

Prebióticos en salud infantil

Prebiotics in infant health

Dr. Fernando G. Chirido^a, Dra. Ana M. Menéndez^b, Dra. María L. Pita Martín de Portela^c, Dra. Patricia Sosa^d, Dra. María del C. Toca^d, Dra. Liliana Trifone^e y Dra. Carmen Vecchiarelli^f

RESUMEN

La composición de la leche materna es la base principal para el desarrollo de fórmulas infantiles en cuanto a su contenido de macronutrientes, micronutrientes y compuestos bioactivos. Los avances tecnológicos en el conocimiento de la composición de la leche materna han permitido identificar un gran número de componentes bioactivos, como los prebióticos, responsables de la protección inmunológica y de la prevención de diferentes patologías, lo cual ha llevado a su incorporación en las fórmulas infantiles para lograr beneficios similares.

Palabras clave: prebióticos, leche materna, inmunidad intestinal, recién nacidos, lactantes.

SUMMARY

The composition of human milk is the main base for the development of infant formulas concerning its macronutrients and micronutrients contents and bioactive compounds.

Technological advances in the composition of human milk have identified a great number of bioactive compounds such as prebiotics which are responsible for immunological protection and the prevention of different pathologies. In order to achieve similar benefits, they are part of the contents of infant formulas.

Key words: prebiotics, human milk, intestinal immunity, neonate, infants.

INTRODUCCIÓN

La adecuada nutrición es fundamental para mantener la salud en todas las edades. Durante el crecimiento y el desarrollo del niño, existen períodos vulnerables en los cuales los problemas nutricionales pueden dejar secuelas irreversibles.

La leche materna es un alimento complejo, ideal para la alimentación del niño; contiene los nutrientes necesarios para su crecimiento, desarrollo y maduración neurológica.¹ Entre los beneficios de la leche materna existen componentes con capacidad funcional, entre los que se encuentran los denominados prebióticos. Éstos estimulan en el colon el desarrollo de microbiota beneficiosa y modulan el sistema inmunitario, lo cual disminuye la incidencia de procesos infecciosos o

alérgicos que comprometen el normal crecimiento y desarrollo del niño, y contribuye a mantener su salud.²

La identificación de dichos componentes bioactivos promovió su incorporación en las fórmulas infantiles para obtener beneficios similares.

Definición

Prebiótico es todo ingrediente alimentario, no digerible, que estimula selectivamente el crecimiento o la actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon y beneficia la salud del huésped.³⁻⁵

Debe poseer tres características fundamentales: a) resistencia a la digestión en el intestino delgado; b) fermentación parcial por bacterias en el intestino grueso; c) estimulación selectiva de la actividad de una o de un número limitado de bacterias en el intestino grueso.⁶

Composición química

Se consideran prebióticos a los oligosacáridos (OS) que contienen 3-30 moléculas de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos. Existen diferentes tipos y fuentes naturales de OS (Tabla 1).⁷

Tabla 1. Oligosacáridos presentes en los alimentos

Oligosacáridos (OS)	Fuente
Fructo OS (FOS) (levanos e inulina)	Achicoria, cebolla, ajo, alcachofa, yacón, puerro, espárragos, etc.
Galacto OS (GOS)	Beta GOS (leche). Alfa GOS (legumbres).
Xilo OS (XOS)	Frutas, verduras, miel, leche.
Isomalto-oligosacáridos (IMOS)	Soja, miel.

- a. Laboratorio de Investigación en el Sistema Inmune LISIN. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP. La Plata.
- b. Cátedra de Farmacia Hospitalaria y Clínica. Facultad de Farmacia, Universidad de Belgrano.
- c. Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.
- d. Servicio de Pediatría. Hospital Nacional Prof. Dr. Alejandro Posadas.
- e. Servicio de Nutrición. Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez.
- f. Servicio de Neonatología. Sanatorio Otamendi.

