high-throughput

MDPI

Áttekintés

Kolonizációs rezisztencia csecsemők béltraktusában: *B. infantis* szerepe a pH csökkentésében és kórokozók szaporodásának a gátlásában

Rebbeca M. Duar, David Kyle és Giorgio Casaburi*

Evolve BioSystems, Inc., Davis, CA 95618, USA; rduar@evolvebiosystems.com (R.M.D.); dkyle@evolvebiosystems.com (D.K.)
*Levelezés: gcasaburi@evolvebiosystems.com
Beérkezett: 2020 február 28; Elfogadva: 2020 március 25; Publikálva: 2020 március 27

Kivonat: Az elmúlt évszázad során a széklet pH értékének folyamatos emelkedése volt megfigyelhető a fejlett ipari országokban élő csecsemőkben. A történeti adatok elemzése szoros összefüggést mutatott az anyatejjel táplált csecsemők béltraktusának mikrobiomjában található *Bifidobacterium* organizmusok gyakorisága és a széklet pH értéke között, ami arra utal, hogy ez a taxon kulcsszerepet játszik a béltartalom pH-jának a meghatározásában. A *Bifidobacterium longum subsp infantis* egyedülállóan alkalmas a humáneredetű anyatejben található oligoszacharidok metabolizálására savas végtermékekre, elsősorban laktátra és acetátra. Ezeknek a savas vegyületeknek a jelenléte a csecsemő béltraktusában alacsonyabb széklet pH értékkel függ össze. Megfordítva, a *B. infantis* organizumust nélkülöző csecsemők széklete jelentősen magasabb pH értéket mutat, béltraktusuk mikrobiomjában gyakoribbak a potenciális kórokozók és nyálkahártyát erodáló baktériumok, és krónikus bélgyulladás jeleit mutatják. Ez arra utal, hogy a *B. infantis* jelenléte, valamint a béltartalom alacsony pH-ja csecsemők esetében kritikus tényezői a bél lumen protektív környezete fenntartásának. Tanulmányunkban összefoglaljuk a közelmúltban megjelent tudományos közleményeket, amelyek igazolják, hogy anyatejjel táplált csecsemőknek adagolt *B. infantis* EVC001 szignifikánsan csökkenti a széklet pH értékét a kontrollokhoz viszonyítva, valamint utalnak arra, hogy csecsemők béltraktusában az alacsony pH érték az egyik kritikus tényező a káros baktériumok inváziójának és túlszaporodásának megakadályozására, amely folyamat kolonizációs rezisztenciaként ismert.

Kulcsszavak: széklet pH; csecsemő mikrobiom; probiotikumok

1. Bevezetés

Korabeli leírások szerint, az 1900-as évek elején az egészséges, szoptatott csecsemő mikrobiomját Gram-pozitív baktériumok túlsúlya jellemezte, melyeket napjainkban a *Bifidobacterium* organizmusok közé sorolunk. Közelebbről, egy 1913-ban megjelent közlemény szerint az egészséges, szoptatott csecsemők széklete "csaknem színtenyészetből álló filmréteget" eredményezett. Ezzel szemben, a tehéntejjel táplált csecsemők széklete sokkal

kevésbé bővelkedett Bifidobacterium organizmusokban, a bél mikrobiomot inkább Gram-negatív baktériumok dominanciája jellemezte [1]. Az USA-ban egy 1926-ban megjelent tanulmány szerint az egészséges, szoptatott újszülöttek székletének pH-ja átlagosan 4,88, míg a nem szoptatott csecsemőké 6,0 volt [2]. Több mint 20 évvel később, 1955-ben a szoptatott csecsemők székletének pH-ját 5,3 és 5,5 közötti értéknek találták [3]. Újabban megjelent közlemények szerint az újszülöttek székletének tipikus pH-ja a táplálás módjától függetlenül a 6,5-öt is eléri, ami 1926 óta csaknem két log egység emelkedés [4]. Ezek a feljegyzések együttesen azt jelzik, hogy a csecsemők székletének pH értéke lényegesen emelkedett az elmúlt évszázadban, egy olyan periódusban, amelyben csökkent az anyatejjel táplált csecsemők aránya, valamint mérséklődött a *Bifidobacterium* organizmusok túlsúlya [4]. Megjegyzésre érdemes, hogy az elmúlt évszázad jelentős technikai fejlődése ellenére, a pH érték meghatározására alkalmazott analitikai módszerek lényegében nagyrészt változatlanok maradtak, ami lehetővé teszi a történeti és napjainkbeli feljegyzések közvetlen összehasonlítását.

