

## Cuerpo preliminar

### i. Índice de contenidos

<b>Cuerpo preliminar</b>	<b>1</b>
i. Índice de contenidos	1
2.- Título	2
3.- Resumen	4
4.- Resumen en inglés	5
5.-Introducción	6
6.- Pregunta de investigación y objetivos	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos	11
7.- Metodología	12
8.- Resultados	17
9.- Discusión	32
10.- Referencias	37
i. Anexo: i. lista de abreviaturas	44
ii. Elaboración algoritmo de búsqueda	45
iii.Pautas de chequeo STROBE	48
iv. Pautas PRISMA	50



UNIVERSIDAD DE CHILE  
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos  
Doctor Fernando Monckeberg Barros

## “REVISIÓN SISTEMÁTICA: INFLUENCIA DE LOS ESTILOS DE VIDA MATERNOS EN LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA DE LA LECHE MATERNA”

ACTIVIDAD FORMATIVA EQUIVALENTE (AFE) PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN NUTRICIÓN Y ALIMENTOS MENCIÓN NUTRICIÓN HUMANA

Candidata: Karen Abrigo Blanc

Director de AFE: Martin Gotteland

---

Fecha: junio de 2021

Santiago-Chile

## AUTORIZACIÓN

El siguiente documento presentado como Avance final de AFE por la Estudiante Karen Beatriz Abrigo Blanc ha sido revisado y aprobado por mí, como Director de AFE para la presentación formal ante la Comisión Evaluadora que designará el Comité Académico del Magíster en Nutrición y Alimentos.



---

**Prof. Martín Gotteland**

Santiago de Chile, junio de 2021

## Resumen

Además de ser una fuente insustituible de nutrientes y compuestos bioactivos para el lactante, la leche materna también contiene una cantidad importante de bacterias que conforman la microbiota láctea. La composición de esta microbiota es muy variable de una madre a otra, pero los factores que influyen en su composición y diversidad aún no están claramente definidos. **Objetivo:** evaluar la influencia de distintos factores tales como el estado nutricional de la madre, su dieta, la ubicación geográfica y el estrés sobre la composición de la microbiota de la leche materna, a través de una revisión sistemática de la literatura. **Metodología:** La revisión sistemática se realizó de acuerdo a la pauta PRISMA que consta de 27 ítems. Dos personas, de forma independiente, llevaron a cabo una búsqueda exhaustiva en las bases de datos PubMed, EBSCO, Scopus, EMBASE y en la literatura gris, usando palabras claves previamente definidas. Los artículos fueron seleccionados de acuerdo a criterios de inclusión (estudios en humanos, publicados entre 2002 y 2020, con análisis de bacteria en muestras de leche) y de exclusión (uso de calostro o de leche pasteurizada, presencia de mastitis). La calidad de cada artículo fue determinada de acuerdo a las listas de verificación STROBE, y el riesgo de sesgo se midió usando el software RevMan 5.4.1. **Resultados:** La concordancia entre ambos revisores fue adecuada según el índice Kappa de Cohen, con un coeficiente de 0.74. De 589 artículos inicialmente detectados, se seleccionaron 14 que cumplían con los criterios de inclusión/exclusión y con la evaluación de calidad. Estos 14 estudios incluían 1594 mujeres y 2006 muestras de leche materna. **Conclusiones:** la microbiota láctea está dominada principalmente por los filos Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria y Bifidobacterium y por los géneros Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Acinetobacter y Lactobacillus. La obesidad materna, el estrés materno y una dieta inadecuada de la madre, disminuyen la diversidad de la microbiota láctea.