Correspondencia:
Dra. Carmen Vecchiarelli
c.vecchiarelli@gmail.com

Conflicto de intereses: La empresa Nutricia Bagó financió las reuniones para la discusión y elaboración del manuscrito, así como parte de la búsqueda bibliográfica. La empresa no participó de las reuniones ni tuvo control alguno sobre la redacción y el contenido del trabajo. Ninguno de los autores tiene relación comercial con la empresa.

Recibido: 24-8-10
Aceptado: 3-11-10

Los galactooligosacáridos (GOS) están presentes en la leche materna. Las moléculas de galactosa están unidas a la glucosa mediante enlaces glucosídicos β 1-4 (β GOS). También se encuentran en legumbres, como la soja (α GOS), de donde se extraen para comercializarlos.⁵

Los transgalactooligosacáridos (TOS/GOS) son patentes de la industria farmacéutica; algunos están autorizados para incorporarlos a fórmulas infantiles.⁸

La lactulosa es un disacárido de síntesis formado por galactosa-fructosa, aceptado y utilizado como prebiótico.

Efectos sobre la microbiota intestinal

Los prebióticos estimulan selectivamente el crecimiento de *bifidobacterias* y *lactobacilos*, productores de sustancias inhibitoras del crecimiento y supervivencia de patógenos.^{3,9,10}

La fermentación parcial de los OS por parte de las *bifidobacterias* produce ácidos grasos de cadena corta, como butirato, propionato, L-lactato y acetato. Los tres primeros favorecen el crecimiento y la diferenciación de células epiteliales *in vivo*. El butirato constituye una importante fuente energética para el colonocito.¹⁰ La acidificación del medio colónico, inhibe el crecimiento de *bacteroides*, *clostridium* y *coliformes*, y favorece la producción de mucina, lo que disminuye la colonización y translocación bacterianas.

Los prebióticos compiten con bacterias patógenas por los sitios de unión del epitelio intestinal.⁹

Al estimular el desarrollo de *bifidobacterias* aumentan la síntesis de vitaminas B₆, B₁₂, tiamina, ácido fólico y ácido nicotínico.¹¹ El bajo pH aumenta la absorción de minerales (calcio, hierro y zinc) por difusión pasiva.¹²

Prebióticos en la leche materna

En la leche materna se encuentran diferentes OS con función prebiótica. La lactosa, el principal carbohidrato, es su precursor. Por adición de monosacáridos (galactosa [Gal] y N-acetilglucosamina [GlcNAc]) en unión β -glucosídica, se originan los β -galactooligosacáridos (β -GOS).^{13,14} Sobre estos oligosacáridos primarios se incorporan: fucosa que da origen a oligosacáridos neutros (fucosilados) o ácido siálico (ácido acetilneuramínico) que produce oligosacáridos ácidos (sialilados).^{13,15-17}

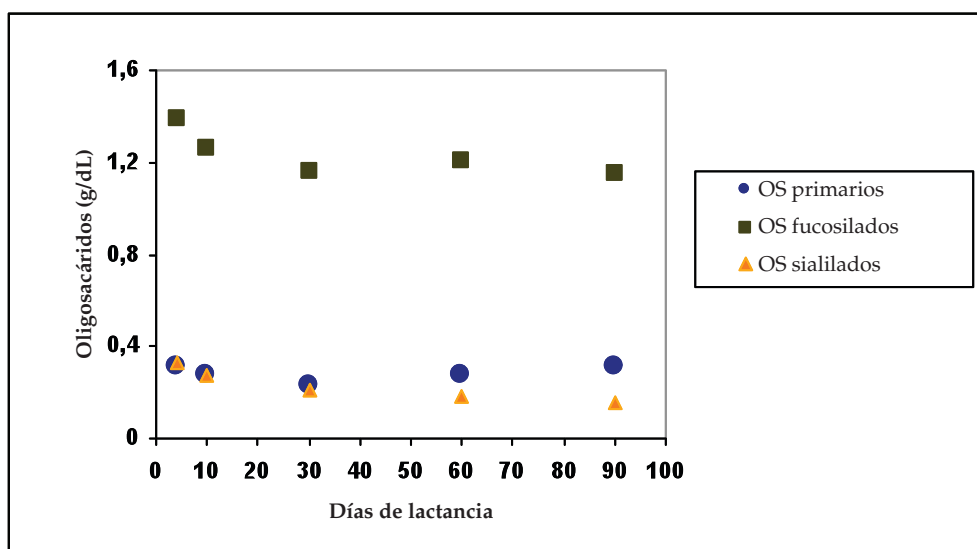
La unión β -glucosídica de los OS no es hidrolizada en el intestino delgado. En cambio, las bacterias del intestino grueso producen enzimas capaces de hidrolizarla. No obstante, pueden detectarse algunos OS en las heces de niños alimentados con leche materna.

