidas a tratamientos industriales para asemejarlas a la leche humana. Sin embargo, los OLH son exclusivos de la leche materna, por lo que ha sido necesario investigar estrategias para suplir su efecto, como la suplementación con OLH de síntesis, carbohidratos no digeribles o bifidobacterias ⁽¹⁾.

En la actualidad, por diversas razones, alrededor del 60% de los lactantes menores de seis meses son alimentados con lactancia mixta, en detrimento de la lactancia materna exclusiva ⁽⁸⁾. Por tanto, se plantea como hipótesis cómo el suministro de OHL de síntesis y otros carbohidratos no digeribles a las fórmulas infantiles podría ejercer un efecto beneficioso sobre la microbiota de los lactantes que no pueden recibir lactancia materna y, como consecuencia, influir en su salud a corto y largo plazo.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es conocer, mediante una revisión bibliográfica, cómo el tipo de alimentación (lactancia materna exclusiva, artificial o mixta) en los seis primeros meses de vida modula la microbiota intestinal, resaltando el papel que tienen los oligosacáridos de la leche humana; y la repercusión que esta tiene en la salud actual y futura del lactante.

3. METODOLOGÍA

Para la realización de este estudio ha llevado a cabo una revisión bibliográfica, utilizando bases de datos médicas y académicas, tales como PubMed y SciELO. En la búsqueda se incluyeron todo tipo de documentos relacionados con el tema anteriormente propuesto, utilizando como palabras clave: breastfeeding, formula-feeding, lactation, infant-feeding, human milk oligosaccharide, bifidobacteria, microbiota.

Tras la búsqueda, se analizaron todas las revisiones y estudios que aparecían en los artículos. Después, se clasificaron según los temas que trataban: lactancia materna, lactancia artificial o preparados para lactantes, oligosacáridos de la leche materna y bifidobacterias.

Finalmente, se extrajo la información más relevante de cada artículo y se focalizó en aquellos que mencionaban estudios en los que se comparaba la lactancia materna y la lactancia artificial, cuyo seguimiento había ido desde el nacimiento hasta al menos los seis meses de edad.

Además, se han consultado páginas web de organismos públicos e internacionales, como OMS, FAO y BOE.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. MODO DE ALIMENTACIÓN DURANTE EL PERIODO DE LACTANCIA

La etapa comprendida desde el nacimiento del bebé hasta alcanzar los tres años es lo que se conoce como primera infancia, y durante este tiempo el niño necesita nutrirse de manera adecuada para poder alcanzar un desarrollo correcto. En los primeros años de vida, las necesidades nutricionales del niño están continuamente variando, adaptándose a su evolución fisiológica. De modo que se distinguen tres periodos de alimentación claramente diferenciados: i) periodo de lactancia (0 – 6 meses), (ii) periodo de transición (6-12 meses) y (iii) periodo de adaptación a la alimentación del adulto (1 – 3 años); siendo la lactancia el más delicado de los tres, ya que el bebé tiene grandes necesidades fisiológicas y sus órganos están poco desarrollados, a nivel digestivo solo puede succionar y deglutir líquidos.

Los objetivos de la alimentación del lactante consisten en cubrir las necesidades energéticas y plásticas para permitir su correcto desarrollo y crecimiento, evitar carencias y desequilibrios entre los distintos nutrientes, y prevenir enfermedades del adulto relacionadas con la nutrición ⁽⁹⁾.

A pesar de que la OMS recomienda a todas las madres “la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses” ⁽¹⁰⁾, y su posterior combinación con alimentos complementarios hasta los doce meses de edad, son muchas las madres que deciden, o necesitan, complementarla con fórmulas infantiles, y una minoría la sustituyen totalmente por estos preparados durante el periodo de lactancia.

Por tanto, en la actualidad, se practican tres modos de alimentación durante el periodo de lactancia: lactancia materna exclusiva (LME), lactancia artificial o alimentación exclusiva con fórmulas o preparados para lactantes y lactancia mixta (lactancia materna y fórmula). A continuación, se desarrollan los aspectos que caracterizan a cada uno de ellos.

4.1.1. Lactancia materna exclusiva

La lactancia materna exclusiva consiste en la alimentación del lactante solo con leche materna sin la combinación con ningún otro alimento, ya sea líquido o sólido. Las distintas asociaciones de pediatría y organismos internacionales de salud recomiendan este modo de alimentación durante al menos los seis primeros meses de vida y mientras se va introduciendo la alimentación complementaria, pudiendo prolongarse hasta los dos años o más, o tanto como la madre y el bebe lo deseen recíprocamente ⁽¹⁰⁾.

La leche humana se considera el alimento por excelencia para el lactante, ya que le aporta la energía y nutrientes esenciales en las cantidades adecuadas. Esto se debe a que la leche materna se va adaptando de manera natural al estado metabólico y necesidades del niño ⁽¹⁰⁾.

Los principales factores que influyen en la composición de la leche materna son la alimentación de la madre, la hora del día y, sobre todo, la fase de la lactancia. Atendiendo a este último factor, la leche materna se clasifica en ⁽⁷⁾:

- Calostro o primera leche (desde el nacimiento hasta los cinco días tras el parto), es rica en proteínas (IgA, lactoferrina, lisozima, etc.), ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y macrófagos.
- Leche de transición (5 – 15 días tras parto), composición intermedia.
- Leche madura (desde aproximadamente 15 días tras parto hasta el final de la lactancia), proporciona mayor aporte energético.

En cuanto a los componentes de la leche humana, después de la lactosa y los lípidos, los oligosacáridos de la leche humana (OLH) son el tercer componente más abundante. Pese a que estos no constituyen una fuente energética para el lactante, tienen un gran impacto en su salud al ser factores prebióticos, es decir, sustancias capaces de alcanzar el intestino de manera intacta para poder ser utilizadas por la flora intestinal, proporcionando un beneficio tanto para la microbiota como para el hospedador.

Además, la leche materna no solo aporta macro y micronutrientes, sino también una amplia gama de compuestos bioactivos, como hormonas y péptidos tróficos (inulina, factores de crecimiento), factores inmunológicos (leucocitos, IgA) y microorganismos probióticos (*Streptococcus*, *Staphylococcus*) ⁽⁴⁾. Todo ello hace que la leche humana sea el único alimento completo para el bebé.

