

Probióticos para el binomio madre-hijo (y II)

J.M. Rodríguez, J. Dalmau¹

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid.

¹Unidad de Nutrición y Metabolopatías. Hospital Infantil «La Fe». Valencia

Resumen

En esta parte del trabajo se revisan los conocimientos actuales sobre aplicación de probióticos en niños prematuros y en mujeres embarazadas y lactantes. Los estudios de administración de cepas probióticas a prematuros son relativamente escasos, aunque, en general, indican que la incidencia de enterocolitis necrosante y septicemia es menor en prematuros a los que se les administra un probiótico. En cualquier caso, las cepas empleadas hasta la fecha han demostrado ser seguras en estos hospedadores tan sensibles a las enfermedades infecciosas. De hecho, el éxito del método de la madre canguro, en el que los prematuros están expuestos a las bacterias comensales y probióticas de la leche materna, confirma los beneficios del contacto precoz con este tipo de agentes. En cuanto a los niños con síndrome de intestino corto, resulta sorprendente que la administración de ciertos lactobacilos productores de D-lactato no sólo no es perjudicial, sino que conduce a una remisión de la sintomatología más rápida que cuando se administran cepas probióticas que exclusivamente producen L-lactato. Finalmente, las mujeres embarazadas y los lactantes constituyen una población en la que la administración de probióticos podría resultar de particular interés, dado que la modulación de sus microbiotas digestiva, mamaria y urogenital puede tener una importante repercusión sobre la salud del binomio madre-hijo.

Palabras clave

Probióticos, prematuros, embarazo, lactancia, método de la madre canguro

Abstract

Title: Probiotics for the mother-infant dyad (and II)

In this part, the application of probiotics in preterm neonates and pregnant and lactating women is reviewed. There are few studies on the administration of probiotic strains to preterm infants, but, in general, they indicate that the rates of necrotizing enterocolitis and septicemia are lower among those receiving probiotics. In addition, the probiotic strains used in studies of this type have been shown to be safe in these immunocompromised hosts. In fact, the rapid spread of the kangaroo mother method, in which preterm infants are exposed to the commensal and probiotic bacteria existing in human milk, confirms the benefits derived from early contact with such bacterial agents. With respect to preterm infants with short bowel syndrome, it proves surprising that the administration of D-lactate-producing lactobacilli leads to a more rapid alleviation of the symptoms when compared with strains that exclusively produce L-lactate. Finally, pregnant and lactating women constitute a population in which the use of probiotics seems particularly interesting since the modulation of their gastrointestinal, mammary and/or urogenital microbiotas may have an important impact on the health of the mother-infant dyad.

Keywords

Probiotics, preterm infants, pregnancy, lactation, kangaroo mother method

Probióticos y prematuros

La microbiota intestinal de los prematuros difiere notablemente de la de los niños a término, un hecho atribuible a las diferencias en alimentación, manejo y medicación. El ambiente de las unidades de cuidados intensivos (UCI) neonatales predispone a los prematuros a sufrir infecciones nosocomiales, frecuentemente por bacterias con multirresistencias a antibióticos y, en tales circunstancias, los probióticos pueden contribuir a reducir la mortalidad y la morbilidad mediante la inhibición de la proliferación de bacterias patógenas. Los estudios de administración de cepas probióticas a prematuros son relativamente escasos y se han ceñido a la rastreabilidad de las bacterias

suministradas y/o a su papel en la prevención de la enterocolitis necrosante y de diversas infecciones.

Enterocolitis necrosante

Es una enfermedad que afecta fundamentalmente a prematuros de bajo peso, y se caracteriza por procesos de ulceración y necrosis intestinal. La tasa de mortalidad es elevada y puede alcanzar hasta al 35% de los niños afectados. Todavía no se conoce exactamente su etiología, aunque, además de la prematuridad, hay al menos otros tres factores esenciales para su desarrollo: a) situación de isquemia e hipoxia intestinal; b) alimentación con fórmula, y c) una microbiota intestinal aberrante, en la que predominan bacterias propias del ámbito hospita-