Los oligosacáridos de la leche materna (β -GOS) aparecen en concentraciones de 2,2-2,4 g/dl en el calostro y disminuyen en la leche madura.^{2,18} El 60-70% son oligosacáridos fucosilados¹⁵ (Figura 1).

Prebióticos en fórmulas infantiles

Los prebióticos más utilizados en fórmulas infantiles son fructooligosacáridos (FOS) y GOS (obtenidos por transfructosilación de la saca-

FIGURA 1. Oligosacáridos (OS) en leche materna en función del tiempo de lactancia



rosa y por fermentación de la lactosa del suero lácteo, respectivamente). Las fórmulas infantiles se modifican en forma constante y aparecen nuevas; actualmente algunas empresas cuentan con fórmulas infantiles que contienen prebióticos (Tabla 2).

Estudios *in vitro* mostraron que la relación GOS/FOS (90:10) (90% GOS de cadena corta y 10% FOS de cadena larga) tiene una distribución de tamaño molecular similar a la de los OS de la leche materna. Esta combinación favorece el desarrollo de una flora intestinal semejante a la que se encuentra en lactantes alimentados con leche materna, con predominio de *bifidobacterias* y *lactobacilos*.¹⁹

Diversos estudios muestran que la dosis óptima de la mezcla de GOS/FOS es 0,8%.¹⁹ Sin embargo, se han propuesto dosis menores de GOS, que si bien favorecen la microbiota intestinal, no presentan los mismos efectos beneficiosos sobre la consistencia de las heces.²⁰

Flora comensal y sistema inmunitario intestinal

El intestino humano contiene la mayor cantidad de células del sistema inmunitario en el organismo. Estas se encuentran en permanente interacción con la flora comensal.²¹

Flora intestinal

La fuente original de una microbiota intestinal saludable deriva de la madre. El neonato proviene de un ambiente intrauterino estéril y se enfrenta a un mundo extrauterino poblado de microorganismos. El proceso de colonización comienza en las primeras horas de la vida, lo cual favorece el desarrollo inmunológico.¹¹ La dieta, el medio ambiente, factores de estrés de la madre y el nacimiento del niño (parto) influyen en la composición de la flora intestinal materna y, como consecuencia, en el inóculo transferido al niño al nacer.¹² Otros factores son: edad gestacional, modo del parto y alimentación del recién nacido.¹¹

Los niños nacidos de parto vaginal son colonizados por microorganismos de origen intestinal/vaginal/cutáneo maternos. Primero se establecen los anaerobios facultativos (bacterias entéricas, enterococos y estafilococos) que consumen oxígeno y crean un medio adecuado al desarrollo de la flora bifidogénica (anaerobios estrictos: *bifidobacterium* y *bacteroides*).¹¹ Estas bacterias se instalan con la lactancia materna en la primera semana de vida y constituyen 60-90% del total de la microbiota intestinal.¹² En el parto por cesárea, el niño no contacta con la flora vaginal/intestinal materna, lo cual retrasa la colonización intestinal.²²

TABLA 2. Oligosacáridos en leche materna y en fórmulas infantiles del mercado argentino

Fórmula	Empresa	FOS g/dl	GOS g/dl
Leche materna		No contiene	β GOS (ver texto)
Crece [®]	La Serenísima	0,5%	No contiene
Nido [®]	Nestlé	0,45% [Oligofruktosa: 70% Inulina: 30%]	No contiene
Nutrilon [®]			
Etapas 1, 2 y 3		0,08	0,72
Nutrilon HA	Nutricia-Bagó	0,08	0,72
Nutrilon Comfort		0,08	0,72
Nutrilon prematuros 1		0,08	0,72
Sancor bebé plus [®]			
Etapa 1		No contiene	0,4
Etapa 2	Sancor	0,4	No contiene
Etapa 3		0,5	No contiene
Enfamil 1 con Lipil	Mead	No contiene	0,33
Enfamil 2 con Lipil	Johnson	No contiene	0,33

FOS: fructooligosacáridos.

