

МАСТИТ У ЖЕНЩИН:

НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СТАРУЮ ПРОБЛЕМУ

Грудное молоко содержит представители микробиоты, влияющие не только на здоровье ребенка, но и на состояние молочных желез кормящей женщины как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе. По сути, дисбиоз микробиоты грудного молока, вызванный нарушенным состоянием здоровья материнского организма, а также воздействием микробиологических и медицинских факторов, часто способствует развитию острого, подострого или субклинического мастита – патологии, которая нередко приводит к прекращению грудного вскармливания. Устойчивость к антибиотикам, способность к формированию биопленок, связыванию железа, а также влияние на иммунный ответ хозяина являются общими чертами современных бактериальных возбудителей (в основном стафилококков, стрептококков и коринебактерий), вызывающих в т. ч. и мастит. Это объясняет, почему человек становится невосприимчивым к антибактериальной терапии и почему разработка новых направлений лечения мастита на основе пробиотиков становится очень привлекательной. Некоторые штаммы лактобактерий, выделенных из молока, уже показали высокую эффективность для профилактики и лечения мастита у кормящих женщин.

Ключевые слова: грудное молоко, микрофлора, мастит, дисбиоз, грудное вскармливание, стафилококки (*Staphylococcus*), стрептококки (*Streptococcus*), коринебактерии (*Corynebacterium*), пробиотики.

JUAN M. RODRIGUEZ, Doctor, Department of Nutrition, Bromatology and Food Technology, the Complutense University of Madrid, Spain

MASTITIS IN WOMEN: A NEW LOOK AT THE OLD PROBLEM

Breast milk contains representatives of the microbiota which affect not only the health of child but also the condition of mammary glands in breastfeeding women both in the short and long term. In fact, dysbiosis of the breast milk microbiota caused by the mother's body dysfunction as well as exposure to microbial and health factors, often contributes to the development of acute, subacute or subclinical mastitis. The pathology frequently results in the cessation of breastfeeding. Antibiotic resistance, ability to form biofilms, iron binding capacity, as well as the impact on the host's immune response, are the common features of today's bacterial pathogens (mainly staphylococci, streptococci and corynebacteria) which may also cause mastitis. This explains why people may become immune to antibiotic therapy, and why the development of new approaches in mastitis treatment using probiotics is becoming very attractive. Some strains of lactobacilli isolated from milk have already demonstrated high efficacy in the prevention and treatment of mastitis in lactating women.

Keywords: breast milk, microflora, mastitis, dysbiosis, breastfeeding, staphylococci (*Staphylococcus*), streptococci (*Streptococcus*), corynebacteria (*Corynebacterium*), probiotics.

И.Н. ЗАХАРОВА, д.м.н., профессор, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

Грудное молоко – это полноценное и незаменимое питание ребенка первого года жизни, обеспечивающее правильное физическое и психоэмоциональное развитие. Уникальный состав материнского молока способствует гармоничному росту и формированию кишечной микробиоты младенца, поэтому поддержка грудного вскармливания – одна из важнейших задач педиатра. Неоценимую помощь оказывают компании – производители продукции, способствующей поддержанию и стимуляции лактации. В России широко известна компания МЕДЕЛА (Швейцария), имеющая собственные исследования и огромный опыт в этой сфере. Инновационные молокоотсосы компании МЕДЕЛА с технологией двойного сцеживания имитируют естественную манеру сосания груди ребенком, удобны в использовании, способствуют нормализации лактации, предотвращая лактационный мастит и другие проблемы со стороны молочных желез в период грудного вскармливания. Уникальный состав женского молока постоянно изучается, предлагаем ознакомиться с новыми данными в статье доктора Х.М. Родригеса.

Лактационный мастит является актуальной проблемой здравоохранения. В последние годы наблюдается повышенный интерес к грудному вскармливанию, поскольку его полезные медицинские, психосоциальные, экономические и экологические преимущества хорошо известны [1]. Грудное молоко исключительным образом подходит для удовлетворения ребенка в питании и является натуральным продуктом с уникальными иммунологическими, микробиологическими и биохимическими свойствами, который защищает от множества заболеваний как матерей, так и детей. В связи с этим исключительно грудное вскармливание рекомендуется в течение первых 6 месяцев жизни с возможным кормлением и дольше по взаимному желанию матери и ребенка.

Однако часто бывает трудно исполнить такие рекомендации, что может быть обусловлено рядом причин. С медицинской точки зрения мастит представляет собой первую причину возможного отлучения от груди, при этом среди кормящих женщин отлучение от груди происходит в 35% случаях при наличии клинического мастита [2, 3].

Мастит: определение и классификация. Мастит означает воспаление любой части молочной железы, включая не только ткани внутри железы, но и соски и ареолы молочных желез. Однако на практике этот термин обычно используется для определения инфекционного процесса в молочной железе, который обычно (но не всегда!) возникает во время лактации или послеродового периода и характеризуется разнообразием местных и в некоторых случаях системных проявлений [1]. Инфекционная природа лактационного мастита позволяет дифференцировать это состояние от других патологических процессов молочной железы, таких как рак молочной железы, болезнь Рейно, болезненное сужение сосуда соска во время грудного вскармливания.

Лактационный мастит чаще всего делится на подгруппы в зависимости от разных, и иногда противоречивых, критериев. Одним из них является наличие или отсутствие клинических проявлений. Мастит означает воспаление молочной железы, которое может сопровождаться или не сопровождаться системными симптомами. Термин «субклинический мастит» используется для описания случаев, характеризующихся пониженной секрецией грудного молока и высокой его бактериальной обсемененностью при отсутствии явных воспалительных изменений, в т. ч. боли [4]. Посев на выявление количества соматических клеток в молоке (SCCs) и микробных культур обычно используется для диагностики субклинического мастита в ветеринарии, но в отличие от него нет стандартного научного или медицинского подхода к диагностике субклинического мастита у женщин. Высказано предположение, что термин «субклинический мастит» следует использовать для описания тех случаев, которые характеризуются отсутствием местных и системных воспалительных изменений, пониженной секрецией молока (что обычно ошибочно воспринимается мамами/врачами как «низкая выработка молока», «недостаточность молока»), а также высокой бактериальной его обсемененностью [5].

Анализ симптоматики мастита и особенностей течения болезни (острое, подострое, гранулематозное, хроническое и/или рецидивирующее) является полезным для деления заболевания на различные типы.

ЛАКТАЦИОННЫЙ МАСТИТ КАК ПРОЦЕСС ДИСБИОЗА

Процесс лактации был успешным со времен древнейших млекопитающих, что позволило тысячам видов занять определенные экологические ниши. Сформированные тысячелетиями в процессе эволюции некоторые ассоциации «хозяин – бактерия» приобрели взаимовыгодные отношения в желудочно-кишечном тракте млекопитающих, создав условия для мутуализма. Весьма вероятно, что то же самое может быть применимо к молочной железе и молоку.

Здоровая микробиота молока содержит сбалансированный видовой состав бактерий. Несколько симбиотических штаммов бактерий, выделенных из грудного молока, способны предотвратить инфекционные и воспалительные заболевания. Однако аналогично другим системам человека «нормальная» микробиота молока также может

содержать микроорганизмы («патобионты»), которые могут вызывать воспаление при определенных условиях, как правило действуя в качестве оппортунистических патогенных микроорганизмов. Таким образом, микробиота грудного молока может провоцировать развитие как про-, так и противовоспалительных реакций. Состав бактериальных сообществ в грудном молоке может быть тесно связан с нормальным функционированием иммунной системы и биохимическим составом молока, который является очень сложным и показывает высокую степень изменчивости у различных людей. Это может помочь в объяснении того, почему мастит остается частым осложнением при вскармливании среди большинства, если не всех, видов млекопитающих.