lario, las cuales tienen potencial para actuar como patógenos en hospedadores sensibles, como es el caso. Esta última circunstancia ha llevado a pensar que los probióticos podrían contribuir al tratamiento y/o prevención de esta enfermedad. En general, la incidencia de enterocolitis necrosante y septicemia es menor en prematuros a los que se les administra un probiótico^{1,2}, pero en algunos casos las diferencias con los respectivos grupos placebo no son estadísticamente significativas³, por lo que serán necesarios más estudios para obtener conclusiones. En cualquier caso, las cepas de lactobacilos y bifidobacterias empleadas hasta la fecha han mostrado ser seguras en estos hospedadores inmunodeprimidos, y su uso nunca ha tenido consecuencias negativas. Este hecho puede contribuir a acabar con algunos «tabúes microbiológicos» ampliamente difundidos entre neonatólogos y pediatras. En cualquier caso, las bacterias lácticas presentes de forma natural en la leche humana pueden constituir una alternativa muy interesante a las cepas utilizadas hasta la fecha y podrían explicar, al menos parcialmente, por qué la incidencia de esta enfermedad es muy baja en los prematuros de bajo peso alimentados con leche materna.

Síndrome de intestino corto

Deriva de la pérdida anatómica o funcional de un tramo importante del intestino delgado y, por tanto, de la superficie de absorción, lo que da lugar a un cuadro de malabsorción de vitaminas, minerales y oligoelementos, junto con una alteración del equilibrio hidroelectrolítico del organismo. En pediatría, la mayoría de los casos de síndrome de intestino corto se observan en el periodo neonatal, y las causas más frecuentes son la enterocolitis necrosante, las anomalías vasculares congénitas, los defectos de la pared intestinal o la atresia yeyuno-íleon. El tratamiento de pacientes con síndrome de intestino corto incluye la prevención y el control de las infecciones, el mantenimiento del balance hidroelectrolítico y el soporte nutricional. Aunque hay datos discrepantes sobre la longitud media del intestino delgado, en general se acepta que es de aproximadamente 140 cm en niños de 19-27 semanas, de 180 cm en niños de 32 semanas y de 220 cm en los de 35 semanas o más. En general, se acepta como síndrome de intestino corto cualquier longitud inferior al 30% de lo que correspondería para la edad. No obstante, la cantidad que se debe perder para que se produzca la malabsorción depende de la parte de intestino afectada y de si afecta o no a la válvula ileocecal, ya que se trata de una importante barrera de contención para las bacterias. Los niños con este síndrome presentan una escasa motilidad intestinal y una dilatación de diversos segmentos intestinales, lo que suele derivar en un sobrecrecimiento bacteriano, situación que se agrava en ausencia de la mencionada válvula. Este hecho acelera el estado de malabsorción debido a la inflamación de la pared intestinal y a la desconjugación de los ácidos biliares. Los síntomas asociados incluyen desde la acumulación de gases hasta una diarrea grave con heces particularmente malolientes, pasando por los asociados a la acidosis metabólica derivada de la acumulación de ácido D-láctico en la sangre.

Precisamente, esta última circunstancia ha condicionado el empleo de probióticos en alimentos infantiles. El Real Decreto 72/1998, que incorporó la Directiva 91/321/CEE de la Unión Europea, que regula el empleo de bacterias tanto en fórmulas infantiles y de continuación dirigidas a niños sanos como en alimentos infantiles con fines médicos específicos, indica que se pueden utilizar bacterias no patógenas productoras del isómero L(+) del ácido láctico. La exclusión de las bacterias productoras de D-lactato deriva de una recomendación del CODEX de 1976, basada en tres estudios realizados con niños, en los que se empleó ácido D-láctico puro en unas condiciones que no son en absoluto extrapolables al efecto que ejercerían las cepas productoras de D o DL-lactato. Ante las escasas evidencias científicas que avalan las recomendaciones del CODEX, los expertos de la Unión Europea han recomendado que se estudien los casos de forma individualizada, teniendo en cuenta los datos disponibles sobre la seguridad y la eficacia de cada cepa. De hecho, como se ha comentado anteriormente, el principal problema asociado con el D-lactato se presenta en niños con síndrome de intestino corto y, curiosamente, se ha demostrado que la administración de ciertos lactobacilos productores de D-lactato (como *L. reuteri*) a niños con este síndrome no sólo no es perjudicial, sino que conduce a una remisión de la sintomatología más rápida que cuando se administran cepas probióticas que exclusivamente producen L-lactato⁴. Por otra parte, *L. johnsonii* La1, una cepa que produce una mayor concentración de D-lactato que de L-lactato, se encuentra en leches fermentadas que se consumen en todo el mundo sin que, hasta la fecha, se hayan registrado efectos negativos asociados a su consumo por la población infantil. Lo mismo sucede en el caso de *L. delbrueckii* sp. *bulgaricus*, una de las dos especies bacterianas que componen los cultivos iniciadores del yogur y que produce exclusivamente el isómero D del ácido láctico. Finalmente, el hecho de que muchas bacterias lácticas aisladas de leche humana sean productoras de D-lactato⁵ debería ser un argumento con suficiente peso como para permitir su inclusión en alimentos infantiles.