GOS: galactooligosacáridos.

La flora de los niños alimentados con fórmulas lácteas sin prebióticos, difiere de la de los alimentados con leche materna, por ausencia de los oligosacáridos que favorecen el desarrollo de *bifidobacterias* y *lactobacilos*.¹² La microbiota es más compleja y con un menor número de *bifidobacterias*.^{11,23}

La colonización con *bifidobacterias* y *lactobacilos* se retrasa en niños pretérmino internados,²⁴ es marcadamente reducida y con tendencia a ser patógena.²⁵

La flora intestinal evoluciona durante los primeros dos años hasta hacerse estable y definitiva.¹² Puede persistir hasta la etapa adulta, de allí la importancia de establecer una flora intestinal bifidogénica durante el período de lactancia.¹²

Sistema inmunitario intestinal

El epitelio del tracto gastrointestinal presenta barreras fisicoquímicas y biológicas. El objetivo central de la mucosa intestinal es la protección frente a microorganismos patógenos en la mayor superficie expuesta del organismo.

Simultáneamente, la respuesta regulatoria mantiene una adecuada reacción frente a los microorganismos comensales y los antígenos dietarios. Estas dos formas de respuesta deben ser finamente reguladas; cualquier desequilibrio conduce a una respuesta no efectiva o patológica (como enfermedad celíaca, alergia alimentaria y enfermedad inflamatoria intestinal).^{26,27}

Dada la continua exposición a microorganismos, el epitelio intestinal posee diferentes estrategias de defensa: secreción de glucoproteínas que forman el mucus y una variedad de péptidos antimicrobianos (defensinas α y β , lisozima, lactoferrina, lactoperoxidasa); secreción de factores solubles como las citoquinas proinflamatorias (IL-1 α , IL-1 β , IL-15, TNF α e IL-6), citoquinas antiinflamatorias (TGF β e IL-10), factores de diferenciación de linfocitos T (IL-7 e IL-15).^{27,28}

La IgA secretoria es producida mayoritariamente en forma local e inducida por citoquinas, como TGF β , IL-5, IL-6 e IL-10. La IgA es uno de los principales mecanismos de defensa en la mucosa intestinal. Resiste la intensa actividad proteolítica del lumen intestinal. Su función más importante es evitar la adhesión de antígenos a la superficie del enterocito mediante la formación de complejos inmunitarios de gran tamaño, que son retenidos en la capa de mucus.

De esta manera, neutraliza toxinas, virus y microorganismos.²⁹

Evidencias clínicas sobre efectos de los prebióticos en neonatos a término, prematuros y lactantes

A partir del año 2004 se publicaron estudios con distinto nivel de evidencia sobre los beneficios de incorporar prebióticos en las fórmulas infantiles. Se mostró el efecto bifidogénico de los prebióticos en la embarazada, en prematuros y en recién nacidos.³⁰ La incorporación de GOS/FOS en el último trimestre del embarazo tiene efecto en la flora materna sin repercusión en la flora del neonato.³¹

El efecto bifidogénico se evaluó en neonatos de término, con el agregado en la fórmula de GOS/FOS a dosis diferentes, contra placebo. El número de *bifidobacterias* fue similar en ambos grupos el día 1; aumentó significativamente el día 28 en el grupo intervenido y con la mayor dosis. El pH y la consistencia de las deposiciones disminuyeron significativamente en relación al placebo y a la dosis. La frecuencia de las heces aumentó en función de la mayor dosis.¹⁹