Érdekes módon, a csecsemők székletének pH értékét érintő változása elsősorban a fejlett ipari országokban, így például az Egyesült Államokban és Európában figyelhető meg [5]. Megfordítva, a kevésbé fejlett országokban, ahol a szoptatás aránya magas maradt és a mikrobiomot módosító beavatkozások kevésbé gyakoriak (így például antibiotikum korlátozott használata és ritkább császármetszés), *Bifidobacterium* organizmusok dominálják a csecsemők mikrobiomját [6,7]. Ezekben az országokban különösen domináló *Bifidobacterium* faj a *B. longum subsp. infantis* (*B. infantis*), amely feltűnően hiányzik az iparilag fejlett országokban [8-10]. Az Egyesült Államokban a ma született csecsemők mikrobiomját nem dominálják *Bifidobacterium* organizmusok és különösen megfigyelhető a *B. infantis* hiánya [11,12]. Ennek következtében a mikrobiom fontos ökoszisztéma szolgálatai vesznek el, ami viszont alacsony közösségi stabilitáshoz és csökkent kolonizációs rezisztenciához vezet, ezek együttesen a csecsemő emésztőtraktus diszbiózisának biztos jelei [13]. A *B. infantis* fajspecifikus elvesztése a fejlett régiókban feltételezések szerint részben annak a következménye, hogy populációja eliminálódott az anyai béltraktus mikrobiomból ismételt antibiotikum használat és más olyan beavatkozások nyomán, amelyekről ismert, hogy megtizedelik a mikrobiom kollaterális hatásait [14]. Ennek megfelelően, ha az anya nem hordoz *B. infantis* organizmust a béltraktusában, nem nyílik lehetőség arra, hogy átadja azt magzatának a szülés folyamata alatt, ami a fő útja lenne annak, hogy az újszülött megszerezze bélcsatornája mikrobiomját [15,16]. Összefoglalva, az adatok a *B. infantis* múlt század során történt generációs elvesztésére mutatnak rá, egy olyan periódusban, amely autoimmun és allergiás betegségek szignifikáns emelkedését is láthatta [17,18].

2. A pH csökkentése biológiai stratégia baktériumok szaporodásának korlátozására

Adott mikrobiális ökoszisztéma pH-ját erősen meghatározzák annak lakói által termelt metabolitok. A legtöbb opportunista bakteriális patogén inkább neutrálishoz közelítő pH érték mellett szaporodik jól (pH=6,0-7,0) és savas körülmények között rosszul szaporodik (pH≤5,5). A tejsavbaktériumok (például *Bifidobacterium* és *Lactobacillus* taxonok) fő metabolikus végtermékként ecetsavat és tejsavat termelnek, amelyek jelentősen csökkentik a luminális pH-t [19]. A tejsavbaktériumokat többezer éve alkalmazzák élelmiszerek tartósítására [20], mivel megakadályozzák azok megromlását okozó, valamint a kórokozó organizmusok szaporodását. Ugyanez a biológiai szabályozó rendszer működik a szervezetünkben is. Például a szülőképes korú nők vaginális nyálkahártyáját tejsavtermelő baktériumok dominálják, például *Lactobacillus* alfajok [21] és az egészséges vaginális környezet kifejezetten savas (pH 4,5-5,5) [22]. A pH magasabbra változása gyakran társul bakteriális vaginózissal és

opportunista patogén gombák túlszaporodásával [21,23]. Bár a vaginális környezet védelmében további hormonális és fiziológiai tényezők is szerepet játszanak, a pH érték fontos szerepet játszik a hüvelyi kórokozók elleni védelmében [24]. A kórokozók inváziójával szemben a pH csökkentésével elért természetes védelem, amelyre példa a vaginális környezet savasítása, egy fontos stratégia, amely révén a béltraktust benépesítő bakteriális közösségek is védelmezik gazdaszervezetet kórokozók inváziójától és amely folyamat kolonizációs rezisztenciaként ismert [25,26].