El método de la madre canguro: ¿una administración empírica de bacterias probióticas a los prematuros?

En las últimas décadas, la comunidad médica científica internacional ha realizado, sin ser consciente de ello y de forma totalmente empírica, numerosísimos estudios de administración de bacterias a niños prematuros, incluidos los de muy bajo peso. Esta práctica ha entrado a formar parte de los protocolos estandarizados en los servicios de neonatología de numerosos hospitales de todo el mundo ante los innegables beneficios que ofrece a los prematuros, más evidentes cuanto más prematuro es el niño.

Tradicionalmente, los niños prematuros eran separados inmediatamente de sus madres y colocados en incubadoras llenas de cables y tubos. Como comentan Gómez Papí et al.⁶, no se les podía sacar de ese habitáculo y no debían ser tocados, ¡no fuera que se infectaran! También por miedo a las infecciones, los padres entraban en las UCI neonatales en horarios

restringidos, con batas, mascarillas, guantes... , procedimientos que no disminuyen la incidencia de infecciones en los prematuros ingresados. Estos bebés a menudo recibían estímulos agresivos: sólo se les tocaba para pincharlos o explorarlos, oían el ruido continuo del motor de la incubadora y estaban expuestos a la luz durante las 24 horas del día. Los avances en neonatología han conseguido reducir las tasas de mortalidad y morbilidad neonatal de forma significativa en todos los países desarrollados, pero en la actualidad los servicios de neonatología están en condiciones de ofrecer a los prematuros otros procedimientos alternativos que, además de favorecer su desarrollo, aumentan los vínculos afectivos entre los niños y sus padres. Entre ellos destaca el método de la madre canguro (MMC), que se puede definir como el contacto piel con piel entre el recién nacido prematuro y la madre lo más precoz, continuo y prolongado posible, con lactancia materna, para que ambos se beneficien de sus ventajas. Se trata de un sistema aconsejable para prematuros de cualquier edad gestacional, de cualquier peso y con cualquier tipo de enfermedad, mientras sea tolerado por el binomio madre-hijo y por la unidad neonatal⁷⁻⁹.

En 1979, los doctores Rey y Martínez, del Hospital de «San Juan de Dios» de Bogotá (Colombia), preocupados por la falta de incubadoras para el número de prematuros que tenían ingresados, iniciaron un programa que básicamente consistía en colocar al niño en contacto piel con piel entre los pechos de su madre, alimentarle con leche materna, adelantarle el alta y seguir con el MMC en el domicilio¹⁰. Desde entonces, se han descrito numerosas ventajas del MMC sobre el método tradicional (incubadora): mejor termorregulación, aceleración de la adaptación metabólica, mayor supervivencia en países en vías de desarrollo, menor riesgo de infecciones (incluidas las nosocomiales), facilitación de la lactancia materna, mayor ganancia de peso, reducción de la estancia hospitalaria, reducción de los episodios de apnea, aumento de la confianza de las madres en el cuidado de sus hijos y estimulación de los lazos afectivos y la interacción madre-hijo.

Durante el MMC, el contacto es íntimo y emotivo, las variables fisiológicas del prematuro permanecen normales, la temperatura es estable, la respiración se hace regular y profunda, y la frecuencia cardíaca se estabiliza o aumenta ligeramente. El niño prolonga sus periodos de reposo (alerta tranquila, sueño profundo, menos actividad muscular, llora menos) y, de este modo, se favorece la maduración y la ganancia de peso, y disminuye el número de días de ingreso. Las madres se sienten más participes en el cuidado de su hijo prematuro, le estimulan y ¡le proporcionan su leche! La leche de la propia madre es el alimento mejor tolerado por el prematuro, por su composición única, totalmente adaptada para satisfacer las necesidades correspondientes a la edad gestacional del neonato. Así, le aporta nutrientes, componentes del sistema inmunitario, sustancias bioactivas... y todos sus microorganismos. Por este motivo, no es de extrañar que los prematuros alimentados con leche de su propia madre tengan una microbiota muy diferente de la que suelen tener los alimentados con fórmulas