Национальная библиотека медицины США определяет термин «дисбиоз» как «изменения в количественном и качественном составе микробиоты, что может способствовать изменению взаимодействий “хозяин – микроб” или дисбалансу гомеостаза, что может способствовать возникновению воспаления». Все известные факты указывают на то, что лактационный мастит может быть результатом дисбиоза в молочной железе и этим похож на развитие микробного дисбиоза в других зонах, например в кишечнике или во влагалище (вагинит, вагиноз) (рис. 1) [2, 3, 6]. В условиях дисбиоза происходит сдвиг в составе микробиоты, что приводит к потере разнообразия бактерий с качественным и количественным уменьшением численности симбионтов и, как правило, резким увеличением концентрации одного или более патобионтов (рис. 1). Причины такого перехода не совсем понятны, но дисбиоз может повлиять на взаимодействие «хозяин – микроб» и может привести к развитию болезни. В целом более широкое разнообразие видов микроорганизмов получается более выгодным, потому что считается, что разнообразная экосистема является более устойчивой. Исследования микробиома кишечника подтверждают существенное влияние европеизированного образа жизни на разнообразие микробов и патофизиологию многих заболеваний. Такие факторы, как способ деторождения и метод кормления, санитарные условия, введение антибиотиков и вакцин, западная диета и потребление искусственных питательных веществ, оказывают большое влияние на кишечную флору. Поскольку микробиота кишечника оказывает сильное влияние на микробиоту молока человека, западный образ жизни также может иметь аналогичное воздействие на микробиоту молока.

ЭТИОПАТОГЕНЕЗ ЛАКТАЦИОННОГО МАСТИТА

Следует отметить, что микробиологический анализ молока является единственным методом, который позволяет подтвердить диагноз мастита, и очень полезным эпидемиологическим инструментом для выявления культуры микроорганизмов. Это может оказаться простым, но не легким вопросом отчасти из-за отсутствия унифицированных или стандартных протоколов для сбора биологической жидкости, сомнений, которые часто возникают при интерпретации результатов и отсутствии традиций при проведе-

нии микробиологического анализа молока. Наличие репрезентативной выборки при проведении микробиологического анализа молока имеет первостепенное значение для того, чтобы поставить правильный диагноз [7]. Использование нестерильных молокоотсосов и других устройств для сбора образцов молока способствует появлению высокой концентрации примесей некоторых бактерий, в частности энтеробактерий – *Pseudomonas spp.*, *Stenotrophomonas spp.* и др., дрожжей (*Candida spp.*), которые поступают из промывочной воды, при манипуляциях и из других источников, но не имеют отношения к молоку [8]. Прочие факторы, которые могут рассматриваться при постановке диагноза, включают надежную идентификацию микроорганизмов, обнаруженных в исследуемой культуре, их концентрацию, одновременные доказательства воспалительного процесса, и если да, то в какой степени.

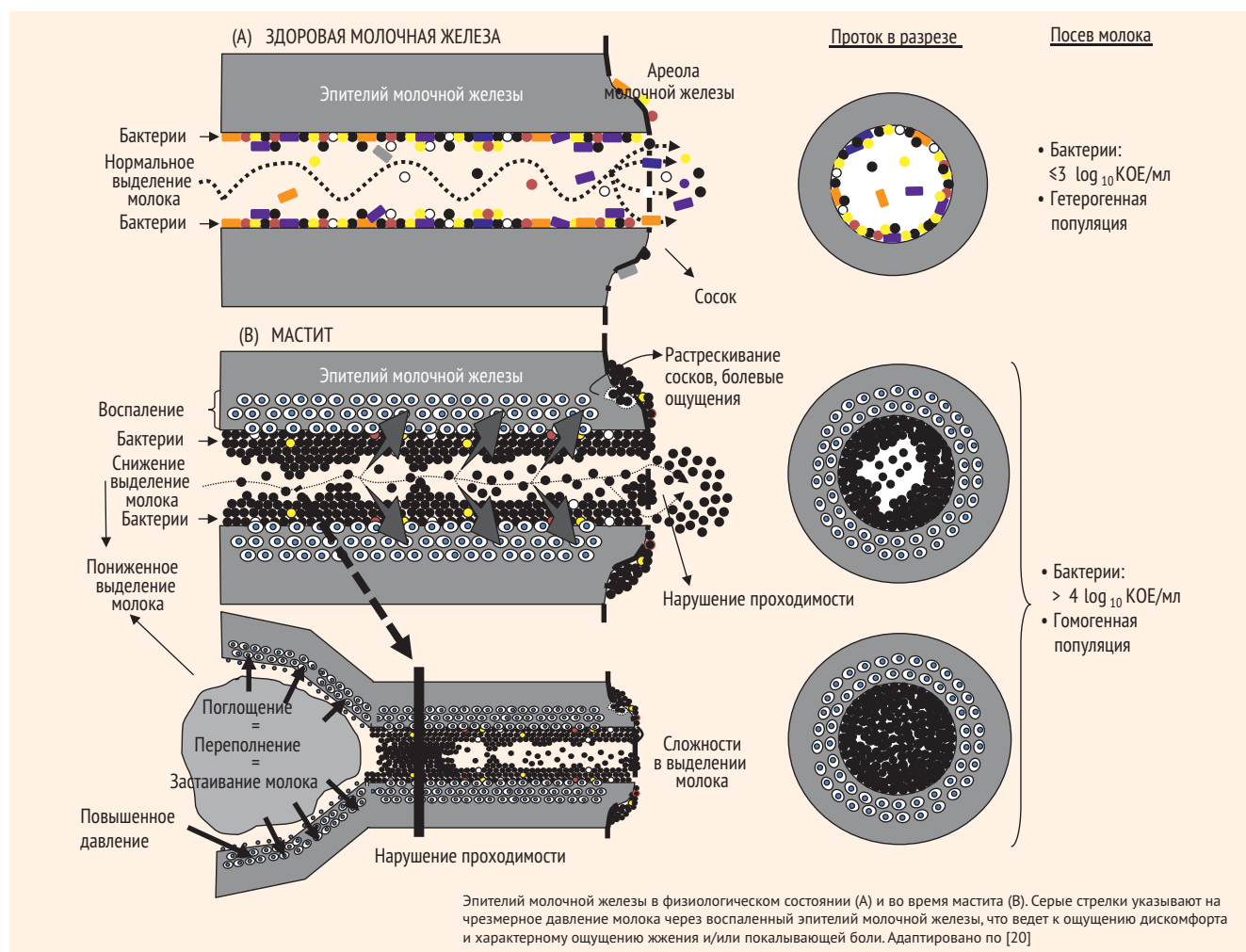
Внедрение методов молекулярной микробиологии при диагностике мастита было чрезвычайно полезным. В настоящее время растет значимость матрично-активированной лазерной десорбции/времетраjectory масс-спектрометрии с ионизацией (MALDI-TOF MS) в качестве инструмента идентификации бактерий с высокой достоверностью и скоростью. Предложены некоторые методы идентификации на

основе ПЦР в реальном времени непосредственно из молока, которые обладают целым рядом преимуществ по сравнению с обычным посевом культур, к которым относятся скорость, автоматизированная интерпретация результатов и повышенная чувствительность. Однако при использовании этого метода исследования необходимо учитывать, что помимо живых бактерий молоко содержит большое количество мертвых бактерий и несвязанные бактериальные ДНК. К сожалению, в настоящее время по-прежнему требуется бактериальный посев для рутинной диагностики мастита.

Острый мастит

Золотистый стафилококк (*S. aureus*) является основным этиологическим агентом острого мастита [9–11]. Попадая в молочную железу, он может размножаться и выделять токсины, которые приводят к сильному воспалению ткани молочных желез, и, как следствие, при этом обычно появляются выраженные местные симптомы: покраснение груди, высокая температура, боль (рис. 2А). Так как в молочной железе усилен кровоток в течение всего периода лактации, токсины быстро всасываются и попадают в кровь, вызывая активацию продукции цитокинов в организме хозяина, что в конечном итоге способствует появлению системных гриппоподобных симптомов: повышению

Рисунок 1. Схематическое представление процесса дисбиоза, ведущего к маститу у женщин



температуры, появлению болей в мышцах и суставах, общему физическому дискомфорту (рис. 2А). Учитывая наличие типичных местных и системных признаков, свидетельствующих о развитии острого мастита, диагноз его, как правило, устанавливается своевременно и правильно.