Como resultado del aporte de microorganismos probióticos y componentes prebióticos, la leche humana es una fuente rica de componentes que contribuyen a dar forma a la microbiota intestinal. Además, durante el amamantamiento, el lactante está expuesto a los microorganismos presentes en el epitelio de la glándula mamaria, característicos de cada mujer, lo cuales también influyen en la adquisición del microbioma del infante ⁽²⁾.

Son múltiples los beneficios que proporciona este modo de alimentación, para el niño, pues reduce la incidencia de enfermedades infecciosas, asma, alergias alimentarias, mortalidad, entre otras; para la madre, es un factor protector frente al cáncer de mama, hipertensión arterial e infarto agudo de miocardio ⁽⁸⁾. Además, fortalece el vínculo emocional madre-hijo.

4.1.2. Lactancia artificial y mixta

Actualmente, la práctica más común durante el periodo de lactancia es la lactancia mixta⁽³⁾, la cual consiste en la combinación de la leche materna con fórmulas infantiles; mientras que la alimentación exclusiva con fórmula es la opción menos común.

Los preparados para lactantes (PPL) o leches para lactantes o fórmulas tipo uno son alimentos destinados a los lactantes en los primeros seis meses de vida, capaces por sí mismos de satisfacer las necesidades nutritivas del bebé hasta la introducción de la alimentación complementaria⁽¹¹⁾.

La industria alimentaria y farmacéutica ha investigado en los últimos años para conseguir ofrecer un producto lo más similar a la leche humana, pero no se ha conseguido que sea idéntico; más adelante se comentan los últimos avances.

4.2. OLIGOSACÁRIDOS DE LA LECHE HUMANA (OLH)

4.2.1. Estructura y composición de los OLH

Los oligosacáridos de la leche humana (OLH), en inglés human milk oligosaccharides, son un grupo heterogéneo y complejo de glucanos exclusivos de la leche humana. Estos oligosacáridos se sintetizan en las glándulas mamarias, por lo que la cantidad y composición varía entre las mujeres y la etapa de la lactancia⁽¹²⁾.

La concentración de OLH varía a lo largo de las fases de la leche materna, siendo superior en los primeros días y disminuyendo paulatinamente con el tiempo. En el calostro, primera leche, la concentración de OLH es de 15-20 g/L, mientras que en la leche madura es de 10-15 g/L⁽¹²⁾.

En cuanto a la estructura, se han identificado más de mil OLH distintos, pero se estima que cada lactante está expuesto a unos doscientos, puesto que la composición de la leche humana es única para cada madre. La elevada complejidad y variedad de OLH se debe a la extensa posibilidad de combinación de cinco monosacáridos: glucosa (Glc), galactosa (Gal), N-acetilglucosamina (GlcNAc), fucosa (Fuc) y ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac)⁽¹⁾.

La estructura base consiste en una molécula de lactosa, Gal (β 1-4) Glc, en el extremo reductor. Esta estructura se puede alargar mediante una reacción catalizada por la enzima glucosiltransferasa (GT), la cual mediante enlaces β -1,3 o β -1,6 adiciona:

- Gal- β 1,3-GlcNAc dando lugar a lacto-N-tetraosa (LNT), conocida como cadena tipo 1
- Ga- β 1,4-GlcNAc dando lugar a lacto-N-neotetraosa (LNnT), conocida como cadena tipo 2

La LNT y LNnT se denominan oligosacáridos neutros, y a su vez se pueden ampliar mediante una fucosilación catalizada por dos tipos de fucosiltransferasas (FUT)⁽²⁶⁾:

- **FUT2:** enzima cuya expresión está controlada por el gen sanguíneo secretor (Se) y cataliza la adición de una fucosa (Fuc) mediante enlaces α -1,2, dando lugar:
 - LNT \rightarrow lacto-N-fuco-pentaosa I (LNF-1)
 - LNnT \rightarrow 2'-fucosil-lactosa (2'-FL)

- **FUT3:** enzima codificada por el gen sanguíneo Lewis (Le) y cataliza la adición de una fucosa (Fuc) mediante enlaces α -1,3 o α -1,4, dando lugar:
 - LNT \rightarrow lacto-N-fuco-pentaosa II (LNF-II)
 - LNnT \rightarrow 3'-fucosil-lactosa (3'-FL)

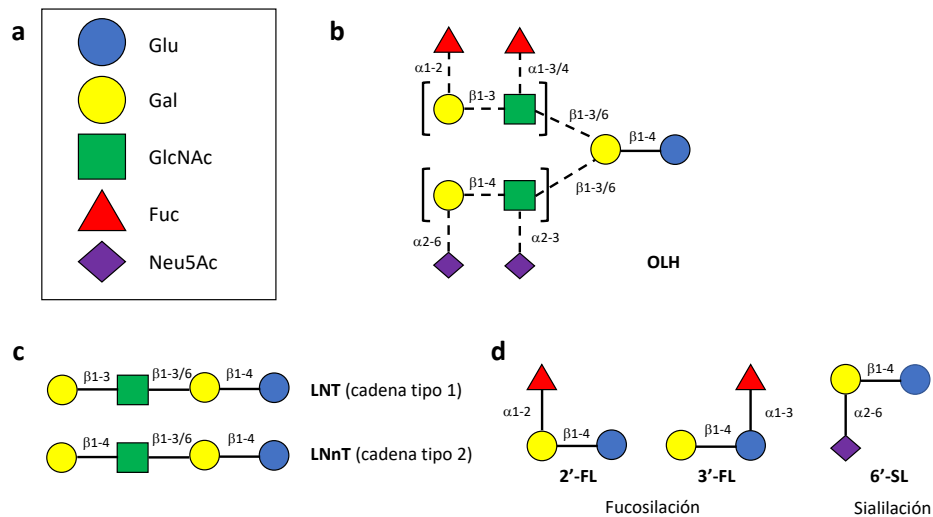


Figura 2. Estructura de los OLH (A) Bloque de monosacáridos para la construcción de OLH, (B) Posibles enlaces, (C) Cadenas tipo 1 y tipo 2 y (D) Ejemplos de fucosilación y sialilación.

Como se puede observar en la figura 2, las enzimas FUT2 y FUT3 compiten por los mismos sustratos, por lo que hay un control recíproco de estas dos clases de oligosacáridos.