infantiles. De hecho, esta última forma de alimentación suele conducir a microbiotas aberrantes, donde predominan las cepas propias de la UCI neonatal, con todo el peligro que ello conlleva. Por tanto, la incorporación de bacterias características de la leche humana a las fórmulas infantiles podría ser una buena alternativa para prevenir las infecciones en los prematuros que, desafortunadamente, no puedan tener acceso al MMC. Resulta ilustrativo que, siendo *Staphylococcus epidermidis* uno de los microorganismos más problemáticos en las UCI neonatales, la administración de leche materna conduzca a una notable reducción de la tasa de infecciones en prematuros. Y resulta ilustrativo porque precisamente esta especie es la bacteria predominante en la leche humana. Posiblemente, las cepas de *S. epidermidis* procedentes de la leche (mutualistas) sometan a las hospitalarias (potencialmente patógenas y resistentes a antibióticos) a un proceso de exclusión competitiva. Es decir, asistimos a una demostración del concepto probiótico en su más estricto sentido científico.

Probióticos para mujeres embarazadas y lactantes

Las mujeres embarazadas y los lactantes constituyen una población en la que la administración de probióticos podría resultar de particular interés, dado que la modulación de sus microbiotas digestiva, mamaria y urogenital puede tener una importante repercusión sobre la salud del binomio madre-hijo (figura 1).

Modulación de la microbiota intestinal de la madre

En primer lugar, sería una buena estrategia para que adquirieran una microbiota digestiva adecuada. En los últimos años, se ha observado que las bacterias originarias del aparato digestivo de la madre aparecen en corioamnio, meconio, líquido amniótico y/o sangre de cordón umbilical de niños sanos en los que las membranas placentarias estaban intactas, independientemente de que nacieran por parto o por cesárea. En este sentido, la composición de la microbiota digestiva de la madre puede tener consecuencias sobre la salud del feto o del niño. Por ejemplo, la translocación de lactobacilos en mujeres embarazadas con una placenta completamente normal deriva en la presencia de estas bacterias en el líquido amniótico¹¹ y en sangre del cordón umbilical¹², un proceso que tiene una clara influencia beneficiosa, ya que se ha asociado a un mayor peso al nacer y a una menor tasa de prematuridad¹³.

Por otra parte, cada vez parece más evidente que la composición microbiana del intestino materno también ejerce una influencia directa sobre las bacterias que aparecen en la leche materna, un aspecto que se describe con más detalle en la primera parte de este artículo. Por ello, la administración de probióticos a las mujeres embarazadas y los lactantes podría influir en el tipo de bacterias que ingieren los niños que reciben lactancia materna y, por tanto, en el desarrollo de su microbiota