Подострый и субклинический мастит

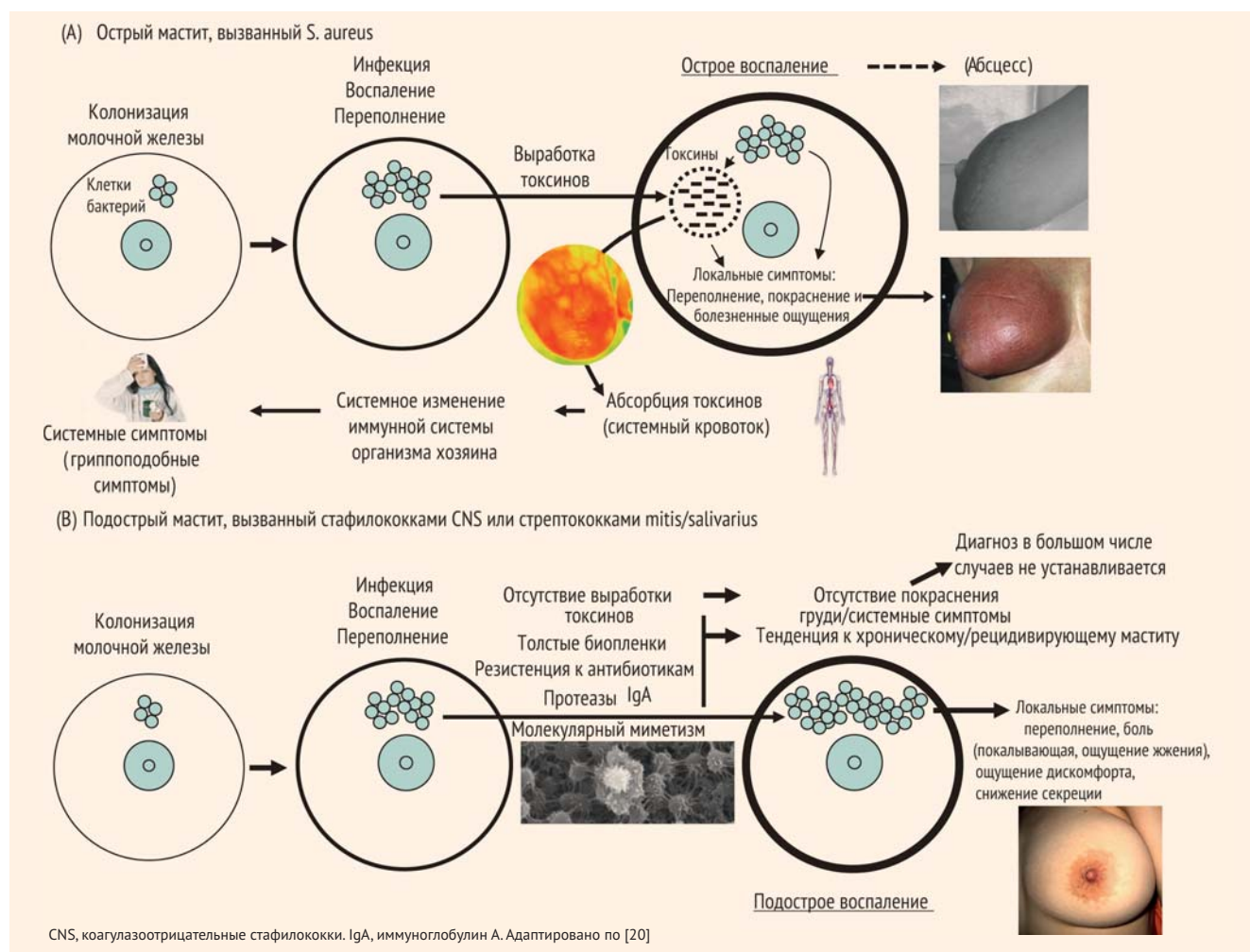
Коагулазонегативные стафилококки (CNS) и стрептококки *mitis* и *salivarius* являются обычными обитателями экосистемы молочных желез во время лактации. В физиологических условиях они образуют тонкие биопленки на эпителии молочных протоков, обеспечивая нормальный поток молока (рис. 2В). Давление молока во время его выброса выносит относительно небольшое число бактерий, которые впоследствии передаются младенцу (рис. 2В). Избыточному росту таких бактерий, ведущих к развитию подострого или субклинического мастита, могут способствовать различные факторы. Поскольку CNS и стрептококки *mitis/salivarius* не производят токсины, провоцирующие развитие острого мастита, гриппоподобных симптомов при данной форме мастита не наблюдается, местные симптомы в грудной железе, как правило, мягче, отсутствует покраснение груди. Однако в этих условиях микробы могут формировать толстые биопленки внутри протоков с раз-

витием воспаления в эпителии грудной железы. При прохождении молока через суженные протоки увеличение давления грудного молока на воспаленный эпителий молочных ходов приводит к характерной боли, похожей на покалывание иглы и жжение. Бактериальные биопленки могут заполнить некоторые протоки, затрудняя или блокируя поток молока и приводя к огрубению груди (рис. 2В).

К сожалению, в тех немногих случаях, когда при данной ситуации проводится бактериальный посев грудного молока, CNS обычно рассматривается как условно-патогенные или сапрофитные бактерии вне зависимости от их концентрации. Если наблюдается высокая концентрация (>до 3 log10 КОЕ/мл) CNS или стрептококков в молоке, а, например, золотистый стафилококк не обнаруживается, заболевание ошибочно диагностируют как неинфекционный мастит. Это приводит к тому, что подострый и субклинический мастит во многом недооцениваются несмотря на то, что являются наиболее частыми причинами раннего нежелательного отлучения от груди [2, 3].

Среди CNS *S. epidermidis* является видом, который в большинстве случаев вызывает лактационный мастит у женщин [6, 12–15]. Как правило, этот микроорганизм является условно-патогенным обитателем здоровой кожи

Рисунок 2. Схематическое представление этиопатогенеза острого (А) и подострого (В) мастита



и слизистых покровов человека, а также общим нозокомиальным патогеном. При определенных условиях *S. epidermidis* может превращаться в патоген. Хотя CNS не являются в той же мере патогенными, что и *S. aureus*, и инфекция остается в основном в подострой или субклинической стадии, они могут приводить к увеличению в молоке числа соматических клеток (КСК), повреждению тканей и снижению качества и секреции молока.

Мастит могут вызывать некоторые виды семейства *Micrococcaceae*, которые тесно связаны с таксономической точки зрения с семейством *Staphylococcaceae*. Они включают в себя *Rothiadentocariosa*, *Rothiamucilaginoso*, *Kocuriarosea* и *Kocuriakristinae*, часто присутствующие при оппортунистических инфекциях человека. В последние годы таксономические перестройки, затрагивающие эти семейства, могут отвечать за идентификацию изолятов, принадлежащих к таким видам.

Стрептококки группы В, *Streptococcus uberis* или *Streptococcus dysgalactiae* являются частыми возбудителями мастита у крупного рогатого скота, но редко вызывают мастит у людей в отличие от наиболее распространенных видов стрептококков, которые часто поражают людей, включают *Streptococcus mitis*, *Salivarius Streptococcus* и родственные виды [2, 16]. Важно отметить, что в последние годы было описано множество новых видов стрептококков и близкородственных родов, следовательно, последствия стрептококков для развития мастита должны быть тщательно перепроверены.

Гранулематозный мастит

Некоторые коринебактерии, в т. ч. *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium amycolatum* и *Corynebacterium tuberculoostearicum*, являются возбудителями гранулематозного очагового мастита – хронического воспалительного заболевания, этиология которого ранее считалась невыясненной [17]. У пациентов, как правило, имеется увеличенное, умеренно мягкое образование в груди, которое иногда связано с местным воспалением, болезненностью, но оно может стать хроническим и спровоцировать появление обезображивающих последствий для груди. Коринебактерии могут образовывать гранулематозные структуры глубоко в ткани молочной железы. Ранее их необоснованно исключали из списка возбудителей мастита [18, 19].

В настоящее время *C. kroppenstedtii* считается основным возбудителем гранулематозного мастита. Это липофильный вид бактерий, что обеспечивает плотное соединение с жировыми шариками, предоставляя легкий доступ к обильным источникам жирных кислот. Поэтому неудивительно, что гистологические препараты всегда показывают бактериальные клетки в центральной липид-содержащей вакуоли [17].