Además, las sialiltransferasas pueden adicionar ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac) en las distintas posiciones de los oligosacáridos, pero a diferencia de las enzimas anteriores éstas no dependen del estado secretor o Lewis-positivo. Por consiguiente, la acción de las sialiltransferasas unida a la de las fucosiltransferasas explica el elevado potencial combinatorio y la amplia variedad de oligosacáridos de la leche humana.

Atendiendo a la expresión de los genes sanguíneos secretores (Se) y de Lewis (Le), los perfiles sanguíneos de las madres lactantes se pueden clasificar en cuatro grupos: Se+Le+, Se+Le-, Se-Le+ y Se-Le-. Debido a la existencia de un polimorfismo genético, la distribución de estos genes no es uniforme en la población mundial; además, también se ve influida por factores ambientales ⁽¹²⁾.

En función de la estructura, los principales oligosacáridos de la leche humana se pueden dividir en tres categorías ⁽¹²⁾, de mayor a menor porcentaje: (i) OLH neutras no fucosiladas (LNnT), (ii) OLH neutras fucosiladas (2'-FL) y (iii) OLH ácidas sialiladas (6'-SL). Los OLH más abundantes son los neutros, fucosilados y no fucosilados, suponiendo el 75% del total de los OLH en la leche materna, lo cual se debe a que alrededor del 70% de las mujeres son secretoras y Lewis-positivo (Se+, Le+).

Por tanto, la composición y cantidad de OLH varía entre las mujeres y la etapa de la lactancia. Y, además, la diversidad estructural depende de la complejidad del esqueleto principal (elongación y ramificación de la cadena) y de la presencia o ausencia de modificaciones (fucosilación y sialilación) ⁽²⁾.

4.2.2. Efectos de los OLH sobre la microbiota intestinal

La microbiota intestinal del bebé se desarrolla desde el nacimiento hasta la madurez, estableciendo una convivencia mutuamente beneficiosa con el huésped⁽¹³⁾. Esta es susceptible de modulación o interrupción por exposiciones ambientales, como la dieta; por consiguiente, la microbiota intestinal infantil es menos estable que la del adulto.

Cuando el bebé ingiere la leche materna, los oligosacáridos de la leche humana (OLH) llegan al estómago, donde resisten al pH bajo de la zona y a la digestión por enzimas pancreáticas. Por consiguiente, estos glucósidos complejos llegan intactos al colon, quedando disponibles para ser utilizados como sustrato de comunidades microbianas específicas, influyendo en la composición y actividad de la microbiota intestinal (Figura 3).

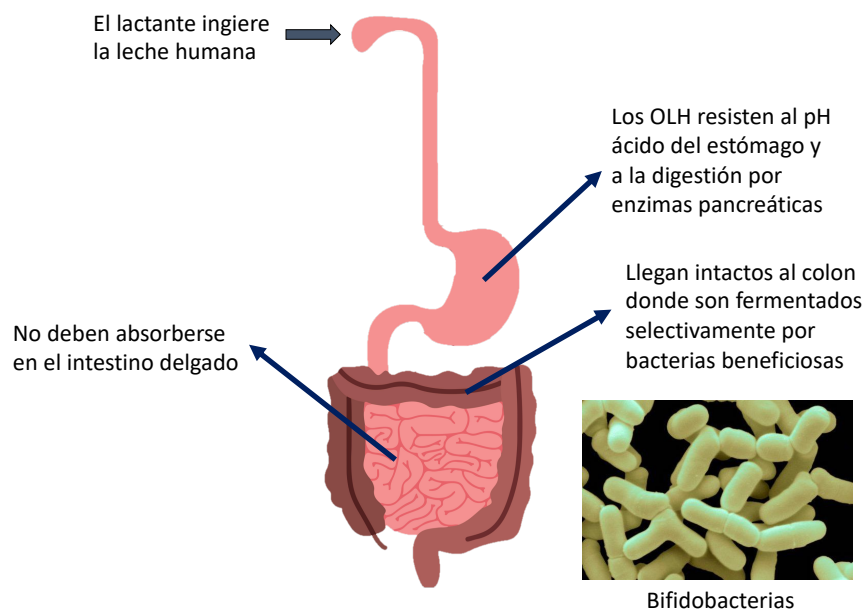


Figura 3. Ingesta y tránsito de los OLH a través del tracto gastrointestinal

Los OLH se consideran compuestos prebióticos naturales⁽²⁾ debido a que estimulan el crecimiento y desarrollo de poblaciones beneficiosas de microorganismos intestinales, especialmente de bifidobacterias.

El género *Bifidobacterium* engloba un conjunto de bacterias ácido lácticas presentes en la flora intestinal, el cual fue aislado por primera vez en 1899 por H. Tissier en las heces de lactantes amamantados, y ya en su momento indicó, que la microbiota de los lactantes amamantados difería de la de aquellos alimentados con biberón en cuanto a la riqueza en bifidobacterias⁽⁶⁾, siendo superior en los primeros.

Los efectos prebióticos de los OLH son bastante específicos de la estructura del oligosacárido y la especie de *Bifidobacterium*. Por tanto, la capacidad de utilizar estos glucanos como única fuente de carbono difiere dentro de las bifidobacterias, ya que no todas tienen las mismas hidrolasas de glucósidos, transportadores ni otras moléculas que ayudan a su degradación.

Teniendo en cuenta las capacidades metabólicas⁽⁶⁾, por especies, de las principales bifidobacterias que habitan el colon de los lactantes se observan estas diferencias:

- *B. bifidum* presenta glucosidasas extracelulares que degradan todas los OLH en mono, di u oligosacáridos y que, posteriormente, son transportados al interior celular.
- *B. longum subesp. infantis ATCC 15697* es capaz de transportar los OLH íntegros al citoplasma, donde actúan una amplia variedad de glucosidasas intracelulares que le permiten degradarlos en su totalidad. Es de las pocas especies que expresan toda la maquinaria para la degradación de estos oligosacáridos.
- *B. longum subesp. longum* y *B. breve* sólo son capaces de degradar la lacto-N-tetraosa (cadena tipo 1) a nivel intracelular, a diferencia de las dos anteriores que son capaces de fermentar de manera eficiente ambas cadenas, tipo 1 (LNT) y tipo 2 (LNnT).