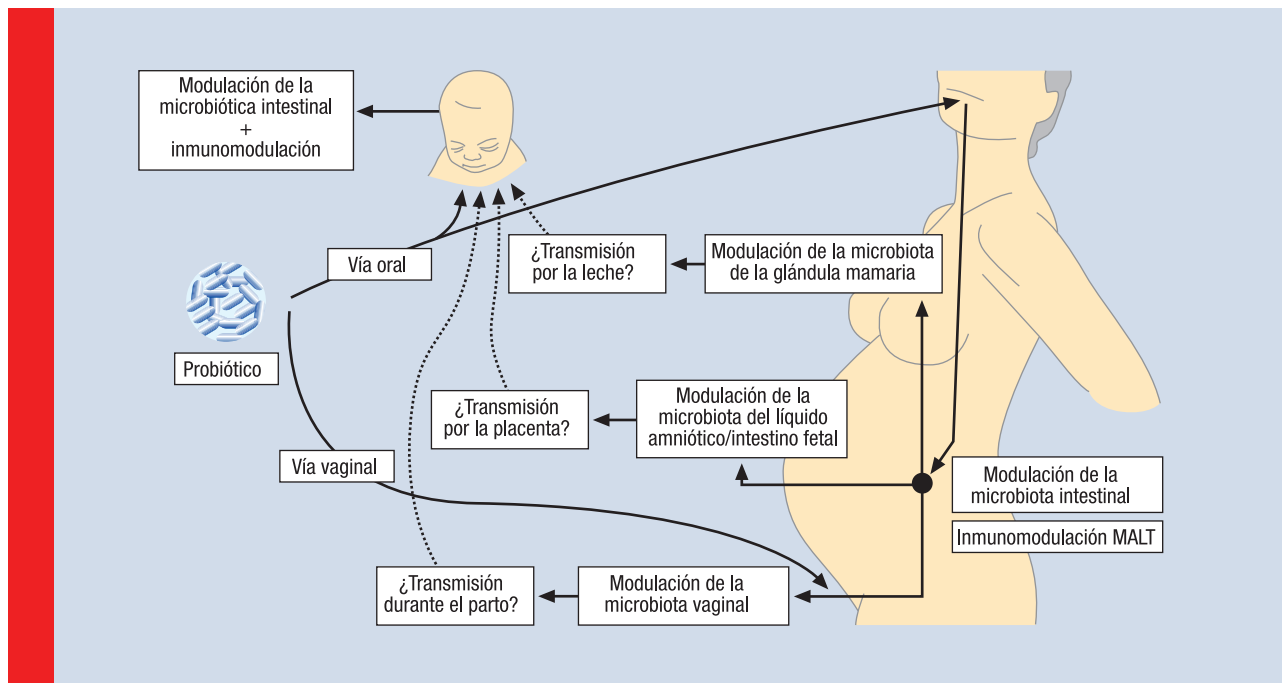


Figura 1. Alternativas para la administración de probióticos al binomio madre-hijo y sus posibles efectos. MALT: tejido linfoide asociado a las mucosas

ta intestinal. Los estudios realizados hasta la fecha son muy prometedores, por lo que esta línea de investigación recibirá un fuerte impulso en los próximos años.

Tratamiento de las mastitis infecciosas lactacionales

Por los mismos motivos citados en el párrafo anterior, la aplicación de probióticos podría ser una alternativa muy atractiva para la prevención y el tratamiento de las mastitis y las infecciones de los pezones. La mastitis se encuentra entre las principales causas médicas de destete precoz, y se produce con mayor frecuencia en la segunda y tercera semanas posparto, aunque puede ocurrir en cualquier momento de la lactancia. Su incidencia oscila, según los diversos estudios, entre el 3 y el 33% de las madres lactantes, y la media en nuestro país podría situarse en alrededor del 10%. Posiblemente, esta cifra sea mucho mayor en realidad, según indican diversas asociaciones españolas de lactancia, pero, en cualquier caso, se trata de una patología común entre las madres lactantes y que, con excesiva frecuencia, conduce a un abandono precoz e innecesario de la lactancia. El cuadro clínico de la mastitis puede oscilar notablemente, desde una inflamación local sin apenas afectación sistémica hasta una septicemia, pasando por la presencia de abscesos. En general, el número de mastitis no infecciosas que pasan a ser un problema infeccioso suele ser tan elevado que algunos autores definen directamente «mastitis» como un proceso infeccioso de la glándula mamaria que se acompaña de diversos síntomas locales y sistémicos. Algunos

de los agentes bacterianos típicamente relacionados con las mastitis de lactancia poseen factores de virulencia capaces de provocar la obstrucción de conductos y/o grietas, por lo que actualmente no está claro si estas situaciones predisponen a un proceso infeccioso o si, realmente, son las primeras manifestaciones de una mastitis infecciosa.

Los principales agentes etiológicos de la mastitis infecciosas pertenecen a los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Tradicionalmente, se ha considerado que *S. aureus* es la principal especie implicada, aunque la mejora en las técnicas de diagnóstico está poniendo de manifiesto la creciente implicación de *S. epidermidis* en estos procesos. Ambas especies pueden formar parte, junto con otras bacterias, de la microbiota natural de la leche, particularmente *S. epidermidis*, que es la especie predominante en prácticamente todas las mujeres. Sin embargo, ciertos factores, como la existencia en la propia mujer de impétigo, forúnculos u otras lesiones causadas por ciertas cepas de estafilococos o una mala elección de antibióticos, pueden propiciar una auténtica disbiosis de la microbiota normal de la leche materna. A pesar de los repetidos llamamientos a la necesidad de analizar y cultivar la leche ante la sospecha de una mastitis¹⁴, la realidad indica que son excepcionales los casos en que se realiza, y hay un gran desconocimiento por parte de los servicios de microbiología de los hospitales sobre los criterios para establecer un diagnóstico diferencial. Por ello, se suele instaurar un tratamiento con un antibiótico de amplio espectro o un antifúngico, sin conocer el(los) agente(s)