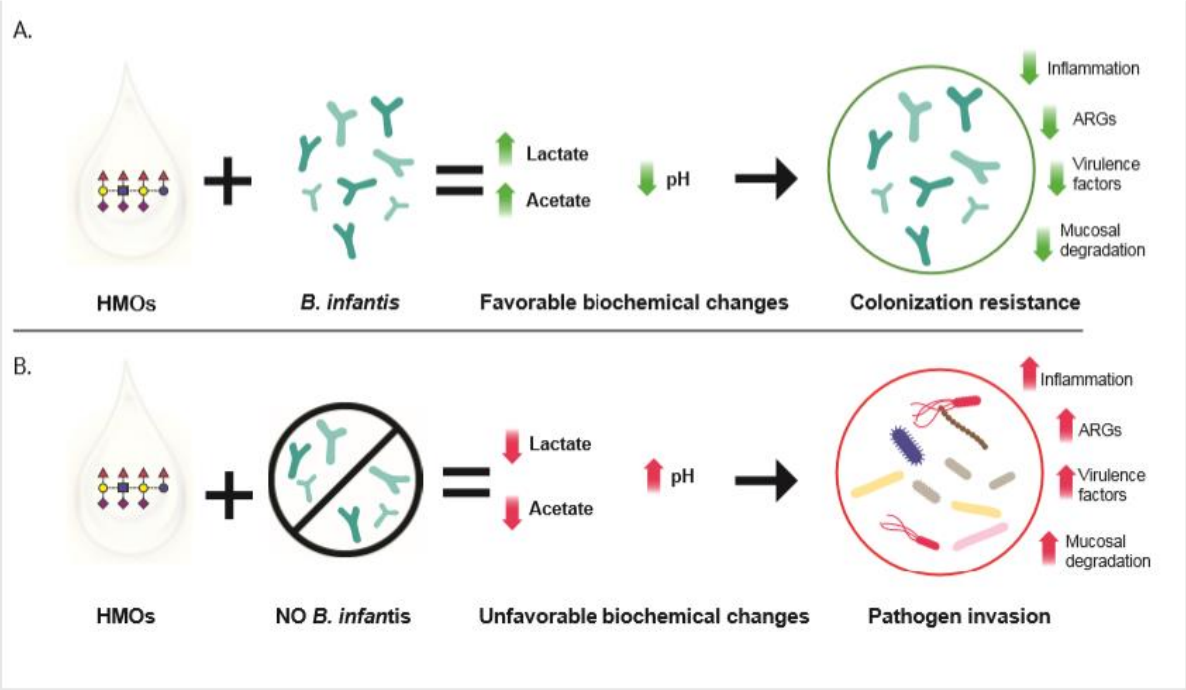
3. Az USA-ban az újszülöttek csökkent kórokozó-ellenes kolonizációs rezisztenciát mutatnak

A béltraktus mikrobiom egyik legfontosabb szerepe, hogy kolonizációs rezisztenciát biztosítson az intesztinális kórokozók inváziójával szemben az egész élet során [26]. Ez a védő szerep azonban különös jelentőséggel bír a neonatális időszakban, amikor az immunrendszer még éretlen [13,27]. Napjainkban az iparilag fejlett országokban született csecsemők bél mikrobiomját nem dominálják *Bifidobacterium* organizmusok és a *B. infantis* hiányzik. Ennek megfelelően, a bélcsatorna laktát és acetát termelődése által nyújtott savasítása elmarad vagy legalábbis csökkent [10-12,28]. A napjainkban született csecsemők mikrobiomja a legtöbb fejlett országban alacsony közösségi stabilitást mutat és potenciális kórokozók emelkedett számát tartalmazza életük első hónapjaiban [29,30]. Klinikai vizsgálatokban, amelyekben anyatejjel táplált csecsemőknek *B. infantis* EVC001 készítményt adagoltak, az átlagos széklet pH 5,15 ± SD 0,42 értékre csökkent, a béltraktus mikrobiomot *Bifidobacterium* organizmusok dominálták és az opportunista korokozók száma jelentősen csökkent [11,31].

A mechanizmus, amelynek révén a *B. infantis* dominánssá válik és csökkenti a pH értéket az az egyedi tulajdonsága, hogy képes az összes humán tej eredetű oligoszacharidot [„human milk oligosaccharide" (HMO)] metabolizálni savas végtermékké, elsősorban laktáttá és acetáttá. A HMO a humán anyatej energiatartalmának 15%-át képezi és több mint 200 különböző komplex HMO struktúrát azonosítottak. A humán anyatej HMO tartalmát sem a csecsemő nem képes metabolizálni, sem az emésztőtraktusában előforduló baktériumok túlnyomó többsége, amelyekből hiányzanak azok az enzimek, amelyek szükségesek ezen komplex glikán molekulák hozzáféréséhez és metabolizálásához [32]. A *B. infantis* azonban az egyetlen ismert organizmus, amely egyedi genetikai felépítése révén képes hasznosítani az összes HMO struktúrát az anyatejből. Közelebbről, a *B. infantis* olyan egyedi génklasztereket hordoz, amelyek a humán tejben levő HMO molekulák befogására, felvételére, lebontására és metabolizmusára alkalmas proteineket kódolnak [33]. Ennek megfelelően mi és más szerzők [34] leszögezzük, hogy a humán anyatej szelektív tápközeg a *B. infantis* számára, amelynek a bevitele kolonizációs rezisztenciát létesít a csecsemők béltraktusában a pH csökkentése révén [13].