El estudio realizado por Asakuma *et al.* ⁽¹⁾ indicó que *B. bifidum* no solo degrada los OLH a nivel extracelular para su propio uso, sino también para dejar metabolitos disponibles a otras especies que no son capaces de degradarlos. Esto demuestra una cooperación entre las diferentes comunidades microbianas para metabolizar estos glucanos complejos mediante actividades de alimentación cruzada. Dicho de otra manera, mientras que a *B. bifidum* se la podría considerar una bacteria altruista, *B. infantis ATCC 15697* sería una bacteria egoísta. Así mismo, el estudio evidenció una relación entre el predominio de las cadenas tipo 1 en los OLH y el uso preferente de dichas cadenas por las bifidobacterias del intestino infantil, lo cual sugiere una coevolución entre ambos.

Además, ciertas bacterias, como bifidobacterias y lactobacilos, expresan específicamente α -fucosidasas y α -sialidasas para escindir los residuos de fucosa (Fuc) y ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac), respectivamente ⁽¹⁾.

La capacidad de utilizar los oligosacáridos de la leche humana exclusivamente por bifidobacterias supone una ventaja a la hora de colonizar y prosperar en el colon frente a otras especies bacterianas que no los pueden fermentar. Por ello, la leche materna tiene un papel muy importante en la composición microbiana, al estimular selectivamente la colonización del intestino infantil por bifidobacterias.

Cabe destacar que los OLH son difíciles de sintetizar y muy pocas fórmulas incluyen algunos OLH sintéticos, de modo que aquellos bebés que las consumen no tendrán estimulada la colonización por bifidobacterias, lo cual puede tener consecuencias en su salud actual y futura.

Además, los oligosacáridos presentes en los preparados para lactantes, galactooligosacáridos o fructooligosacáridos, estimulan la colonización y desarrollo de determinadas especies de bifidobacterias asociadas con una microbiota adulta, como *B. adolescentis*. Estas bifidobacterias tienen capacidades metabólicas limitadas, no degradan las estructuras centrales (LNT y LNnT), no adaptándose a la situación fisiológica del lactante.

Thompson *et al.* ⁽¹³⁾ llevaron a cabo un estudio prospectivo en bebés durante el primer año de vida para ver si las prácticas de alimentación estaban asociadas con diferencias en la diversidad bacteriana. Tras analizar los resultados observaron diferencias significativas en la diversidad de especies y riqueza entre grupos:

- Alimentados con leche materna: menor riqueza y diversidad de especies, destacando *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*.
- Alimentados con fórmulas infantiles: mayor riqueza y diversidad de especies, destacando *Bacteroides* y *Clostridium*.

4.2.3. Repercusión sobre la salud actual y futura

Los oligosacáridos de la leche humana (OLH) tienen un impacto muy importante sobre la salud que merece ser objeto de atención. Los beneficios sanitarios que proporcionan los OLH no se deben exclusivamente al efecto que tienen por sí mismos, sino que también están mediados por el efecto prebiótico que tienen en la microbiota intestinal, la cual juega un papel esencial a nivel nutritivo, metabólico, inmunológico y de protección ⁽⁸⁾.

Entre las muchas funciones que desempeñan los OLH (Figura 4) destacan la modulación de la composición de la microbiota intestinal, evitan la adherencia de microorganismos patógenos y modulan la respuesta de las células epiteliales intestinales, previniendo la infección. Además, los OLH son inmunomoduladores y apoyan el desarrollo cerebral. A continuación, se tratan brevemente estas funciones ^(1, 12).

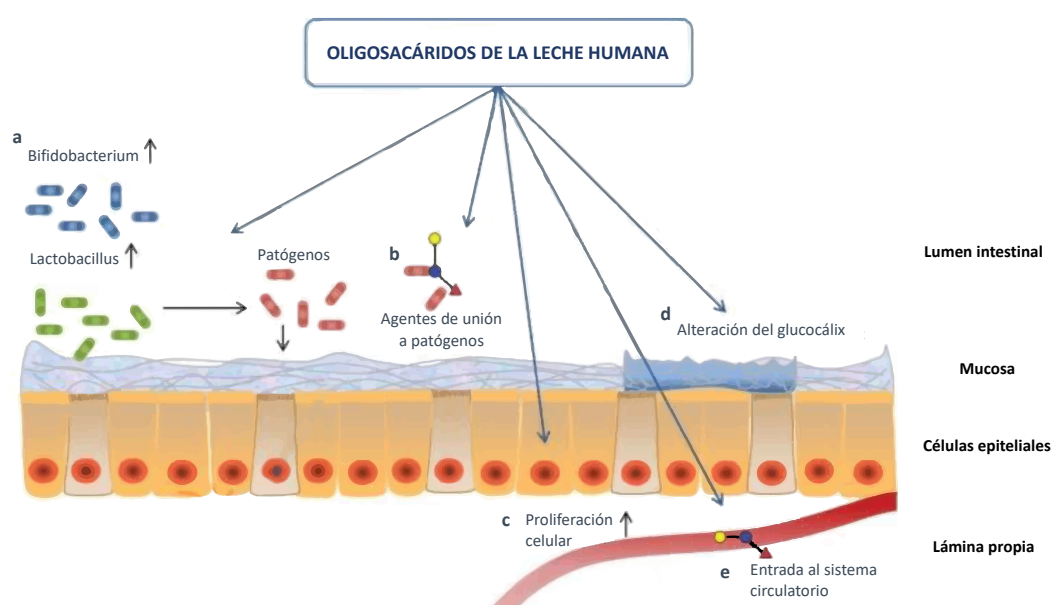


Figura 4. Efectos de los oligosacáridos de la leche humana (OLH). (A) Los OLH estimulan selectivamente el crecimiento de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en detrimento de bacterias perjudiciales / patógenos. (B) Además, estos se comportan como receptores solubles de señuelo, evitando la adhesión a las células del epitelio intestinal, por lo que previenen la infección. (C) Los OLH interactúan con las células epiteliales modulando sus respuestas (proliferación, apoptosis, etc.) y (D) alteran el glucocálix. (E) Estos oligosacáridos son capaces de entrar al sistema circulatorio y producir una inmunomodulación a nivel central ⁽¹⁾.

A. Modulación de la microbiota intestinal

El tipo de alimentación influye directamente en la composición de la microbiota intestinal, especialmente la lactancia materna, al aportar OLH que estimulan el crecimiento selectivo de poblaciones bacterianas beneficiosas, como bifidobacterias y lactobacilos ⁽²⁾. De manera que una alimentación en la cual no se administran OLH o no se aportan en la cantidad y variedad adecuada, reduce los nutrientes disponibles para las bifidobacterias y otras comunidades microbianas beneficiosas habituales dificultando su colonización y desarrollo, mientras se favorece el establecimiento de cepas patógenas.