Una revisión sistemática sobre eficacia y seguridad del agregado de prebióticos en fórmulas infantiles en neonatos a término, analizó el efecto bifidogénico en 11 estudios, sobre 1459 niños de 28 días de vida, comparando una fórmula estándar contra fórmula con prebióticos durante dos semanas. No hubo diferencias estadísticamente significativas en relación a diarrea, eczema o irritabilidad. En 10 estudios se describió alta tolerancia a la fórmula con prebióticos. En 6 estudios, los prebióticos se asociaron a incremento significativo del número de *bifidobacterias* y reducción del pH de las deposiciones, sin diferencias en su consistencia y frecuencia.³²

Prematuros

Un estudio llevado a cabo en 42 prematuros, evaluó el efecto bifidogénico de la mezcla GOS/FOS (90:10) en leche de fórmula contra fórmula suplementada con maltodextrina en referencia a un grupo que recibió leche materna. Los prebióticos favorecieron el crecimiento de bifidobacterias intestinales. No hubo diferencias en el crecimiento.³³

Un estudio piloto a doble ciego, controlado con placebo, luego de 15 días de la incorporación de GOS/FOS, evaluó la motilidad gástrica por electrogastrografía y el vaciamiento gástrico por ecografía. En el grupo con prebióticos se observó mayor actividad eléctrica, que estimuló del vaciamiento gástrico.³⁴

Una revisión sistemática, solamente de estudios aleatorizados y controlados (cuatro en total), evaluó la eficacia y seguridad de suplementar fórmulas lácteas con prebióticos dentro de los primeros 28 días de vida y hasta las dos semanas posteriores a la inclusión en el estudio. Se analizó incidencia de enterocolitis y sepsis, colonización intestinal, viscosidad de las deposiciones, tiempo de tránsito intestinal, tolerancia alimentaria y antropometría. Se describió un único caso de enterocolitis necrozante. Dos estudios demostraron un significativo incremento de *bifidobacterias* y *lactobacilos* en la flora intestinal.³⁵

Un estudio piloto reciente, prospectivo, a doble ciego y controlado con placebo evaluó la seguridad y el efecto prebiótico de la lactulosa al 1%, en prematuros de 23-24 semanas contra dextrosa al 1% como placebo.³⁶ Esta baja dosis de lactulosa no provocó diarrea y mostró mayor número de colonias y aparición más temprana de lactobacilos en las deposiciones; mejor tolerancia alimentaria, aporte enteral completo y alta más temprana. Se registraron mejores valores de calcio y proteínas totales, menor número de episodios de sepsis y menor gravedad de enterocolitis necrozante.

Alergia e infecciones intestinales

Un estudio a doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo, en 84 niños con antecedentes familiares de alergia, evaluó la respuesta inmunitaria luego de administrar durante seis meses una fórmula con GOS/FOS (0,8 g/dl) contra otra hipoalérgica.³⁷ A los 3 meses de edad, los niños fueron vacunados con DPT. Se mostró que el agregado de prebióticos puede modular los niveles de IgG₁ específica de proteínas de la leche de vaca, mientras se mantiene intacta la respuesta a la vacunación con DPT.

La concentración de IgA secretoria y la composición de la microbiota fecal se evaluaron en un estudio a doble ciego, controlado y aleatorizado, en 215 niños sanos que recibían fórmula estándar contra fórmula con GOS/FOS (9:1) durante las primeras 28 semanas de vida. Se encontró mayor concentración de IgA secretoria en materia fecal y mayor número de *bifidobacterias*, con una significativa reducción de *Clostridium* en el grupo que recibió GOS/FOS respecto del control.³⁸ El aumento de IgA secretoria en materia fecal a las 16 semanas de vida fue también observado en un estudio que comparó recién nacidos de término que recibieron prebióticos (GOS/FOS 9:1) contra fórmula estándar o probióticos.³⁹