etiología(s) y sin disponer de datos tan importantes como su susceptibilidad a los antibióticos. Dado que muchos de los agentes responsables de las mastitis infecciosas presentan multiresistencia a los antibióticos y/o capacidad para formar biocapas, la implantación de un tratamiento sin una base racional puede ocasionar un crecimiento selectivo del agente causal y un empeoramiento del problema. Conviene señalar que actualmente la antibioterapia sólo logra la curación del 10-30% de las mastitis causadas por *S. aureus*. Este hecho explica la recurrencia y/o cronificación de muchas mastitis, lo que supone una gran frustración para la madre y puede determinar un destete brusco.

El hecho de que estos procesos infecciosos no representen un peligro para la salud del lactante y el desinterés por la lactancia existente entre un sector de pediatras son, en gran parte, responsables de la tradicional falta de atención hacia las mastitis humanas, de tal manera que, en muchas ocasiones, las mujeres con este problema suelen enfrentarse a un difícil dilema: seguir amamantando a su hijo, aguantando el dolor y el resto de los síntomas lo mejor posible, o abandonar la lactancia. En cualquier caso, la leche materna parece una fuente idónea de bacterias probióticas con las que diseñar nuevas estrategias para la prevención y/o el tratamiento de las mastitis basadas en la bacterioterapia y, de hecho, los escasos estudios realizados hasta la fecha indican que puede ser un abordaje muy eficaz.

Modulación de la microbiota vaginal

También se puede ejercer un efecto beneficioso sobre la salud de la madre y/o del niño mediante el empleo de probióticos dirigidos a modular la microbiota vaginal de la madre. La vagina constituye un ecosistema polimicrobiano y dinámico. En 1884, Döderlein inició el estudio de la microbiota vaginal humana con el aislamiento de una bacteria grampositiva, catalasa negativa no formadora de esporas, a partir del exudado vaginal de mujeres embarazadas sanas. En 1928, Thomas identificó el «bacilo de Döderlein» como *Lactobacillus acidophilus*, aunque actualmente está clasificado como *L. gasseri*. Durante mucho tiempo se consideró que la microbiota vaginal era muy uniforme y estaba integrada exclusivamente por lactobacilos, pero actualmente se sabe que en la vagina de las mujeres asintomáticas sanas pueden coexistir bacterias grampositivas y gramnegativas, micoplasmas y levaduras. En general, los lactobacilos siguen siendo los microorganismos dominantes, aunque puede haber mujeres asintomáticas en las que estas bacterias están ausentes de su cavidad vaginal. Las especies más frecuentes son *L. crispatus*, *L. gasseri* y *L. jensenii*, pero también se pueden aislar otras, como *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. leichmanii*, *L. delbrueckii* o *L. salivarius*.

La función de los probióticos en el ecosistema vaginal consistiría básicamente en impedir la proliferación de microorganismos patógenos y la pérdida de lactobacilos productores de H₂O₂. Los lactobacilos vaginales modulan la presencia de otros

microorganismos mediante la producción de ácido láctico, H₂O₂, y otros compuestos antimicrobianos, y/o mediante la competición por los nutrientes o por los lugares de unión a las células del epitelio vaginal.

La acidez de la vagina se considera el primer mecanismo en el control de la microbiota, y se ha relacionado con una disminución en el riesgo de infección por clamidias, tricomonas y micoplasmas. Los lactobacilos, además de producir ácido, resisten valores de pH muy bajos (3-5), como los existentes en el ecosistema vaginal en condiciones fisiológicas. Por otra parte, la producción de peróxido de hidrógeno es una característica muy común entre los lactobacilos de origen vaginal. El peróxido de hidrógeno es una sustancia antimicrobiana muy eficaz, cuya acción se potencia en presencia de anión cloruro y mieloperoxidasa, dos elementos presentes en la vagina. La importancia de este mecanismo de defensa queda reflejada en la íntima relación existente entre la presencia de cepas de lactobacilos productores de peróxido de hidrógeno y una disminución en la incidencia de candidiasis, gonorrea, vaginosis bacteriana e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Algunos estudios han indicado que la pérdida de lactobacilos en la mucosa vaginal de mujeres embarazadas puede conducir a una vaginosis bacteriana y aumentar el riesgo de tener un niño prematuro. Además, los lactobacilos pueden desempeñar un papel importante en la prevención de la colonización vaginal por parte de los estreptococos del grupo B, microorganismos que pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte en recién nacidos.