ФАКТОРЫ, ПРЕДРАСПОЛАГАЮЩИЕ К РАЗВИТИЮ МАСТИТА

Состояние молочной железы зависит от здоровья женщины и микробиоты молока, содержащей микроорганизмы, начиная от симбионтов или пробиотиков для патобионтов или потенциально инфекционных возбу-

дителей. Таким образом, есть много внутренних особенностей организма, а также микробиологических и медицинских факторов, которые могут играть важную роль в развитии мастита [5] (рис. 3).

Внутренние факторы организма

Чтобы ответить на вопрос, какие существуют механизмы, способствующие предотвращению развития мастита, необходимо понимание различий между организмами хозяев. Изменение характера питания, ношение плотно прилегающего бюстгалтера, рост приема антибиотиков во время беременности могли усугубить эту проблему для людей. Несколько лет назад было сообщено о первом случае гранулематозного мастита, вызванного инфекцией *C. kroppenstedtii*, связанного с однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) в гене NOD2 (SNP13 (Leu1007fsinsC)) [19]. Такие однонуклеотидные полиморфизмы привели к существенному нарушению нейтрофильной реакции на агонисты Nod2.

Кроме того, было высказано предположение, что некоторые стафилококковые и стрептококковые штаммы могут использовать механизмы молекулярного миметизма с участием хозяин-специфических антигенов лейкоцитов человека (HLA), чтобы избежать реакции иммунной системы. Сигнализация толл-подобных рецепторов (TLR) 2 (TLR2) играет ключевую роль при стафилококковых инфекциях из-за взаимодействия этого рецептора и мажоритарных компонентов (LTA и PGN) для клеточной стенки стафилококка. Было замечено, что после сигнализации TLR2 *S. aureus* подавляет реакции IL-2 Т-клеток посредством модуляции HLR-DA, кластера дифференцировки 86 (CD86 или B7.2) и лиганда 1 (PD-L1) запрограммированной смерти белка.

Различия в селектине, антигенах Льюиса и генные детерминанты олигосахаридов грудного молока (НМО) хозяина также могут стать причиной предрасположенности или защиты от мастита за счет изменения активации нейтрофилов и выработки активных форм кислорода. В связи с этим молекулы НМО, присутствующие в грудном молоке, способны модулировать микробиоту у грудных детей. Таким образом, можно предположить, что НМО также способны модулировать бактериальные сообщества в молочной железе. Интересно, что на основе секреции и систем групп крови Льюиса было выделено четыре различные группы грудного молока. В то время как молоко «секретирующей» женщины насыщено 2'фукозиллактозой и другими α1-2-фукозилированными НМО, «несекретирующие» женщины не имеют функционального FUT2-фермента, в результате чего их молоко не содержит α1-2-фукозилированных НМО. Интересно, что некоторые штаммы стафилококков, основных возбудителей мастита, связываются с 2'фукозиллактозой. Поэтому вполне возможно, что предрасположенность к маститу определяется не только бактериальным составом грудного молока, но и группой крови и соответствующим типом НМО в молоке.

Грудное молоко содержит широкий спектр других биологически активных веществ, и более высокая или низкая экспрессия генов, ответственных за их биосинтез, может быть связана с более высоким или низким риском развития мастита.

Микробные факторы

Экосистема млекопитающих восприимчива ко многим микроорганизмам, включая бактериальные группы, которые могут быть потенциальными возбудителями мастита. К сожалению, точные причинно-следственные связи, приведшие к переходу от колонизации до инфекции, еще плохо определены в исследованиях *in vivo*. Состав микробиома молока зависит от организма хозяина [11, 20]. Этот состав может стать важным фактором, который определяет, будет ли женщина страдать, или же будет защищена от мастита. Способность к колонизации и, в конце концов, к инфицированию хозяина зависит не только от каждого вида бактерий, но и от каждого штамма в пределах одного вида. Она включает экспрессию факторов вирулентности, устойчивости к противомикробным препаратам, формирование биопленок и наличие других механизмов, которые позволяют предотвратить иммунную реакцию организма хозяина.

На уровне видов в молочной железе наблюдаются патоген-специфические местные транскрипционные нарушения [10].

Известно, что условно-патогенные микроорганизмы могут стать патогенными. Например, *S. epidermidis* является одним из наиболее известных и хорошо изученных микроорганизмов, вызывающих наибольшее количество инфекций. Интересным фактом является то, что лактирующие молочные железы содержат необычайно сложную сеть протоков во время лактации, которая обеспечивает

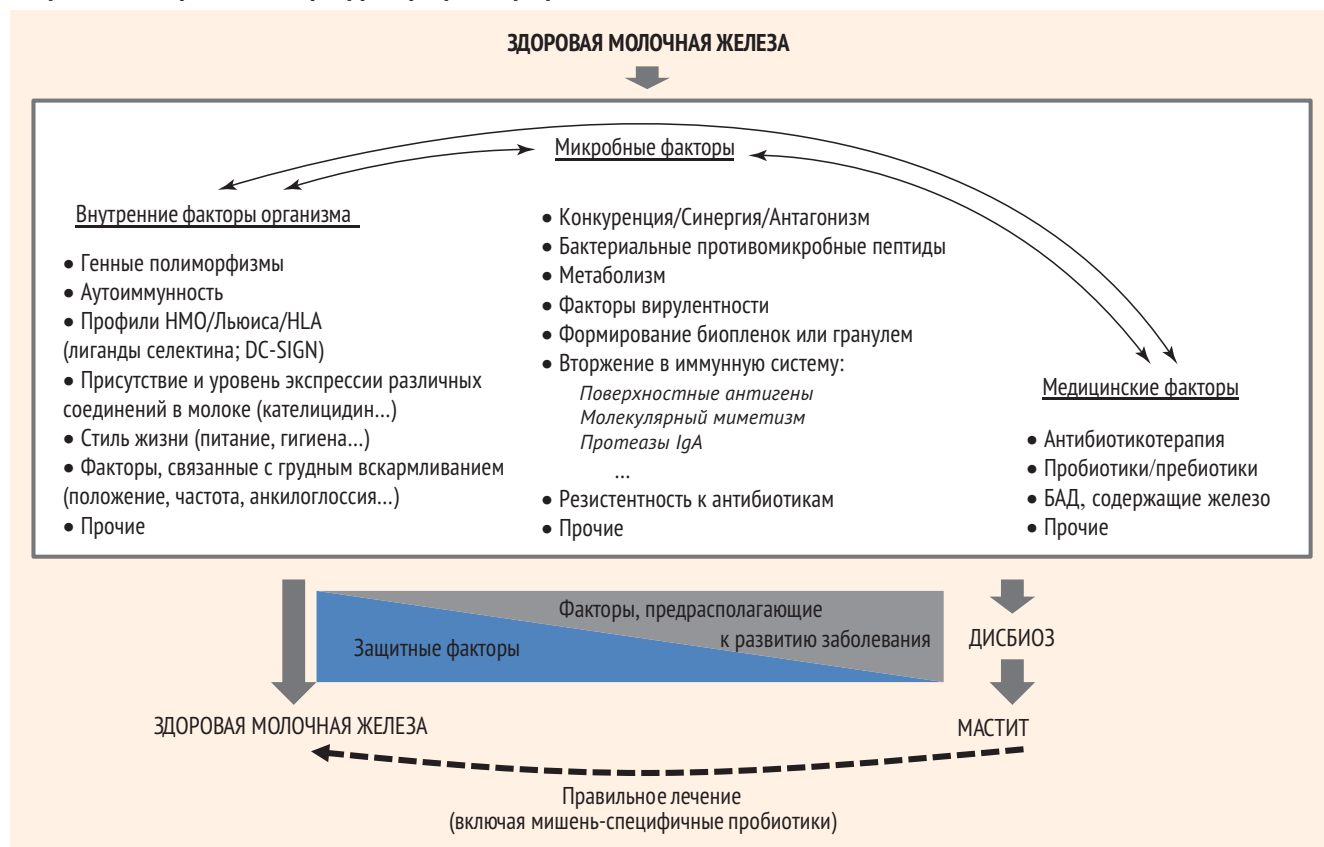
отличную физическую поддержку для этого микроорганизма (рис. 4). Кроме того, метаболизм лактозы и галактозы является высокоэффективным через D-тагатаза-6-фосфатный путь. Наконец, эта бактерия легко метаболизирует олигосахариды грудного молока человека.