Un estudio, prospectivo, a doble ciego, rea-

lizado durante seis meses, evaluó la incidencia de manifestaciones alérgicas, infecciones intestinales y extraintestinales en lactantes con antecedentes familiares de alergia, alimentados con fórmula hipoalérgica contra fórmula hipoalérgica más prebióticos (0,8 g/dl GOS/FOS). El grupo con prebióticos mostró menor número de episodios de fiebre, una tendencia a menor número de infecciones y mayor número de bifidobacterias en heces. La incidencia acumulativa de recurrencia de infecciones del tracto urinario inferior fue menor.⁴⁰

En el mismo grupo de niños en los dos primeros años de vida, la incidencia acumulativa de dermatitis atópica, urticaria, número de infecciones y episodios de fiebre, fue significativamente menor en el grupo con prebióticos.⁴¹

Un estudio prospectivo, de casos y controles, aleatorizado, comparó el efecto del uso de fórmula con prebióticos (GOS/FOS 0,4 g/dl) contra fórmula estándar en 342 niños de término, en relación a la incidencia de diarrea o infecciones respiratorias altas y bajas hasta el año de vida. Los niños que recibieron prebióticos, presentaron menos episodios de diarrea, menor frecuencia de sepsis y menor recurrencia de infecciones del tracto respiratorio superior. No se detectaron efectos adversos en el grupo con prebióticos.⁴²

En un estudio doble ciego⁴³ se evaluó en niños de término, desde el día 14 al 120 de vida, el efecto de administrar fórmulas con 0,4% de povidexrosa/GOS (50:50), 0,8% de povidexrosa/GOS/lactulosa (50:33:17) o fórmula estándar. Se evaluaron: llanto, regurgitación, vómitos, características de las deposiciones y presencia de eczema atópico. No se encontraron diferencias significativas, aunque se describió mayor irritabilidad en los niños con fórmulas sin prebióticos.

Una revisión de 7 estudios que comparó el uso de prebióticos en fórmulas lácteas contra estándar, no aportó suficiente evidencia sobre la prevención o el tratamiento de la dermatitis atópica.⁴⁴

Otra revisión de 7 estudios aleatorizados o cuasi-aleatorizados sobre el uso de prebióticos en la prevención de enfermedades alérgicas o hipersensibilidad alimentaria en lactantes, comparado con fórmulas estándar o hipoalérgicas, mostró evidencia insuficiente para concluir que el uso de prebióticos tiene efecto positivo en la prevención o tratamiento de eczema.⁴⁵

Un estudio realizado durante 6 meses en niños con antecedentes familiares de alergia alimentados con fórmula con GOS/FOS (0,6 g/dl) contra estándar, mostró una disminución en la

prevalencia de dermatitis atópica en el grupo con prebióticos, sin diferencias en la gravedad de la dermatitis.⁴⁶

Existen escasos estudios sobre el efecto de los prebióticos en patologías específicas como VIH-SIDA. Un estudio en una población de niños desnutridos con SIDA, no encontró diferencias clínicas significativas con la administración de fórmula con prebióticos.⁴⁷

El efecto de las fórmulas con prebióticos en la enfermedad inflamatoria intestinal (colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn o pouchitis) ha sido poco investigado. Un estudio experimental mostró un efecto protector en la composición de la microflora.⁴⁸

CONCLUSIONES

- La leche materna es el alimento ideal para el adecuado crecimiento, desarrollo y salud del niño, contiene sustancias bioactivas, como proteínas (IgA, lisozima, lactoferrina), células (macrófagos, linfocitos, neutrófilos) y los prebióticos que favorecen el crecimiento de una flora beneficiosa.
- Los trabajos publicados hasta ahora, sobre el efecto de fórmulas lácteas con 0,2-1,2 g/dl de prebióticos de variado origen, muestran que el agregado de prebióticos no interfiere en el crecimiento de los niños de término o prematuros, ni tiene efectos adversos.
- El agregado de prebióticos en las fórmulas produjo aumento de ácidos grasos de cadena corta y disminución del pH intestinal con deposiciones de consistencia similar a la de los niños amamantados, en nacidos a término y en prematuros.
- La mezcla GOS/FOS (9:1), en dosis de 0,8 g/dl, ha demostrado un efecto prebiótico similar al de la leche materna en relación a la microbiota intestinal, lo cual favorece el crecimiento de *bifidobacterias* y *lactobacilos*.
- La disminución de la incidencia de infecciones intestinales y extraintestinales observada al administrar fórmulas con prebióticos en lactantes es, en principio, secundaria a su acción moduladora en la microbiota intestinal, más que un efecto propio.
- El uso de fórmulas con prebióticos puede disminuir la incidencia de dermatitis atópica.
- Cuando la lactancia materna no es posible, la utilización temprana de fórmulas con prebióticos puede beneficiar la salud de los niños. ■