La alteración de la microbiota intestinal es lo que se conoce como disbiosis, y puede darse a nivel cuantitativo (menor cantidad de bacterias beneficiosas) y/o cualitativo (predominio de

especies distintas a las habituales). En algunos casos la disbiosis se ha relacionado causalmente con la aparición de diversos trastornos metabólicos y enfermedades a corto, como enterocolitis necrotizante (ECN), asma, dermatitis atópica, infecciones agudas del oído, y a largo plazo, como obesidad, enfermedad intestinal inflamatoria (EII), diabetes mellitus tipo 1 y 2, entre otras (3).

Actualmente, la intervención dietética supone una nueva estrategia preventiva y terapéutica para muchas de estas enfermedades. Además, los probióticos y compuestos prebióticos contribuyen a la preservación y restablecimiento de poblaciones bacterianas beneficiosas con capacidad de pasar de estados de enfermedad a otros más saludables (14).

B. Prevención de la adhesión de microorganismos patógenos en células epiteliales

En las células del epitelio intestinal se encuentran receptores que pueden ser utilizados por microorganismos patógenos para unirse y provocar la infección. Sin embargo, ciertos oligosacáridos de la leche humana tienen estructuras similares a la de los glucanos de los receptores, por lo que compiten con estos por la adhesión de los patógenos. La unión del glucocálix, estructura extracelular bacteriana, al OLH permite que la bacteria pase por el tracto intestinal sin adherirse a las células del epitelio, evitando así la infección del bebé.

Una especie bacteriana susceptible de unirse a OLH es *Campylobacter jejuni*, uno de los microorganismos causantes de la diarrea. Esta enfermedad es una de las principales causas de mortalidad infantil en recién nacidos, por lo que se sugiere que la lactancia materna exclusiva podría reducir la morbilidad y mortalidad infantil por dicha afección (1).

C. Modulación de las respuestas de las células epiteliales intestinales

Los oligosacáridos de la leche humana no solo son capaces de influir indirectamente en las células del epitelio intestinal evitando la adhesión de microorganismos patógenos, sino también directamente en la respuesta de las células del huésped contra patógenos.

Determinadas fracciones de OLH neutros y ácidos tienen la capacidad de modular la apoptosis y maduración, reducir el crecimiento celular, inducir la diferenciación y aumentar la función de barrera in vitro (12).

Además, estos glucanos complejos pueden modular la expresión de genes de células del epitelio intestinal, produciendo cambios en la expresión de los azúcares de la superficie celular, dificultando la adhesión de ciertos patógenos.

La importancia de este efecto reside en que la función de barrera intestinal supone la primera línea de defensa en inmunidad innata del recién nacido.

D. Inmunomodulación

El sistema inmunitario del lactante se ve afectado por los OLH indirectamente al producir cambios en la microbiota intestinal, y directamente al modular las respuestas inmunes mediante la interacción con células inmunitarias y la secreción de citoquinas, conduciendo a una respuesta Th1/Th2 más equilibrada (12). La inmunomodulación se puede dar a nivel local en las células de los tejidos linfoides asociados a la mucosa o a nivel sistémico, ya que se ha detectado la presencia de OLH en orina, lo cual indica su absorción al torrente sanguíneo (1).

E. Efectos sobre el desarrollo cerebral

Algunos oligosacáridos de la leche materna presentan en su estructura residuos de ácido siálico (Neu5Ac) que, una vez metabolizados, son liberados impulsando el desarrollo cerebral, sinaptogénesis y neurotransmisión ⁽¹²⁾.

4.3. AVANCES EN FÓRMULAS INFANTILES

En la actualidad, por muchas razones, un elevado número de menores de seis meses no se alimentan con leche humana, sino que se nutren de forma exclusiva o en combinación con fórmulas infantiles de inicio durante el periodo de los cero a seis meses ⁽¹⁾.

Estos preparados para lactantes se elaboran a partir de leche de vaca o cabra, incluso a base de proteínas vegetales (soja o avena) para aquellos padres que optan por alimentar al recién nacido siguiendo una dieta vegana. Aunque se ha conseguido que estas fórmulas tengan una composición final muy similar a la leche humana, siguen sin ser idénticas.

Desde que se conocen los amplios beneficios que los OLH proporcionan al bebé, la investigación de estrategias que suplan sus funciones ha aumentado. Entre las estrategias que se han planteado destacan la suplementación con oligosacáridos de la leche humana de síntesis, suplementación con carbohidratos no digeribles y suplementación con bifidobacterias de las fórmulas infantiles ^(1, 12, 15).

4.3.1. Suplementación con OLH sintéticos

Al ser los oligosacáridos de la leche humana (OLH) la principal disimilitud con los preparados de origen animal y los preparados a base de proteínas vegetales aptos para la fabricación de fórmulas infantiles, la táctica número uno sería la suplementación con OLH sintéticos. Sin embargo, la amplia variedad y complejidad estructural de estos glucanos hace que su síntesis completa suponga un desafío, sumado al elevado coste ⁽¹⁾.

Recientemente se han conseguido reproducir sintéticamente dos de estos glucanos, concretamente 2'-FL y LNnT (cadena tipo 2), los cuales han sido reconocidos en el Reglamento (UE) 2017/2470 como "nuevos alimentos" ⁽¹²⁾. Entre las características que presentan destacan la resistencia al frío y al calor, por lo que no se ven afectados por el secado por congelación ni pasteurización, facilitando su adición.

Según este Reglamento, las fórmulas infantiles de inicio y de continuación suplementadas con 2'-FL en combinación con LNnT se consideran seguras, siempre que las concentraciones de estos oligosacáridos no superen los 1,2 g/L y 0,6 g/L, respectivamente, en una proporción de 2:1 en los preparados reconstituidos.

Los datos de ensayos clínicos *in vivo* en lactantes sobre la suplementación de fórmulas infantiles con OLH sintéticos han demostrado que estos preparados apoyan un patrón de crecimiento normal y proporcionan un beneficio clínico. Sin embargo, estos datos son limitados debido a las grandes restricciones que presentan los experimentos invasivos en niños, por lo que se necesitan más datos ⁽¹²⁾.