B. infantis hiányában a HMO-k szinte teljesen kiürülnek a széklettel, mivel az emberi szervezetből hiányoznak a metabolizmusukhoz szükséges enzimek [11,35]. Következésképpen, ha a csecsemő bél mikrobiom nem termel magas szinten acetátot és laktátot a pH magas marad és nem biztosít kolonizációs rezisztenciát a csecsemő béltraktusában [11,13]. Kohort vizsgálatok arra utalnak, hogy szoptatott csecsemők béltraktusában a kolonizációs rezisztencia hiánya és a következményes magasabb pH a potenciálisan virulens kórokozók emelkedett szintjét [31], fokozott antibiotikum-rezisztens génterhelést [12], és az élet első száz napjában krónikus bélgyulladást [36] eredményez, ami

szoros összefüggést mutat az autoimmun rendellenességek emelkedett prevalenciájával [37,38] (1. ábra).



1. ábra Anyatejjel táplált csecsemő bél lumenének környezete *B. infantis* jelenlétében (**A**) és hiányában (**B**). (**A**) *B. infantis* jelenlétében a humán tej oligoszacharidok (HMO) hatékonyan metabolizálódnak és konvertálódnak metabolikus sav végtermékké, elsősorban acetátokká és laktátokká. Ezek a vegyületek csökkentik az intesztinális pH értéket, ami kolonizációs rezisztenciát biztosít. (**B**) *B. infantis* hiányában. A HMO nem teljesen metabolizálódik és gyakori székletürítés során elvész. Az intesztinális pH magas marad, ami kórokozók inváziót és szaporodását teszi lehetővé. Ennek mind akut, mind krónikus negatív egészségügyi következményei lehetnek.

4. A *B. infantis* visszapótlása helyreállítja az újszülött tápcsatornájának kolonizációs rezisztenciáját

Egy kontrollált, beavatkozással járó klinikai vizsgálatban azt találták, hogy amikor a kizárólag anyatejjel táplált csecsemők táplálékához *B. infantis* EVC001 készítményt adtak, a csecsemők székletének pH értéke, valamint a székletürítés jellege és gyakorisága visszatért az 1900-as években leírt állapothoz (azaz 5,1 széklet pH és napi 2-3 puha széklet ürítése), szemben a kontroll csecsemőkkel, akik napi 5–7 vizes székletet produkáltak, és a széklet pH-ja 6,1 volt [5]. A kontroll csecsemők mikrobiomjából, akik valamennyien szoptatott, és túlnyomórészt hüvelyi úton világrahozott újszülöttek voltak, a *B. infantis* hiányzott, és jelentős diszbiózis volt náluk megfigyelhető, potenciálisan patogén baktériumok gyakori előfordulásával [11].

Ezen felül, a *B. infantis* EVC001 készítménnyel adagolt csecsemők 100% -ánál rendkívül stabil, *B. infantis* által (akár 90%-ot elérő relatív gyakorisággal) dominált bél mikrobiom jött létre, [11,12]. Érdekes, hogy míg a *B. infantis* EVC001 dominancia relatív bőség szempontjából jelentős hatással volt a

mikrobiom összetételére (béta diverzitás), mikrobiális fajgazdagság (alfa diverzitás) tekintetében nem találtak különbségeket. Közelebbről, mind a kontrollokban, mind a *B. infantis* EVC001 készítménnyel kezelt csecsemőkben hasonló Shannon-féle diverzitási indexet figyeltek meg. Ugyanakkor, a virulens patogének, például az *E. coli, a Klebsiella, Clostridium* és *Staphylococcus* relatív bősége több mint 93%-kal csökkent [31], és a csecsemők tápcsatornájában a bakteriális antibiotikum-rezisztencia gén terhelés is 90%-kal csökkent a szoptatott kontroll csecsemők értékeihez képest [12].

További vizsgálatok szerint, a kontroll csecsemők bél epiteliumot védő vastagbél nyálkahártyája jelentős erózió [39] és szignifikáns bélgyulladás jeleit mutatta az élet első 40-60 napján [36]. Ezzel szemben, a *B. infantis* EVC001 által kolonizált csecsemőknél ugyanebben az időszakban a nyálkahártya erózió és gyulladás sokkal kisebb mértékben volt megfigyelhető [36,39]. Érdemes megjegyezni, hogy a *B. infantis* acetát- és triptofánvegyületek előállításával a bél barrierfunkció integritásának fenntartásához is hozzájárul [40–42].