BIBLIOGRAFÍA

1. Macías SM, Rodríguez S, Ronayne de Ferrer PA. Leche materna: composición y factores condicionantes de la lactancia. *Arch Argent Pediatr* 2006; 104(5):423-430.
2. Boehm G, Stahl B. Oligosaccharides from milk. *J Nutr* 2007; 137(3 Suppl 2):847S-849S.
3. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125(6):1401-12.
4. Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 1995; 108(4):975-982.
5. Gibson GR. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clin Nutr Supplements* 2004; (Suppl 1):25-31.
6. Roberfroid M. Prebiotics: the concept revisited. *J Nutr* 2007; 137(3 Suppl 2):830S-837S.
7. Madrigal L, Sangronis E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Arch Latinoam Nutr* 2007; 57(4):387-396.
8. Agostini C, Axelsson I, Goulet O, Koletzko B, et al. Prebiotic oligosaccharides in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 2004; 39(5):465-473.
9. Jenkins DJ, Kendall CW, Vuksan V. Inulin, oligofructose and intestinal function. *J Nutr* 1999; 129(suppl 7):1431s-1433s.
10. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rostall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 2004; 17(2):259-275.
11. Rummelle FM, Bier D, Marteau P, Rechkemmer G, et al. Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 2009; 48(2):126-141.
12. Salminen S, Isolauri E. Intestinal colonization, microbiota and probiotics. *J Pediatr* 2006; 149(Suppl 5):S115-S120.
13. Gudiel-Urbano ME, Goñi I. Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante. *Arch Latinoam Nutr* 2001; 51(4):332-339.
14. Vitoria Miñana I. Oligosacáridos en la leche humana. *Acta Pediatr Esp* 2007; 65(3):129-133.
15. Coppa GV, Pierani P, Zampin L, Carloni I, et al. Oligosaccharides in human milk during different phases of lactation. *Acta Paediatr* 1999; 88(Suppl 430):89-94.
16. Kúnz C, Rudloff S. Biological functions of oligosaccharides in human milk. *Acta Paediatr* 1993; 82(11):903-912.
17. McVeagh P, Miller JB. Human milk oligosaccharides: Only the breast. *J Paediatr Child Health* 1997; 33(4):281-286.
18. Boehm G, Moro G. Structural and functional aspects of prebiotics used in infant nutrition. *J Nutr* 2008; 138(9):1818S-1828S.
19. Moro G, Minoli I, Mosca M, Fanaro S, et al. Dosage-related bifidogenic effects of galacto and fructooligosaccharide in formula-fed term infants. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 2002; 34(3):291-295.
20. Bruzzese E, Volpicelli M, Squaglia M, Tartaglione A, Guarino A. Impact of prebiotics on human health. *Dig Liver Dis* 2006; 38(Suppl 2):S283-7.
21. Hooper LV, MacPherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(3):159-169.
22. Amarri S, Benatti F, Callegari ML, Shakhkhalili Y, et al. Changes of gut microbiota and immune markers during the complementary feeding period in healthy breast-fed infants. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 2006; 42(5):488-495.
23. Claud E, Walker WA. Bacterial colonization, Probiotics and necrotizing enterocolitis. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42(Suppl 2):S46-S52.