Además, la leche de cada mujer lactante contiene más de doscientos OLH, por lo que la suplementación con sólo dos de estos oligosacáridos no es del todo suficiente para conseguir que el efecto sea idéntico al procedente de la lactancia materna. Una suplementación con más OLH sintéticos podría evidenciar mayores beneficios, pero este avance ya supone un gran paso en el acercamiento a la leche humana ⁽¹²⁾.

4.3.2. Suplementación con carbohidratos no digeribles

La dificultad de síntesis de los OLH hace que la opción más viable para compensar su ausencia sea la agregación de otros oligosacáridos que tampoco sean digeridos a lo largo del tracto gastrointestinal y que, una vez en el intestino grueso, ejerzan un efecto prebiótico similar. Los carbohidratos no digeribles (CND) actualmente comercializados son los galactooligosacáridos (GOS), fructooligosacáridos (FOS) y la mezcla de éstos ⁽¹⁾.

A. Galactooligosacáridos (GOS)

Los galactooligosacáridos (GOS) están constituidos por monómeros de galactosa unidos a una unidad de glucosa en el extremo reductor, variando la extensión de la cadena entre dos y diez unidades. La fuente de obtención de estos oligosacáridos es la leche de animales, como vaca o cabra. Posteriormente, esta leche tiene que someterse a una transgalactosilación, que consiste en un conjunto de reacciones inter e intramoleculares en las que participan diferentes β -galactosidasas, las cuales definen el tipo de enlace glucosídico, que puede ser $\beta(1\rightarrow3)$, $\beta(1\rightarrow4)$ y/o $\beta(1\rightarrow6)$ (Figura 5) ^(1, 16).

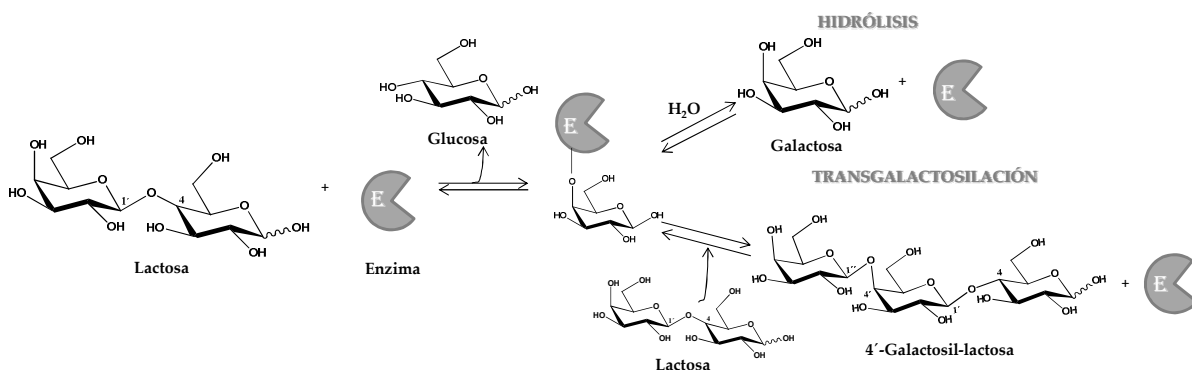


Figura 5. Mecanismo de la reacción sintética de GOS mediante β -galactosidasas ⁽¹⁶⁾

En cuanto a los efectos que tienen estos oligosacáridos ⁽¹⁾ destacan:

- Capacidad para modular la composición de la microbiota intestinal sin diferencias significativas con la leche materna cuando el preparado infantil contiene 2,4 g/L de GOS. De modo que favorecen el crecimiento y desarrollo de géneros de bacterias beneficiosas, como *Bifidobacterium* y *Lactobacillum*.
- Prevención de la adhesión de patógenos, al comportarse como receptores solubles que hacen de señuelo, evitando la adhesión de patógenos a las células del tracto gastrointestinal previniendo infecciones.
- Efectos directos sobre la respuesta de las células intestinales, como la estimulación de la función de barrera intestinal debido a la regulación al alza de genes asociados con la expresión de proteínas de la barrera intestinal y la ensambladura de la unión estrecha entre las células que la componen.

- Apoyo al sistema inmunitario sólo cuando la fórmula se combina con 2'-FL, disminuyendo las concentraciones de citoquinas proinflamatorias y TNF- α , no encontrándose diferencias significativas con lactantes alimentados con leche humana de forma exclusiva.

Además, a diferencia de los FOS, los GOS son estables a pH ácido (2,5-8) y temperaturas de procesamiento de pasteurización.

B. Fructooligosacáridos (FOS)

El término fructooligosacárido (FOS) engloba a un grupo heterogéneo de polisacáridos que tienen como estructura base una cadena lineal de unidades de fructosa con un residuo terminal de glucosa, unidos por enlace glucosídico $\beta(2\rightarrow1)$. Atendiendo al grado de polimerización se clasifican en: FOS de cadena corta (scFOS), cuando constan de 3 a 5 residuos por cadena, y FOS de cadena larga (lcFOS) cuando tienen entre seis y diez residuos. En cuanto a la fuente de obtención, ambos pueden producirse de manera enzimática a partir de la inulina presente en la raíz de la achicoria (Figura 6) y remolacha azucarera, pero sólo los lcFOS están presentes de forma natural, concretamente en la achicoria ⁽¹⁾.