5. Az alacsony pH a kolonizációs rezisztencia kulcsa a csecsemő bélrendszerében

A hüvely és a csecsemő belének mikrobiomja két példa az elsődlegesen tejsavbaktériumok által dominált mikrobiális ökoszisztémára, ahol a baktériumok által létrehozott alacsonyabb pH-érték az ellenállóképesség kulcsa az opportunista patogének inváziójával szemben. Amikor a mikrobiomok egyensúlya felbomlik, a kolonizációs rezisztencia csökken, és növekszik a mélyebben található szövetek sérülékenységének veszélye [13] (1. ábra). A kolonizációs rezisztencia hiánya újszülötteknél különös aggodalomra adhat okot, mivel az élet első 100 napja kritikus időszak az immunrendszer fejlődésében [27,43]. Az immunrendszer hetven százaléka az emésztőrendszerrel asszociált [44], és az élet első hónapjaiban alakul ki a saját és idegen felismerésével kapcsolatos mintázatok kialakulása, ami életre szóló következményekkel jár [27,30,43,45]. Érdekes módon, az elmúlt 100 évben a kolonizációs rezisztencia csecsemők bélrendszerében megfigyelt gyengülésével párhuzamosan drámai módon megnőtt az autoimmun rendellenességek (pl. asztma, atópiás dermatitisz, ételallergia, I-es típusú diabétesz stb.) előfordulási gyakorisága az iparosodott országokban, beleértve az Egyesült Államokat [45,46]. Bár kézenfekvőnek tűnik ok okozati összefüggést felfedezni a fenti összefüggés tekintetében, egyelőre nem készültek randomizált, kontrollált vizsgálatok annak megállapítására, hogy a kolonizációs rezisztencia helyreállítása újszülötteknél az élet korai szakaszában megelőzheti-e az autoimmun rendellenességek kialakulását a későbbi életben.

A *Bifidobacterium* organizmusokban szegény mikrobiommal rendelkező csecsemőknél az allergiás és autoimmun állapotok kialakulásával kapcsolatba hozható emlkedett biomarker szintek [37,38] és védőoltásokra adott gyengébb immunválasz [6,8] alapján a csökkent kolonizációs rezisztencia és az immunrendszer nem megfelelő érése közötti kapcsolat joggal feltételezhető [47].

6. Következtetések és jövőbeli kilátások

Összességében, az adatok határozottan arra utalnak, hogy a *B. infantis* hiánya a csecsemő bélrendszerének mikrobiomjából, valamint az ezzel járó acetát- és laktáttermelés csökkenés 5,5 feletti széklet pH-hoz vezetnek. Az emelkedett széklet pH csökkenti a kolonizációs rezisztenciát, és teret enged káros baktériumpopulációk túlnövekedésének [31,39], ami szorosan köthető a bél gyulladásos folyamatainak kialakulásához [36], valamint allergiás és autoimmun rendellenességek emelkedett gyakoriságához a későbbi életben [45]. Amikor a *B. infantis* EVC001 készítményt visszajuttatták az újszlött emésztőrendszerébe, a széklet pH-ja a kórokozó baktériumok szaporodását gátló szintre csökkent, és a csecsemő bélcsatornájának természetes kolonizációs rezisztenciája helyreállt [11,13]. Tekintettel arra, hogy az élet korai szakaszában a rendellenes bélmikrobiom-összetétel (azaz a diszbiózis) a későbbiek során akut és krónikus betegségek kialakulásának lényeges meghatározója [27,43], a *B. infantis* mikrobiom helyreállítása a csecsemő belében kulcsfontosságú lépés lehet ahhoz, hogy a jövő generációinak hosszútávú egészségi állapotát javítsuk.

Ezen túlmenően, a rendelkezésre álló régebbi adatok és a mikrobiomot károsító gyakorlatok, például antibiotikumok túlzott használata és a nagy gyakorisággal indikált császármetszés gyakorlata által kevésbé érintett országok populációiban tapasztaltak alapján javasoljuk, hogy az egészséges csecsemő széklet pH-értékének referencia tartományát 4,5 – 5,5 közti tartományban állapítsák meg. Összességében, a közleményben áttekintett tanulmányok arra mutatnak, hogy az 5,5 feletti csecsemő széklet pH értékkel együtt jár a kolonizációs rezisztencia csökkenése, amelynek következménye a potenciális kórokozók megnövekedett előfordulási aránya, a bél-nyálkahártya sérülése és gyulladás kialakulása [13,36,39]. Ezért, ilyen vagy magasabb értékek esetén a széklet pH-ját a normál / megfelelő tartományon kívül esőnek kell minősíteni. Ismert, hogy az emésztőrendszer egyes állapotai, például szénhidrát-felszívódási zavarok, szintén a széklet pH-jának csökkenéséhez vezetnek [48]. Mivel az ilyen állapotok, szemben a csecsemőknél tapasztalt, diszbiózissal összefüggő emelkedett széklet pH-val viszonylag ritkák, a javasolt változtatások az egyén egészségi kilátásait és a közegészségügy céljait egyaránt a legjobban szolgálják.

Szerzők hozzájárulása: G.C., R.M.D. és D.K. hozzájárultak a kézirat elkészítéséhez, szerkesztéséhez és jóváhagyásához. A kézirat nyomdai változatát valamennyi szerző ellenőrizte és jóváhagyta .

Anyagi támogatás: A kutatás külső forásból tomogatást nem kapott.