Биопленки являются многоклеточными, прикрепляющимися к поверхности агрегациями микроорганизмов (рис. 4). Например, большинство биопленок *S. epidermidis*, связанных с заболеваниями, зависят от экспрессии межклеточного адгезина полисахаридов (PIA). В этом контексте сравнение некоторых свойств 200 штаммов *S. epidermidis*, выделенных от женщин с маститом, со 105 штаммами, выделенными из молока здоровых женщин, показали, что количество штаммов, которые содержали гены, связанные с биопленкой, и проявляли устойчивость к оксациллину, эритромицину, клиндамицину и мупироцину, было значительно выше среди штаммов, выделенных из молока женщин с маститом [14]. Авторы предположили, что устойчивость к различным антибиотикам и высокая способность к образованию биопленок, выявленная среди клинических штаммов, объяснима хроническим и рецидивирующим характером этого инфекционного заболевания.

Медицинские факторы

Есть два распространенных фактора: антибиотикотерапия и использование железа в конце беременности или в период лактации, которые могут оказать существенное влияние на микробиом грудной железы/молока. При

Рисунок 3. Несколько взаимосвязанных внутренних факторов организма, микробных и медицинских факторов могут играть защитную или стимулирующую роль при развитии мастита



оценке соотношения пользы и риска оба фактора могут потребоваться для предотвращения или лечения различных патологий, однако их использования следует избегать, если медицинских показаний нет.

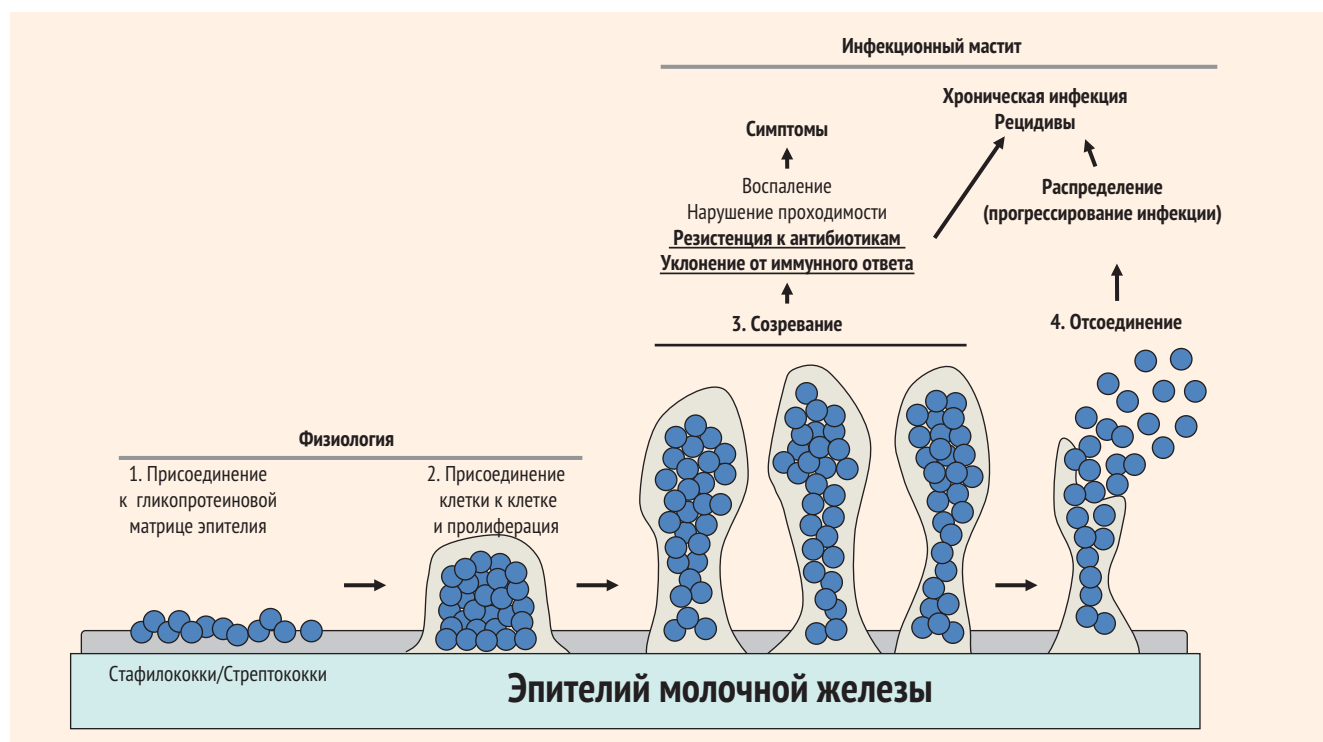
Антибиотикотерапия во время родов, часто связанная с кесаревым сечением, преждевременным или затяжным излитием околоплодных вод или профилактикой инфекций, вызываемых стрептококками группы Б (GBS) во время родов, стала мощным фактором риска для развития мастита из-за отбора устойчивых к антибиотикам бактерий в среде молочной железы и ликвидации возможных природных конкурентов [2, 3]. Устойчивость к антибиотикам из-за механизмов, связанных и не связанных с формированием биопленок, является достаточно распространенной характеристикой среди возбудителей мастита [2].

В недавно проведенном исследовании оценивалось влияние различных факторов на обнаружение лактобацилл и бифидобактериальных ДНК методом ПЦР [21]. Фактором, который оказал наибольшее влияние на присутствие лактобацилл или бифидобактерий, стала антибиотикотерапия матери во время беременности или грудного вскармливания, а именно: обнаружение ДНК лактобацилл или бифидобактерий в пробах молока было существенно ниже у тех женщин, которые проходили антибиотикотерапию в такие периоды. Лактобактерии также реже обнаруживались в молоке женщин, которые подверглись операции кесарева сечения, вероятно, из-за антибиотикотерапии, назначенной в послеоперационный период.

Широко известно, что антибиотики являются причиной дисбиоза микробиоты кишечника человека и приводят к развитию антибиотик-ассоциированной диареи,

гастроэнтерита, инфекций мочеполовой сферы и полости рта. Взаимодействие «хозяин – микробиота» динамично, и изменение микрофлоры вследствие лечения антибиотиками может привести к нарушению регуляции иммунного гомеостаза и повышенной восприимчивости к инфекционным, аллергическим и воспалительным заболеваниям. В последние годы становится очевидно, что антибиотикотерапия во время беременности, родов или кормления грудью изменяет материнскую микробиоту (кишечника, влагалища, молочных желез), что может иметь негативные последствия для здоровья ребенка. Снижение в молоке количества лактобактерий и бифидобактерий может иметь негативные последствия для грудных детей, поскольку они играют полезную роль в поддержании здоровья ребенка. Некоторые исследования показали, что дети с задержкой колонизации или уменьшением числа этих бактерий могут быть более восприимчивыми к различным заболеваниям желудочно-кишечного тракта и аллергическим состояниям. В последнее время комплексный анализ фекальной микробиоты у младенцев с кишечными коликами по сравнению с контрольной группой младенцев показал, что содержание бифидо- и лактобактерий было значительно снижено у младенцев, страдавших от колик. В ряде исследований было показано, что частота колик у детей уменьшалась на фоне приема штамма *Lactobacillus*, полученного из грудного молока. Наконец, потеря лактобактерий и бифидобактерий в молоке на фоне антибактериальной терапии может оказать негативное воздействие на здоровье молочной железы из-за разрастания колоний возбудителей мастита [4].