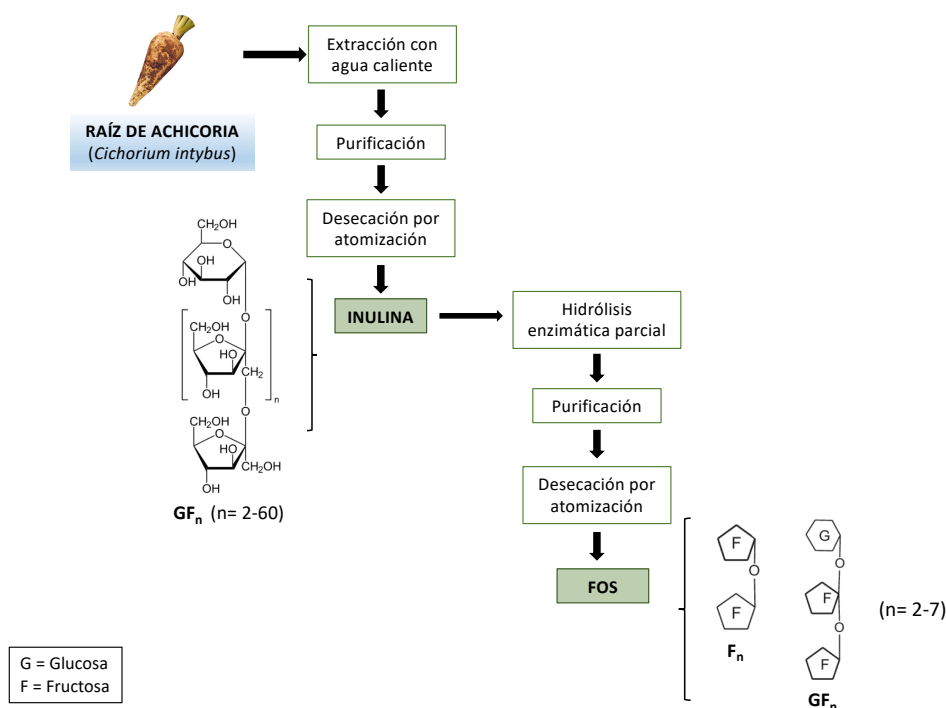


Figura 6. Obtención enzimática de FOS a partir de la raíz de achicoria

En comparación con los GOS, las funciones que tienen los FOS son menores:

- Influyen en la composición de la microbiota, pero el efecto prebiótico de los FOS es diferente según el grado de polimerización, scFOS estimula el crecimiento de bifidobacterias típicas de recién nacidos y lcFOS estimula la colonización por *B. adolescentis* ⁽¹⁾.
- Los scFOS presentan capacidad inmunoestimulante al inducir la expresión de la proteína de reconocimiento de peptidoglicano 3 (PGlyRP3), cuya activación disminuye la expresión de citoquinas proinflamatorias. Además, los scFOS también presentan funciones antipatógenas.

C. Mezcla GOS y FOS

Actualmente, gran parte de los preparados para lactantes no se suplementan de forma exclusiva con GOS o FOS, sino que llevan una mezcla de ambos en una proporción 9:1, respectivamente, para emular la distribución molecular y tamaño de los OLH ⁽¹⁾. La Comisión Europea recomienda no exceder de los 0,8g/100 ml de esta mezcla en las fórmulas de inicio.

4.3.3. Suplementación con bifidobacterias

Una de las principales funciones de los oligosacáridos de la leche humana es la estimulación de la colonización selectiva de poblaciones bacterianas beneficiosas, como bifidobacterias y lactobacilos. De manera que gran parte de las investigaciones se han centrado en añadir componentes prebióticos a las fórmulas infantiles, tales como GOS, FOS, OLH sintéticos, con el fin de lograr ese efecto.

Sin embargo, Bazanella *et al.* ⁽¹⁵⁾ realizaron un ensayo controlado aleatorizado para estudiar cuál sería el efecto de adicionar los preparados para lactantes con componentes probióticos en vez de prebióticos. Se demostró que las fórmulas suplementadas con bifidobacterias modulaban el microbioma infantil en las primeras etapas de la infancia, pero a largo plazo no se detectaba ningún efecto sobre la microbiota intestinal. Por tanto, esta suplementación no compensa las diferencias a nivel microbiológico entre la lactancia materna exclusiva y la alimentación con fórmulas sin suplementar.

4.4. PROMOCIÓN DE LA LACTANCIA MATERNA EXCLUSIVA

En la actualidad, se estima que alrededor de dos tercios de los lactantes menores de seis meses en países de ingresos medios y bajos se alimentan con lactancia mixta, siendo este número superior en países de ingresos altos ⁽⁸⁾. Esta práctica de alimentación deja en segunda posición a la lactancia materna exclusiva y, solo una minoría recibe una alimentación exclusiva basada en fórmulas infantiles.

Pese a que la lactancia materna exclusiva es considerada el método por excelencia de alimentación infantil, los datos anteriores reflejan que no es la práctica más común. Los principales factores que llevan a las madres lactantes a la suplementación y/o sustitución con preparados para lactantes son principalmente ⁽³⁾:

- Dificultad de conciliación de la lactancia materna.
- Falta de producción de leche.
- Percepción de suministro inadecuado de leche, muchas madres consideran que la dosis que recibe el bebé no es la suficiente para cubrir sus necesidades.
- Falta de experiencia o entendimiento de los padres.
- Falta de educación e información por los profesionales sanitarios.
- Exceso de pérdida de peso en las dos primeras semanas, en la mayoría de los casos se debe a la pérdida del exceso de líquido que llega al bebé durante el parto por una administración de líquidos por vía intravenosa a la madre. Se considera normal una pérdida del 10% del peso al nacer, que se suelen recuperar en las primeras dos semanas.

Asimismo, hay que tener en cuenta otros factores vinculados con la introducción temprana de fórmulas y la duración de la LME, como son la edad, estado socioeconómico, nivel educativo, demografía, cultura y fenotipos. Por tanto, el papel del profesional sanitario es

crucial en la detección de estos factores, para así poder abordar las inquietudes y proporcionar un asesoramiento personalizado para cada mujer.

En España, el Comité de Lactancia Materna (CLM) de la Asociación Española de Pediatría (AEP) es una figura muy importante en la promoción de la lactancia materna exclusiva mediante la difusión de información científica y actualizada; así como de la formación de los profesionales sanitarios (pediatras, enfermeros y farmacéuticos) ⁽⁷⁾, responsables de transmitir las ventajas que la LM presenta a nivel nutricional, inmunológico y emocional.

Además, el CLM colabora en el cumplimiento de las recomendaciones internacionales que apoyan la lactancia materna, como, por ejemplo, la iniciativa de la OMS en colaboración con UNICEF llamada *Diez pasos para una lactancia exitosa (Ten steps to successful breastfeeding)*. Este proyecto consiste en un paquete de medidas y políticas a implantar en los centros sanitarios para reformar las prácticas de atención actuales y conseguir una prevalencia óptima de la lactancia materna; la implementación de esta guía ha demostrado duplicar la tasa de LME ⁽³⁾.

En cuanto a los recién nacidos hospitalizados que no pueden ser amamantados por sus madres, una de las opciones que debe valorar el pediatra antes de la prescripción de una fórmula infantil es la posibilidad y disponibilidad de recomendar leche humana procedente de un Banco de Leche. Estos centros están especializados en la selección, recolección y procesamiento de leche materna donada, y su posterior conservación y distribución, garantizando su seguridad y calidad.