Érdekütközés: G.C., R.M.D. és D.K. az EvolveBiosystems, Inc. céggel alkalmazotti viszonyban állnak.

Hivatkozások

1. Logan, W.R. The intestinal flora of infants and young children. *J. Pathol. Bacteriol.* **1913**, *18*, 527–551. [CrossRef]
2. Norton, R.C.; Shohl, A. The hydrogen ion concentration of the stools of new-born infants. *Am. J. Dis. Child.* **1926**, *32*, 183–191. [CrossRef]
3. Pratt, A.G.; Read, W., Jr. Influence of type of feeding on pH of stool, pH of skin, and incidence of perianal dermatitis in the newborn infant. *J. Pediatr.* **1955**, *46*, 539–543. [CrossRef]
4. Henrick, B.M.; Hutton, A.A.; Palumbo, M.C.; Casaburi, G.; Mitchell, R.D.; Underwood, M.A.; Smilowitz, J.T.; Frese, S.A. Elevated Fecal pH Indicates a Profound Change in the Breastfed Infant Gut Microbiome Due to Reduction of Bifidobacterium over the Past Century. *mSphere* **2018**, *3*, e00041-18. [CrossRef]
5. Smilowitz, J.T.; Moya, J.; Breck, M.A.; Cook, C.; Fineberg, A.; Angkustsiri, K.; Underwood, M.A. Safety and tolerability of Bifidobacterium longum subspecies infantis EVC001 supplementation in healthy term breastfed infants: A phase I clinical trial. *BMC Pediatr.* **2017**, *17*, 133.
6. Huda, M.N.; Ahmad, S.M.; Alam, M.J.; Khanam, A.; Kalanetra, K.M.; Taft, D.H.; Raqib, R.; Underwood, M.A.; Mills, D.A.; Stephensen, C.B. Bifidobacterium Abundance in Early Infancy and Vaccine Response at 2 Years of Age. *Pediatrics* **2019**, 143. [CrossRef] [PubMed]
7. Grzeskowiak, L.; Collado, M.C.; Mangani, C.; Maleta, K.; Laitinen, K.; Ashorn, P.; Isolauri, E.; Salminen, S. Distinct gut microbiota in southeastern African and northern European infants. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2012**, *54*, 812–816. [CrossRef] [PubMed]
8. Huda, M.N.; Lewis, Z.; Kalanetra, K.M.; Rashid, M.; Ahmad, S.M.; Raqib, R.; Qadri, F.; Underwood, M.A.; Mills, D.A.; Stephensen, C.B. Stool microbiota and vaccine responses of infants. *Pediatrics* **2014**, *134*, e362–e372. [CrossRef] [PubMed]
9. Young, S.L.; Simon, M.A.; Baird, M.A.; Tannock, G.W.; Bibiloni, R.; Spencely, K.; Lane, J.M.; Fitzharris, P.; Crane, J.; Town, I. Bifidobacterial species differentially affect expression of cell surface markers and cytokines of dendritic cells harvested from cord blood. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **2004**, *11*, 686–690. [CrossRef]
10. Lawley, B.; Otal, A.; Moloney-Geany, K.; Diana, A.; Houghton, L.; Heath, A.M.; Taylor, R.W.; Tannock, G.W. Fecal Microbiotas of Indonesian and New Zealand Children Differ in Complexity and Bifidobacterial Taxa during the First Year of Life. *Appl. Environ. Microbiol.* **2019**, 85. [CrossRef]
11. Frese, S.A.; Hutton, A.A.; Contreras, L.N.; Shaw, C.A.; Palumbo, M.C.; Casaburi, G.; Xu, G.; Davis, J.C.C.; Lebrilla, C.B.; Henrick, B.M.; et al. Persistence of Supplemented Bifidobacterium longum subsp. infantis EVC001 in Breastfed Infants. *mSphere* **2017**, *2*, e00501-17. [CrossRef] [PubMed]