24. Westerbeek E, van der Berg A, Lafeber HN, Knol J, et al. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: A review of the literature. *Clin Nutr* 2006; 25(3):361-368.
25. Schwartz A, Gruhl B, Löbnita M, Michel P, et al. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatr Res* 2003; 54(3):393-9.
26. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003; 3(4):331-341.
27. Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(6):411-420.
28. Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(2):131-143.
29. Fagarasan S, Kawamoto S, Kanagawa O, Suzuki K. Adaptive immune regulation in the gut: T cell- dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Annu Rev Immunol* 2010; 28:243-273.
30. Moreno Villares JM. Prebióticos en las fórmulas para lactantes ¿Podemos modificar la respuesta inmune? *An Pediatr (Barc)*. 2008; 68(3):286-294.
31. Shadid R, Haarmann M, Knol J, Theis W, et al. Effects of galactosaoigosaccharide and long-chain fructooligosaccharide supplementation during pregnancy on maternal and neonatal microbiota and immunity a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Am J Clin Nutr* 2007; 86(5):1426-1437.
32. Rao S, Srinivasjois R, Patole S. Prebiotic supplementation in full-term neonates: a systematic review of randomized controlled trials. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009; 163(8):755-764.
33. Boehm G, Lidestri M, Casetta P, Jelinek J, et al. Supplementation of a bovine milk formula with an oligosaccharide mixture increases counts of faecal bifidobacteria in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatol Ed* 2002; 86:F178-F181.
34. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Francavilla R, et al. Prebiotics improve gastric motility and gastric electrical activity in preterm newborn. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 49(2):258-261.
35. Srinivasjois R, Rao S, Patole S. Prebiotic supplementation of formula in preterm neonates: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Clin Nutrition* 2009; 28(3):237-242.
36. Riskin A, Hochwald O, Bader D, Srugo I, et al. The effects of lactulose supplementation to enteral feedings in premature infants: A Pilot Study. *J Pediatr* 2010; 156(2):209-214.
37. van Hoffen E, Ruiter B, Faber JM, Rabet L, et al. A specific mixture of short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides induces a beneficial immunoglobulin profile in infants at high risk for allergy. *Allergy* 2009; 64(3):484-487.
38. Scholtens J, Allier P, Raes M, Alles MS, et al. Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides. *J Nutr* 2008; 138(6):1141-1147.
39. Bakker-Zierikzee AM, van Tol EA, Kroes H, Alles MS, et al. Faecals IgA secretion in infants fed on pre- or probiotic infant formula. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17(2):134-140.
40. Arslanoglu S, Moro GE, Boehm G. Early supplementation of prebiotic oligosaccharides protects formula-fed infants against infections during the first 6 months of life. *J Nutr* 2007; 137(11):2420-2424.
41. Arslanoglu S, Moro GE, Schmitt J, Tandoi L, et al. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J Nutr* 2008; 138(6):1091-1095.
42. Bruzzese E, Volpicelli M, Squeglia V, Bruzzese D, et al. A formula containing galacto-and fructo-oligosaccharides prevents intestinal and extra-intestinal infections: an observational study. *Clin Nutr* 2009; 28(2):156-61.
43. Ziegler E, Vanderhoof JA, Pestchow B, Mitmesser SH, et al. Term infants fed formula supplemented with selected blends of prebiotics grow normally and have soft stools similar to those reported for breast -fed infant. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 44(3):359-64.
44. van der Aa LB, Heymans HS, van Aalderen WM, Sprinkelman AB. Probiotics and prebiotics in atopic dermatitis: review of the theoretical background and clinical evidence. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21(2 Pt 2):e355-67.
45. Osborn DA, Sinn JK. Prebiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. *Cochrane Database of Syst Rev* 2007; 17(4):CD006474.
46. Moro G, Arslanoglu S, Stahl B, Jelinek J, et al. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Arch Dis Child* 2006; 91(10):814-9.
47. Kerac M, Bunn J, Seal A, Thindwa M, et al. Probiotics and prebiotics for severe acute malnutrition (PRONUT study): a double blind efficacy randomised controlled trial in Malawi. *Lancet* 2009; 374(9684):136-144.
48. Looijer-van Langen MA, Dieleman LA. Prebiotics in chronic intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15(3):454-62.