Por otra parte, cada vez la publicidad, tanto directa como indirecta, tiene más influencia en la toma de decisiones alimentarias, como puede ser el modo de alimentación del lactante. Debido a que la leche humana es el alimento de primera opción es importante que la decisión de la madre no se vea influida por fines comerciales. El Reglamento (UE) n° 609/2013 limita la publicidad de los preparados para lactantes a publicaciones científicas y a las especializadas en el cuidado de los niños, quedando prohibida su publicidad en los lugares de venta y cualquier otro medio de propaganda con el fin de no disuadir la lactancia materna ⁽¹¹⁾.

5. CONCLUSIONES

La lactancia materna exclusiva (LME) es el modo de alimentación supremo durante los seis primeros meses de vida, y es ventajoso mantenerla mientras se introduce la alimentación complementaria.

Los oligosacáridos de la leche humana (OLH) al estimular selectivamente el crecimiento de poblaciones bacterianas beneficiosas (bifidobacterias) junto con la microbiota asociada a la lactancia materna modulan la microbiota intestinal, cuyo establecimiento en los primeros meses de vida es crucial, y puede repercutir en la protección frente a enfermedades actuales y futuras, y en el correcto desarrollo y composición del neonato. Por tanto, la lactancia materna es muy importante en la salud del niño.

Se ha comprobado que la agregación de OLH sintéticos, como 2'FL y LNnT, y carbohidratos no digeribles a los preparados para lactantes puede suplir ciertos efectos de los OLH, pero no la totalidad de ellos. Además, la suplementación con bifidobacterias a las fórmulas no muestra ningún efecto sobre la microbiota intestinal.

Debido a los beneficios de la LME es necesaria su promoción por parte de los profesionales sanitarios mediante evidencias científicas durante el embarazo y la lactancia.

Además, hacen falta más estudios que investiguen la repercusión de la alimentación mixta en la colonización temprana de la microbiota intestinal, dado que la mayor parte de los estudios se han centrado en la comparación de la lactancia materna exclusiva y la alimentación exclusiva con fórmulas.

Hoy en día es muy común escuchar la expresión del antropólogo Ludwig Feuerbach “somos lo que comemos”, en vista a la reflexión anterior también se podría que somos las bacterias que nos colonizan.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Akkerman R, Faas MM, de Vos P. Non-digestible carbohydrates in infant formula as substitution for human milk oligosaccharide functions: Effects on microbiota and gut maturation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018; 15:1-12.
2. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, Belzer C, Delgado Palacio S, Arboleya Montes S, Mancabelli L, Lugli GA, Rodriguez JM, Bode L, de Vos W, Gueimonde M, Margolles A, van Sinderen D, Ventura M. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2017; 8;81(4).
3. O'Sullivan A, Farver M, Smilowitz JT. The Influence of Early Infant-Feeding Practices on the Intestinal Microbiome and Body Composition in Infants. *Nutr Metab Insights.* 2015; 8(Suppl 1):1-9.
4. Simpson MR, Avershina E, Storrø O, Johnsen R, Rudi K, Øien T. Breastfeeding-associated microbiota in human milk following supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* La-5, and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. *J Dairy Sci.* 2018; 101(2): 889-899.
5. Mulligan CM, Friedman JE. Maternal modifiers of the infant gut microbiota: metabolic consequences. *J Endocrinol.* 2017; 235(1): R1-R12.
6. Katayama T. Host-derived glycans serve as selected nutrients for the gut microbe: human milk oligosaccharides and bifidobacteria. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016; 80:621-32.
7. Kowalewska-Kantecka B. [Breastfeeding - an important element of health promotion]. *Dev Period Med.* 2016; 20(5): 354-357.
8. Brahm P, Valdés V. [The benefits of breastfeeding and associated risks of replacement with baby formulas]. *Rev Chil Pediatr.* 2017 Feb;88(1):7-14.
9. Jiménez AI. Nutrición en el primer año de vida del niño. En *Nutriguía. Manual de Nutrición Clínica.* Capítulo 3. Ortega RM y Requejo AM. 2a ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, S.A; 2015. pp. 41-53.

10. Organización Mundial de la Salud [Internet]. La lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses es lo mejor para todos los niños. [consultado 18 de abril 2019]. Disponible en:
https://www.who.int/mediacentre/news/statements/2011/breastfeeding_20110115/es/
11. Reglamento Delegado (UE) 2016/127 de la Comisión, de 25 de septiembre de 2015, que complementa el Reglamento (UE) nº 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a los requisitos específicos de composición e información aplicables a los preparados para lactantes y preparados de continuación, así como a los requisitos de información sobre los alimentos destinados a los lactantes y niños de corta edad. *Boletín Oficial del Estado*, 2 de febrero de 2016. 25: 1-29. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2016-80201> (último acceso 18 abril 2019).
12. Vandenplas Y, Berger B, Carnielli VP, Ksiazek J, Lagström H, Sanchez Luna M, Migacheva N, Mosselmans JM, Picaud JC, Possner M, Singhal A, Wabitsch M. Human Milk Oligosaccharides: 2'-Fucosyllactose (2'-FL) and Lacto-N-Neotetraose (LNnT) in Infant Formula. *Nutrients*. 2018;10: 1161.
13. Thompson AL, Monteagudo-Mera A, Cadenas MB, Lampl ML, Azcarate-Peril MA. Milk- and solid-feeding practices and daycare attendance are associated with differences in bacterial diversity, predominant communities, and metabolic and immune function of the infant gut microbiome. *Front Cell Infect Microbiol*. 2015; 5; 5:3.
14. Álvarez-Calatayud G, Guarner F, Requena T, Marcos A. [Diet and microbiota. Impact on health]. *Nutr Hosp*. 2018 Sep 7;35(Spec No6):11-15.
15. Bazanella M, Maier TV, Clavel T, Lagkouvardos I, Lucio M, Maldonado-Gómez MX, Autran C, Walter J, Bode L, Schmitt-Kopplin P, Haller D. Randomized controlled trial on the impact of early-life intervention with bifidobacteria on the healthy infant fecal microbiota and metabolome. *Am J Clin Nutr*. 2017;106(5):1274-1286.
16. Rodríguez-Colinas B. Obtención enzimática, caracterización y propiedades prebióticas de los oligosacáridos empleados en leche infantiles. [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2013.