Los agentes antimicrobianos son muy eficaces en el tratamiento de las infecciones bacterianas, pero la resistencia a antimicrobianos de los patógenos urogenitales está aumentando, lo que hace necesario el desarrollo de estrategias alternativas. Diversos estudios han puesto de manifiesto que el uso de ciertas cepas de lactobacilos puede ser un medio eficaz de restaurar la microbiota normal de la vagina cuando hay infecciones del tracto genitourinario, mediante aplicación tópica o por vía oral¹⁵⁻¹⁷. Efectivamente, se ha demostrado que ciertos lactobacilos son capaces de colonizar la vagina e inhibir el crecimiento de patógenos urogenitales tras su administración oral. Esto significa que, en primer lugar, resisten el tránsito por el aparato digestivo; en segundo lugar, que ascienden a la vagina desde el aparato digestivo o pueden alcanzar la mucosa vaginal por vía sistémica mediante las interconexiones de los tejidos linfoides asociados a las distintas mucosas del hospedador. En resumen, el uso de preparaciones probióticas es prometedor y los recientes avances en la comprensión de la microbiología, inmunología, bioquímica y fisiología del ecosistema vaginal han incrementado el interés en el uso preventivo y/o terapéutico de probióticos en mujeres con una vaginosis bacteriana. ■

Bibliografía

1. Lin HC, Su BH, Chen AC, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2005; 115: 1-4.

2. Hoyos AB. Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* to neonates in an intensive care unit. *Int J Infect Dis.* 1999; 3: 197-202.
3. Dani C, Biadaioli R, Bertini G, Martelli E, Rubaltelli FF. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study. *Biol Neonate.* 2002; 82: 103-108.
4. Connolly E, Lönnerdal B. D(-)-lactic acid bacteria. Safe to use in infant formulas. *Nutrafoods.* 2004; 3: 37-53.
5. Martín R, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM. Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk. *J Hum Lact.* 2005; 21: 8-17.
6. Gómez Papí A, Pallás CR, Aguayo J. El método de la madre canguro. *Acta Pediatr Esp.* 2007; 65(6): 289-291.
7. Ludington-Hoe SM, Anderson GC, Simpson S, Hollingsead A, Argote LA, Medellín G, et al. Skin-to-skin contact beginning in the delivery room for Colombian mothers and their preterm infants. *J Human Lact.* 1993; 9: 241-242.
8. Cattaneo A, Davanzo R, Uxa F, Tamburlini G. Recommendations for the implementation of Kangaroo Mother Care for low birthweight infants. *Acta Paediatr.* 1998; 87: 440-445.
9. Whitelaw A, Sleath K. Myth of the marsupial mother: Home care of very low birth weight babies in Bogota, Colombia. *Lancet.* 1985; 1: 1.206-1.208.
10. Charpak N, Ruiz-Peláez JG, Charpak Y, Rey-Martínez Kangaroo Mother Program: an alternative way of caring for low birth weight infants? One year mortality in a two cohort study. *Pediatrics.* 1994; 94: 804-810.
11. Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. Possible association between amniotic fluid micro-organism infection and microflora in the mouth. *BJOG.* 2002; 9: 527-533.
12. Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical chord blood of healthy neonates born by caesarean section. *Curr Microbiol.* 2005; 51: 270-274.
13. Dasayanake AP, Li Y, Wiener H, Ruby JD, Lee MJ. Salivary *Actinomyces naeslundii* genospecies 2 and *Lactobacillus casei* leves predict pregnancy outcomes. *J Periodontol.* 2005; 76: 171-177.
14. Thomsen AC, Espersen T, Maigaard S. Course and treatment of milk stasis, noninfectious inflammation of the breast, and infectious mastitis in nursing women. *Am J Obstet Gynecol.* 1984; 149: 492-495.
15. Nyirjesy P, Weitz MV, Grody MHT, Lorber B. Over-the-counter and alternative medicines in the treatment of chronic vaginal symptoms. *Obstet Gynecol.* 1997; 90: 50-53.
16. Reid G. Probiotics for urogenital health. *Nutr Clin Care.* 2002; 5: 3-8.
17. Reid G, Bruce AV, Fraser N, Heinemann GH, Owen J, Henning B. Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2001; 30: 49-52.