Рисунок 4. Стадии формирования биопленки внутри протоков молочной железы, приводящие к маститу



Назначение препаратов железа стало обычной практикой во время беременности и лактации, даже для женщин, у которых гематологические показатели, связанные с содержанием железа, находятся в пределах физиологических значений, и, следовательно, добавки с железом не нужны. Уникальный окислительно-восстановительный потенциал железа позволяет ему участвовать в различных биохимических реакциях. Железо является жизненно важным элементом для роста и распространения болезнетворных бактерий. Бактериальные патогены могут поглощать железо в период течения инфекции. Например, железо способствует росту *S. aureus*, это является обязательным условием для колонизации, распространения и последующего патогенеза заболевания, вызванного этим микроорганизмом [22]. Аналогично способность *S. epidermidis* выдерживать высокую бактерицидную активность крови человека имеет решающее значение для системного распространения, в т. ч. колонизации молочной железы в конце беременности и в период лактации, периоды, когда васкуляризация очень высока. Исследование транскриптома биопленок *S. epidermidis* при контакте с человеческой кровью показало повышение транскрипции генов, участвующих в биосинтезе и метаболизме аминокислот, низкомолекулярных соединений, карбоновых и органических кислот и клеточных кетонов. Однако одним из самых ярких изменений, которое наблюдалось через 4 часа после воздействия *S. epidermidis* на кровь человека, была повышенная экспрессия генов, участвующих в утилизации железа. Этот факт свидетельствует о том, что приобретение железа является важным для выживания *S. epidermidis* в крови человека. Поэтому потребление железа в конце беременности и в период кормления грудью может способствовать селективному росту стафилококков в грудной железе, существенно увеличивая риск мастита. Таким образом, препараты железа следует назначать только тогда, когда это действительно требуется.

МАСТИТ: МИШЕНЬ ДЛЯ ПРОБИОТИКОВ?

Пробиотические бактерии, выделенные из грудного молока, являются весьма полезными микроорганизмами, поскольку безопасны для длительного приема особо чувствительной группой населения (новорожденные, младенцы). Среди бактерий, выделенных из грудного молока, такие виды, как *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. paraplantarum*, *L. gasseri*, *L. fermentum* и *B. Breve*, имеют статус безопасности, предоставленный Европейским агентством по безопасности продуктов питания (EFSA). В отличие от других бактерий штаммы грудного молока человека уникальным образом приспосабливаются к выживанию в пищеварительном тракте человека и взаимодействию в симбиозе с организмом с момента рождения [23].

Как говорилось ранее, полирезистентность к антибиотикам вместе с формированием биопленок и механизмами уклонения от иммунного ответа хозяина является общей чертой стафилококков, участвующих в развитии мастита. В этой связи разработка новых стратегий лечения мастита, основанных на пробиотиках грудного моло-

ка в качестве альтернативы или дополнения к антибиотикотерапии, особенно привлекательна [5].

С этой целью наша исследовательская группа приняла руководящие принципы рабочих групп ФАО/ВОЗ по оценке здоровья и безопасности пробиотиков в пищевых продуктах, чтобы выбрать штаммы лактобактерий в грудном молоке с возможностью лечения мастита. Параллельно с проведением исследований безопасности (в т. ч. отсутствие трансмиссивных генов резистентности к антибиотикам, вредные метаболические процессы, исследования острой токсичности и токсичности повторной дозы на животных, неблагоприятное воздействие на основании анализов человека) штаммы были отобраны на основе специфических свойств, необходимых для успеха в лечении мастита после перорального введения. Среди них: высокий уровень выживаемости во время транзита через желудочно-кишечный тракт, специфические взаимодействия с дендритными клетками, способность к колонизации молочной железы, механизмы конкурентного вытеснения стафилококков и стрептококков, вызывающих мастит.

Изначально в рамках пилотного проекта был определен потенциал *L. salivarius* CECT 5713 и *L. gasseri* CECT 5714, двух штаммов, выделенных из молока, для лечения стафилококкового мастита [13]. В исследовании 20 женщин со стафилококковым маститом были случайным образом разделены на две группы: принимавшие пробиотик, ежедневно получали внутрь 10 log10 КОЕ *Lactobacillus salivarius* CECT5713 и такое же количество бактерии *Lactobacillus gasseri* CECT5714 в течение 4 недель, в группе плацебо участники исследования принимали только формообразующий компонент. В начале исследования средние показатели содержания стафилококков между группой пробиотиков и плацебо были одинаковыми (4,74 и 4,81 log10 КОЕ/мл соответственно), но лактобактерии не были выявлены. На 30-й день средний показатель стафилококков, рассчитанный для пробиотической группы (2,96, метод log10 КОЕ/мл), был значительно ниже, чем в группе плацебо (4,79, метод log10 КОЕ/мл). Гибридизация колонии и анализы градиентного электрофореза в пульсирующем поле показали, что *L. salivarius* CECT 5713 и *L. gasseri* CECT 5714 могут быть выделены из проб молока 6 из 10 женщин пробиотической группы. На 14-й день отсутствие клинических признаков мастита наблюдалось у женщин, отнесенных к этой группе, но они сохранялись на протяжении всего периода исследования в группе женщин, принимавших плацебо. Эти результаты показали, что *L. salivarius* CECT 5713 и *L. gasseri* CECT 5714 являются эффективной альтернативой для лечения лактационного мастита.

Позже эффективность *L. fermentum* CECT 5716 или *L. salivarius* CECT 5713, двух штаммов лактобактерий, выделенных из молока, при лечении лактационного мастита при пероральном приеме оценивалась и по сравнению с антибактериальной терапией [15]. В общей сложности 352 женщины с инфекционным маститом были по методу случайной выборки разделены на три группы. Женщины в группе А (n = 124) и В (n = 127) ежедневно принимали внутрь 9 log10 КОЕ *L. fermentum* CECT 5716 или *L. sali-*

varius СЕСТ 5713 соответственно в течение 3 недель, в то время как женщины группы С ($n = 101$) проходили антибактериальную терапию, назначаемую в первичных медицинских центрах. В начале исследования среднее содержание стафилококков и/или стрептококков, рассчитанное в пробах молока женщин трех групп, было одинаковым ($4,35-4,47 \log_{10}$ КОЕ/мл), и лактобациллы не были обнаружены. На 21-й день среднее содержание стафилококков и/или стрептококков у участниц пробиотических групп ($2,61$ и $2,33 \log_{10}$ КОЕ/мл) было ниже, чем в контрольной группе ($3,28 \log_{10}$ КОЕ/мл). Терапия пробиотиками привела к значительному снижению ($1,7-2,1 \log_{10}$ КОЕ/мл) в молоке количества бактерий и к быстрому улучшению состояния пациенток. Окончательное содержание стафилококков и/или стрептококков составило приблизительно $2,5 \log_{10}$ КОЕ/мл, что является приемлемой бактериальной нагрузкой в молоке здоровых женщин. После лечения пробиотиками *L. fermentum* СЕСТ 5716 или *L. salivarius* СЕСТ 5713 выделялись из проб молока женщин пробиотических групп А и В соответственно. На основе содержания бактерий, выраженности болевого синдрома и развития клинических симптомов состояние женщин, участвовавших в любой из групп, принимавших пробиотики, улучшилось более существенно, чем состояние женщин, которые принимали антибиотики. Однако прием *L. salivarius* СЕСТ улучшил симптомы в течение 3–5 дней, а эффект *L. fermentum* СЕСТ 5716 был заметно медленнее. Кроме того, использование штаммов пробиотиков способствовало предотвращению побочных эффектов, часто связанных с лечением антибиотиками, у матери, таких как вагинальные инфекции и эпизоды рецидивирующего мастита. Метеоризм был единственным негативным действием, связанным с лечением пробиотиками, и отмечался у некоторого процента женщин, которые принимали *L. fermentum* СЕСТ 5716.