12. Casaburi, G.; Duar, R.M.; Vance, D.P.; Mitchell, R.; Contreras, L.; Frese, S.A.; Smilowitz, J.T.; Underwood, M.A. Early-life gut microbiome modulation reduces the abundance of antibiotic-resistant bacteria. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* **2019**, *8*, 131. [CrossRef] [PubMed]
13. Duar, R.M.; Henrick, B.M.; Casaburi, G.; Frese, S.A. Integrating the ecosystem services framework to define dysbiosis of the breastfed infant gut: The role of B. infantis and human milk oligosaccharides. *Front. Nutr.* **2020**, *7*, 33.
14. Tannock, G.W.; Lee, P.S.; Wong, K.H.; Lawley, B. Why Don't All Infants Have Bifidobacteria in Their Stool? *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 834. [CrossRef] [PubMed]
15. Duar, R.M.; Kyle, D.; Tribe, R.M. Reintroducing *B.infantis* to the Cesarean-born neonate: An ecologically sound alternative to "vaginal seeding". *FEMS Microbiol. Lett.* **2020**, *367*, fnaa032. [CrossRef]
16. Ferretti, P.; Pasolli, E.; Tett, A.; Asnicar, F.; Gorfer, V.; Fedi, S.; Armanini, F.; Truong, D.T.; Manara, S.; Zolfo, M.; et al. Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome. *Cell Host Microbe* **2018**, *24*, 133–145. [CrossRef]
17. Bach, J.F. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N. Engl. J. Med.* **2002**, *347*, 911–920. [CrossRef]
18. Lerner, A.; Jeremias, P.; Matthias, T. The world incidence and prevalence of autoimmune diseases is increasing. *Int. J. Celiac. Dis.* **2015**, *3*, 151–155. [CrossRef]
19. Stiles, M.E. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* **1996**, *70*, 331–345. [CrossRef]
20. Nair, B.M.; Prajapati, J.B. The history of fermented foods. In *Handbook of Fermented Functional Foods*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2003; pp. 17–42.
21. Petrova, M.I.; Lievens, E.; Malik, S.; Imholz, N.; Lebeer, S. Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Front. Physiol.* **2015**, *6*, 81. [CrossRef]
22. Miller, E.A.; Beasley, D.E.; Dunn, R.R.; Archie, E.A. Lactobacilli dominance and vaginal pH: Why is the human vaginal microbiome unique? *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 1936. [CrossRef] [PubMed]
23. Bradford, L.L.; Ravel, J. The vaginal mycobiome: A contemporary perspective on fungi in women's health and diseases. *Virulence* **2017**, *8*, 342–351. [CrossRef]
24. Linhares, I.M.; Summers, P.R.; Larsen, B.; Giraldo, P.C.; Witkin, S.S. Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2011**, *204*, 120.e1–120.e5. [CrossRef] [PubMed]
25. Pickard, J.M.; Núñez, G. Pathogen Colonization Resistance in the Gut and Its Manipulation for Improved Health. *Am. J. Pathol.* **2019**, *189*, 1300–1310. [CrossRef] [PubMed]
26. Lawley, T.D.; Walker, A.W. Intestinal colonization resistance. *Immunology* **2013**, *138*, 1–11. [CrossRef]
27. Olin, A.; Henckel, E.; Chen, Y.; Lakshmikanth, T.; Pou, C.; Mikes, J.; Gustafsson, A.; Bernhardsson, A.K.; Zhang, C.; Bohlin, K.; et al. Stereotypic Immune System Development in Newborn Children. *Cell* **2018**, *174*, 1277–1292.e14. [CrossRef]
28. Taft, D.H.; Liu, J.; Maldonado-Gomez, M.X.; Akre, S.; Huda, M.N.; Ahmad, S.M.; Stephensen, C.B.; Mills, D.A. Bifidobacterial Dominance of the Gut in Early Life and Acquisition of Antimicrobial Resistance. *mSphere* **2018**, *3*, e00441-18. [CrossRef]
29. Yassour, M.; Vatanen, T.; Siljander, H.; Hämäläinen, A.-M.; Härkönen, T.; Ryhänen, S.J.; Franzosa, E.A.; Vlamakis, H.; Huttenhower, C.; Gevers, D. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Sci. Transl. Med.* **2016**, *8*, 343ra81. [CrossRef]
30. Backhed, F.; Roswall, J.; Peng, Y.; Feng, Q.; Jia, H.; Kovatcheva-Datchary, P.; Li, Y.; Xia, Y.; Xie, H.; Zhong, H.; et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe* **2015**, *17*, 690–703. [CrossRef]
31. Casaburi, G.; Frese, S.A. Colonization of breastfed infants by Bifidobacterium longum subsp. infantis EVC001 reduces virulence gene abundance. *Hum. Microbiome J.* **2018**, *9*, 7–10. [CrossRef]
32. Zivkovic, A.M.; German, J.B.; Lebrilla, C.B.; Mills, D.A. Human milk glycobiome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 4653–4658. [CrossRef] [PubMed]
33. Sela, D.A.; Chapman, J.; Adeuya, A.; Kim, J.H.; Chen, F.; Whitehead, T.R.; Lapidus, A.; Rokhsar, D.S.; Lebrilla, C.B.; German, J.B.; et al. The genome sequence of Bifidobacterium longum subsp. infantis reveals adaptations for milk utilization within the infant microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 18964–18969. [CrossRef] [PubMed]