Недавно был проведен очередной клинический анализ, посвященный выявлению микробиологических, биохимических и/или иммунологических биомаркеров последствий приема антибиотиков [24]. Женщины с ($n = 23$) и без ($n = 8$) симптомов мастита принимали три суточные дозы (109 КОЕ) штамма *Lactobacillus salivarius* PS2 в течение 21 дня. Образцы молока, мочи и крови отбирались до и после приема пробиотика, проводилось обследование на широкий спектр микробиологических, биохимических и иммунологических показателей. В группе женщин с маститом прием *L. salivarius* PS2 привел к снижению в молоке бактерий, снижению лейкоцитов в крови и молоке и концентрации IL-8 в молоке, к увеличению показателей IgE, IgG3, EFT и IL-7, к изменению электролитного профиля молока и сокращению некоторых биомаркеров окислительного стресса. Такие биомаркеры будут полезны в будущих клинических исследованиях с участием большого числа пациентов. В этом исследовании описание метаболического профиля мочи кормящих женщин с маститом в начале приема пробиотика *L. salivarius* PS2 показало увеличение энергетического метаболизма (лактат, цитрат, формиат, ацетат, малонат) и снизило катаболизм аминокислот с разветвленной цепью (изока-

проат и изовалерат) по сравнению с состоянием после приема пробиотика [25]. Прием пробиотика привел к нормализации проницаемости молочной железы. Изменения в уровнях ацетата и 2-фенилпропионата после приема пробиотика свидетельствует об иммуномодулирующей роли, в то время как повышенный уровень малоната свидетельствует о важной антагонистической стратегии *L. salivarius* PS2, т. к. этот катаболит является известным репрессором из цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), который может изменить метаболизм стафилококков и стрептококков и негативно влияет на их выживание, вирулентность и способность к образованию биопленки.

Совсем недавно также был исследован потенциал *L. salivarius* PS2 по предотвращению мастита при пероральном введении на последних сроках беременности для женщин, которые страдали от инфекционного мастита после, по крайней мере, предыдущей беременности [26]. В общей сложности было исследовано 108 беременных женщин, разделенных на две группы. Женщины в группе приема пробиотиков ($n = 55$) принимали внутрь ежедневно $9 \log_{10}$ -колониеобразующих единиц *L. salivarius* PS2 с приблизительно 30-й недели беременности до родоразрешения, в то время как женщины в контрольной группе ($n = 53$) получали плацебо. Возникновение мастита оценивалось в течение первых 3 месяцев после родов. В целом 44 из 108 женщин (59,26%) страдали от мастита; однако процент женщин, страдающих от мастита в пробиотической группе (25,45%, $n = 14$), был значительно ниже, чем в контрольной группе (56,60%, $n = 30$). При возникновении мастита содержание бактерий в молоке в пробиотических группах было значительно ниже, чем в группе, принимавшей плацебо. В качестве вывода можно сказать, что пероральный прием *L. salivarius* PS2 в конце беременности – это эффективный метод для предотвращения инфекционного мастита у восприимчивой популяции.

Важно отметить, что эффективность лактобацилл молока при мастите является штамм-специфической, т. к. только несколько видов лактобацилл, выявленных в нашей лаборатории, показали, что обладают такой способностью (неопубликованные данные). Могут иметься различные механизмы, с помощью которых некоторые штаммы лактобактерий способны контролировать и даже подавлять возбудителей мастита в молочной железе, в т. ч. конкурентное вытеснение рецепторов или питательных веществ или выработка различных антимикробных веществ, в т. ч. бактериоцинов, органических кислот и перекиси водорода [27]. При пероральном применении штамм лактобактерий должен быть способен вызывать мощную реакцию от иммунной системы слизистых оболочек и/или колонизировать молочную железу для того, чтобы конкурировать с бактериями, вызывающими такое состояние. Последнее означает, что штаммы лактобактерий должны быть в состоянии достичь молочную железу при приеме внутрь, и, по сути, было высказано предположение, что живые бактерии, которые были выявлены в грудном молоке, могут попасть туда из кишечника матери через энтеромолочный путь, предполагающий сложное взаимодействие с иммунными клетками кишечника [20].

Предыдущие исследования показали, что пероральное введение штамма *Lactobacillus* женщинам во время беременности привело к колонизации ими кишечника и впоследствии кишечника грудных младенцев. К сожалению, роль молочных бактерий как потенциального источника штаммов не была изучена. В недавно проведенном исследовании штамм *L. reuteri* был выявлен в грудном молоке после перорального приема матерью. Поэтому не удивительно, что пероральное введение нескольких штаммов лактобактерий, выделенных из грудного молока и специально отобранных для лечения мастита, сказалось не только на переносе таких штаммов из кишечника в молочную железу и молоко, но и на значительном или полном улучшении состояния [13, 15]. Секвенирование генома этих штаммов предоставляет некоторые новые объяснения, которые позволяют понять взаимосвязь между фенотипическими свойствами и их молекулярной основой.

В настоящее время очевидно, что питание, обмен веществ, микробиологические, неврологические и иммунологические процессы, которые происходят в кишечнике, непосредственно сказываются на молочной железе и, как следствие, молоке в конце беременности и на протяжении лактации [20, 23]. Таким образом, действия с материнской микрофлорой кишечника с помощью пробиотических добавок могут повлиять на иммунный состав молочной железы и молока и быть еще одним механизмом, объясняющим действие, препятствующее развитию мастита. Было показано, что прием некоторых пробиотических штаммов, принадлежащих к разным видам, таких как *Lactobacillus rhamnosus* и *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, на поздних сроках беременности и/или грудное вскармливание увеличивает IgA и уровни TGF- β 2 в молоке [28, 29]. Увеличение уровней IgA может помочь ограничить доступ бактерий, вызывающих мастит, в эпителий молочной железы, а TGF- β 2 является ключевым иммунорегуляторным фактором молочной железы, способствующим локальной выработке IgA и стимулирующим механизмы пероральной толерантности у младенцев.

CNS И *STREPTOCOCCUS VIRIDANS*: ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОБИОТИКИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МАСТИТА?

Ранее стрептококкам и стафилококкам уделялось незначительное внимание при обсуждении их роли в отношении молочной железы человека, а также в самом начале колонизации кишечника младенца, несмотря на доминирующую роль бактерий в грудном молоке. Интересно, что обильное присутствие *S. epidermidis* в кишечнике ребенка является отличительной характеристикой кала младенцев на грудном вскармливании по сравнению с младенцами на искусственном вскармливании.

Действительно, стафилококки CNS и *mitis/salivarius*, находящиеся в молоке, могут быть особенно полезны для уменьшения приобретения нежелательных патогенов младенцами, подвергшимися воздействию среды в больницах. Предполагается, что *S. epidermidis* и другие стафилококки CNS могут иметь пробиотические функции за счет профилактики колонизации хозяина более серьезными патогенными микроорганизмами, такими как золотистый стафилококк (*S. aureus*). Дистанционные микроб-микробные отношения устанавливают по крайней мере один подвид *S. epidermidis* для подавления *S. aureus*, о чем свидетельствуют проведенные исследования *in vitro*. Предыдущее исследование показало, что коровы, инфицированные стрептококками CNS, были меньше подвержены развитию нового мастита после экспериментального заражения *S. aureus*.

В самом деле, некоторые штаммы *S. epidermidis*, которые препятствуют колонизации в естественных условиях *S. aureus*, были названы будущей стратегией по устранению таких патогенов с поверхности слизистых оболочек. Аналогичным образом было показано, что стрептококки группы *viridans* подавляют пероральную колонизацию метициллин-резистентного *S. aureus* у новорожденных высокой степени риска, подвергающихся воздействию среды в больницах. Кроме того, наличие стрептококков *viridans* является нормальным свойством кишечника младенца в отличие от атопического кишечника младенца.

medela 

ГРУДНОЕ МОЛОКО ДЛЯ КАЖДОГО

Молокоотсосы для лечебных учреждений

Естественное грудное вскармливание возможно не всегда. Младенцы, неспособные сосать грудь, особенно нуждаются в грудном молоке, однако им требуется дополнительная помощь. Молокоотсос Symphony®, разработанный специально для клиник, имитирует младенческий механизм сосания, что позволяет сцеживать больше молока за меньшее время, причем, несмотря на сложное техническое устройство, Symphony® использует простое интуитивное управление. С ним не придется изучать инструкции — лучше потратить это время на своих пациентов.



Горячая линия Medela • 8-800-200-6808 • Звонок по России БЕСПЛАТНЫЙ

www.medela.ru

Р Е К Л А М А

Поэтому некоторые стафилококковые и стрептококковые штаммы, присутствующие в грудном молоке, могут сыграть важную эмпирическую пробиотическую роль для молочной железы и для грудного вскармливания младенцев.

Очевидно, потенциальный пробиотический подход к CNS должен учитывать, что стафилококки CNS обеспечивают функцию резервуара для передачи генетических элементов для усиления эффективности в отношении патогенов и антибиотикорезистентности *S. aureus* и, следовательно, играют важную роль в болезнях человека и животных. Как следствие, при отборе потенциально пробиотических CNS следует соблюдать особенно строгие критерии безопасности, в т. ч. отсутствие механизмов обмена генетической информацией с другими бактериями.

ВЫВОДЫ

Состав микробиоты грудного молока оказывает влияние не только на ребенка, но и на здоровье молочных желез кормящей женщины. Дисбиоз грудной железы может привести к развитию острого, подострого или субклинического мастита. Последние два часто недооцени-

вают, редко диагностируют, при этом данное состояние является первой медицинской причиной для прекращения грудного вскармливания младенца. Поскольку грудное вскармливание имеет как краткосрочные, так и долгосрочные преимущества для пары «мать – ребенок», лактационный мастит должен рассматриваться как актуальная проблема общественного здравоохранения. Очевидно, что многие внутренние факторы организма, микробиологические, медицинские и экологические факторы могут предрасполагать к развитию или обеспечить защиту против развития мастита. Уточнение этих факторов можно использовать для разработки новых средств профилактики развития мастита. Штаммы лактобактерий, выделенные из молока здоровых женщин и специально выделенные с целью изучения мастита, показали высокую эффективность в качестве пероральных пробиотиков для профилактики и лечения такого состояния. В настоящее время ведется работа по выяснению местных и системных механизмов, ответственных за такой эффект, путем сочетания микробиологических и иммунологических анализов с использованием новых современных подходов.



ЛИТЕРАТУРА

- Lawrence RA, Lawrence RM. Breastfeeding. a guide for the medical profession. 7th ed., Saunders, Philadelphia. 2010.
- Delgado S, Arroyo R, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. Infectious mastitis during lactation: an underrated condition (I). *ActaPediátrica Española*, 2009a, 67: 77-84.
- Jiménez E, Delgado S, Arroyo R, Fernández L, Rodríguez JM. Infectious mastitis during lactation: an underrated condition (II). *ActaPediátrica Española*, 2009, 67: 125-132.
- Contreras GA, Rodríguez JM. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *Journal of the Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2011, 16: 339-356.
- Fernández L, Arroyo R, Espinosa I, Marín M, Jiménez E, Rodríguez JM. Probiotics for human lactational mastitis. *Beneficial Microbes*, 2014, 5: 169-183.
- Delgado S, Arroyo R, Martín R, Rodríguez JM. PCR-DGGE assessment of the bacterial diversity of breast milk in women with lactational infectious mastitis. *BMC Infectious Diseases*, 2008, 8: 51.
- Arroyo R, Mediano P, Martín V, Jiménez E, Delgado S, Fernández L, Marín M, Rodríguez JM. Etiological diagnosis of infectious mastitis: proposal of a protocol for the culture of human milk samples. *ActaPediátrica Española*, 2011, 69: 276-281.
- Marín ML, Arroyo R, Jiménez E, Gómez A, Fernández L, Rodríguez JM. Cold storage of human milk: effect on its bacterial composition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2009, 49: 343-348.
- Reddy P, Qi C, Zembower T, Noskin GA, Bolon M. Postpartum mastitis and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13: 298-301.
- Delgado S, García P, Fernández L, Jiménez E, Rodríguez JM. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains involved in human and bovine mastitis. *FEMS Immunological and Medical Microbiology*, 2011, 62: 225-235.
- Jiménez E, de Andrés J, Manrique M, Pareja-Tobes P, Tobes R, Martínez-Blanch JF, Codoñer FM, Ramón D, Fernández L, Rodríguez JM. Metagenomic analysis of milk of healthy and mastitis-suffering women. *Journal of Human Lactation*, 2015, 31: 406-415.
- Thomsen AC, Mogensen S, Love Jensen F. Experimental mastitis in mice induced by coagulase-negative staphylococci isolated from cases of mastitis in nursing women. *ActaObstetrica et GynecologicaScandinavica*, 1985, 64: 163-166.
- Jiménez E, Fernández L, Maldonado A, Martín R, Olivares M, Xaus J, Rodríguez JM. Oral administration of *Lactobacillus* strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008a, 74: 4650-4655.
- Delgado S, Arroyo R, Jiménez E, Marín ML, del Campo R, Fernández L, Rodríguez JM. *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from breast milk of women suffering infectious mastitis: potential virulence traits and resistance to antibiotics. *BMC Microbiology*, 2009b, 9: 82.
- Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of *Lactobacilli* isolated from breast milk. *Clinical Infectious Diseases*, 2010, 50: 1551-1558.
- Martín V, Mediano P, Del Campo R, Rodríguez JM, Marín M. Streptococcal diversity of human milk and comparison of different methods for the taxonomic identification of streptococci. *Journal of Human Lactation*, DOI: 10.1177/0890334415597901.
- Renshaw AA, Derhagopian RP, Gould EW. Cystic neutrophilic granulomatous mastitis: an underappreciated pattern strongly associated with gram-positive bacilli. *American Journal of Clinical Pathology*, 2011, 136: 424-427.
- Pavious S, Musaad S, Roberts S, Taylor G, Taylor S, Shore K, Lang S, Holland D. *Corynebacterium* species isolated from patients with mastitis. *Clinical Infectious Diseases*, 2002, 35: 1434-1440.
- Bercot B, Kannengieser C, Oudin C, Grandchamp B, Pors MSL, Mouly S, Elbim C. First description of NOD2 variant associated with defective neutrophil responses in a woman with granulomatous mastitis related to corynebacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009, 47: 3034-3037.
- Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*, 2013, 69: 1-10.
- Soto A, Martín V, Jiménez E, Mader I, Rodríguez JM, Fernández L. *Lactobacilli* and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*.
- Hammer ND, Skaar EP. A battle for iron: host sequestration and *Staphylococcus aureus* acquisition. *Microbes and Infection*, 2012, 14: 217-227.
- Jeurink PV, van Bergenhenegouwen J, Jiménez E, Knippels LM, Fernandez L, Garssen J, Knol J, Rodríguez JM, Martín R. Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes*, 2013, 4: 17-30.
- Espinosa-Martos I, Jiménez E, de Andrés J, Rodríguez-Alcalá LM, Tavárez S, Manzano S, Fernández L, Alonso E, Fontecha J, Rodríguez JM. Searching for milk and blood biomarkers associated to the clinical efficacy of a probiotic for the treatment of infectious mastitis. *Beneficial Microbes*, 2015, 7: 305-318.
- Vázquez-Fresno R, Llorach R, Marín JC, Tulipani S, García-Aloy M, Espinosa-Martos I, Jiménez E, Rodríguez JM, Andres-Lacueva C. Urinary metabolomic fingerprinting after consumption of a probiotic strain in women with mastitis. *Pharmacology Research*, 2014, 87: 160-165.
- Fernández L, Cárdenas N, Arroyo R, Manzano S, Jiménez E, Martín V, Rodríguez JM. Prevention of infectious mastitis by oral administration of *Lactobacillus salivarius* PS2 during late pregnancy. *Clinical Infectious Disease*, 2016, 62: 568-73.
- Martín R, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM. Probiotic potential of 3 *Lactobacilli* strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*, 2005, 21: 8-17.
- Prescott SL, Wickens K, Westcott L, Jung W, Currie H, Black PN, Stanley TV, Mitchell EA, Fitzharris P, Siebers R, Wu L, Crane J. Probiotic Study Group. Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon-gamma and breast milk transforming growth factor-beta and immunoglobulin A detection. *Clinical and Experimental Allergy*, 2008, 38: 1606-1614.
- Nikniaz L, Ostadrahimi A, Mahdavi R, Hejazi MA, HosseiniSalekdeh G. Effects of synbiotic supplementation on breast milk levels of IgA, TGF-β1, and TGF-β2. *Journal of Human Lactation*, 2013, 29: 591-596.