34. Underwood, M.A.; German, J.B.; Lebrilla, C.B.; Mills, D.A. Bifidobacterium longum subspecies infantis: Champion colonizer of the infant gut. *Pediatr. Res.* **2015**, *77*, 229–235. [CrossRef] [PubMed]
35. De Leoz, M.L.; Kalanetra, K.M.; Bokulich, N.A.; Strum, J.S.; Underwood, M.A.; German, J.B.; Mills, D.A.; Lebrilla, C.B. Human milk glycomics and gut microbial genomics in infant feces show a correlation between human milk oligosaccharides and gut microbiota: A proof-of-concept study. *J. Proteome Res.* **2015**, *14*, 491–502. [CrossRef] [PubMed]
36. Henrick, B.M.; Chew, S.; Casaburi, G.; Brown, H.K.; Frese, S.A.; Zhou, Y.; Underwood, M.A.; Smilowitz, J.T. Colonization by B. infantis EVC001 modulates enteric inflammation in exclusively breastfed infants. *Pediatr. Res.* **2019**, *86*, 749–757. [CrossRef]
37. Orivuori, L.; Mustonen, K.; de Goffau, M.; Hakala, S.; Paasela, M.; Roduit, C.; Dalphin, J.C.; Genuneit, J.; Lauener, R.; Riedler, J. High level of fecal calprotectin at age 2 months as a marker of intestinal inflammation predicts atopic dermatitis and asthma by age 6. *Clin. Exp. Allergy* **2015**, *45*, 928–939. [CrossRef]
38. Vatanen, T.; Kostic, A.D.; d'Hennezel, E.; Siljander, H.; Franzosa, E.A.; Yassour, M.; Kolde, R.; Vlamakis, H.; Arthur, T.D.; Hamalainen, A.M.; et al. Variation in Microbiome LPS Immunogenicity Contributes to Autoimmunity in Humans. *Cell* **2016**, *165*, 842–853. [CrossRef]
39. Karav, S.; Casaburi, G.; Frese, S.A. Reduced colonic mucin degradation in breastfed infants colonized by Bifidobacterium longum subsp. infantis EVC001. *FEBS Open Bio* **2018**, *8*, 1649–1657. [CrossRef] [PubMed]
40. Ehrlich, A.M.; Henrick, B.; Pacheco, A.; Taft, D.; Xu, G.; Huda, N.; Lozada-Contreras, M.; Goodson, M.; Slupsky, C.; Mills, D. Bifidobacterium grown on human milk oligosaccharides produce tryptophan metabolite Indole-3-lactic acid that significantly decreases inflammation in intestinal cells in vitro. *FASEB J.* **2018**, *32*, lb359.
41. Meng, D.; Sommella, E.; Salviati, E.; Campiglia, P.; Ganguli, K.; Djebali, K.; Zhu, W.; Walker, W.A. Indole-3-lactic acid, a metabolite of tryptophan, secreted by Bifidobacterium longum subspecies infantis is anti-inflammatory in the immature intestine. *Pediatr. Res.* **2020**, 1–10. [CrossRef]
42. Fukuda, S.; Toh, H.; Hase, K.; Oshima, K.; Nakanishi, Y.; Yoshimura, K.; Tobe, T.; Clarke, J.M.; Topping, D.L.; Suzuki, T.; et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* **2011**, *469*, 543–547. [CrossRef] [PubMed]
43. Arrieta, M.C.; Stiemsma, L.T.; Dimitriu, P.A.; Thorson, L.; Russell, S.; Yurist-Doutsch, S.; Kuzeljevic, B.; Gold, M.J.; Britton, H.M.; Lefebvre, D.L.; et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci. Transl. Med.* **2015**, *7*, 307ra152. [CrossRef] [PubMed]
44. Vighi, G.; Marcucci, F.; Sensi, L.; Di Cara, G.; Frati, F. Allergy and the gastrointestinal system. *Clin. Exp. Immunol.* **2008**, *153*, 3–6. [CrossRef] [PubMed]
45. Lynch, S.V.; Boushey, H.A. The microbiome and development of allergic disease. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **2016**, *16*, 165–171. [CrossRef]
46. Eder, W.; Ege, M.J.; von Mutius, E. The asthma epidemic. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *355*, 2226–2235. [CrossRef]
47. Insel, R.; Knip, M. Prospects for primary prevention of type 1 diabetes by restoring a disappearing microbe. *Pediatr. Diabetes* **2018**, *19*, 1400–1406. [CrossRef]
48. Guandalini, S.; Newland, C.D. Pediatric Malabsorption Syndromes Workup. Available online: https://emedicine.medscape.com/article/931041-workup (accessed on 20 February 2020).

© 2020 a szerzőktől. A licenc tulajdonosa MDPI, Bázel, Svájc. Ez a közlemény szabad hozzáférésű kiadvány, amely a Kreatív Közjavak („Creative Commons") szabad licenc feltételei és időkorlátai szerint került terjesztésre

(CC BY) licenc (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).