## **Abstract**

In addition to being an irreplaceable source of nutrients and bioactive compounds for the infant, breast milk also contains a significant amount of bacteria that make up the milk microbiota. The composition of this microbiota is highly variable from one mother to another, but the factors that influence its composition and diversity are not clearly defined yet. **Objective:** to evaluate the influence of different factors such as the mother's nutritional status, diet, geographic location and stress on the composition of the microbiota of breast milk, through a systematic review of the literature. **Methodology:** The systematic review was carried out according to the PRISMA guideline, which consists of 27 items. Two people independently carried out a comprehensive search of PubMed, EBSCO, Scopus, EMBASE and gray literature databases using predefined keywords. The articles were selected according to inclusion criteria (human studies, published between 2002 and 2020, with analysis of bacteria in milk samples) and exclusion (use of colostrum or pasteurized milk, presence of mastitis). The quality of each article was determined according to the STROBE checklists, and the risk of bias was measured using RevMan 5.4.1 software. **Results:** The agreement between both reviewers was adequate according to Cohen's Kappa index, with a coefficient of 0.74. Of 589 articles initially detected, 14 were selected that met the inclusion / exclusion criteria and the quality assessment. These 14 studies included 1,594 women and 2006 breast milk samples. **Conclusions:** the milky microbiota is mainly dominated by the phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria and Bifidobacterium and by the genera Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Acinetobacter and Lactobacillus. Maternal obesity, maternal stress and an inadequate diet of the mother decrease the diversity of the dairy microbiota.

## Introducción

La leche materna es el alimento más adecuado para un rápido crecimiento infantil ya que satisface todos los requerimientos nutricionales hasta que el lactante cumple 6 meses, gracias a su contenido óptimo de proteínas, carbohidratos, lípidos, agua, vitaminas y minerales (1). Es un fluido vivo y cambiante que se adapta a los requerimientos del niño, y cuya composición se adapta a medida que el lactante crece y necesita otros nutrientes y/o factores de protección (2). Contiene inmunoglobulina A secretoras, lactoferrina, células inmunes y lisozima que dificultan la proliferación de patógenos. Contiene también altos niveles de oligosacáridos que, además de inhibir la adhesión de patógenos al epitelio intestinal del lactante, estimulan el crecimiento de algunas especies de bacterias como *Bifidobacterium* y *Bacteroides* a nivel colónico. Asimismo, posee componentes bioactivos como hormonas y factores de crecimiento que pueden ejercer un efecto directo sobre la mama y la producción de leche (insulina, esteroides, prolactina), o contribuir al crecimiento, diferenciación y desarrollo de varios tejidos en el recién nacido, principalmente la mucosa intestinal (3). La lactancia materna está asociada con considerables beneficios para el niño, la madre y la sociedad que incluyen la protección contra dermatitis atópica durante el primer año de vida (4), la menor prevalencia de obesidad a largo plazo (5), la reducción de las infecciones gastrointestinales, la protección contra diarrea y morbilidad respiratoria (6), la reducción de los síndromes febriles y de las caries en el menor de 1 año. Además, para la familia es económico, higiénico y práctico. El contacto físico entre la madre y el niño durante el amamantamiento (apego) contribuye al buen desarrollo emocional, cognitivo y social del lactante. Todos estos beneficios resultan en una población más sana, con mayor desarrollo, productividad, satisfacción, además de ser más amigable para el medio ambiente ya que no genera residuos ni desechos (2).

Por otro lado, se ha descubierto recientemente que la leche materna no es estéril sino que contiene una cantidad importante de bacterias que conforman la microbiota láctea (7). Se define como microbiota al conjunto de microorganismos presentes en un determinado ambiente (8). El desarrollo de técnicas de secuenciación masiva ha

permitido identificar en forma más precisa las comunidades microbianas presentes en sitios o fluidos que previamente se consideraban estériles (9). Actualmente se considera que la leche materna alberga una comunidad microbiana compleja con una gran diversidad (9), que beneficia tanto a la madre (salud de la glándula mamaria) como al infante (10). En el lactante, estas bacterias tienen el potencial de participar en la colonización microbiana y el desarrollo del intestino inmaduro del recién nacido (11).

Se estima que la mayoría de las bacterias que se encuentran en el intestino del lactante provienen de la leche humana o de la microbiota vagino-fecal de la madre adquiridas durante el parto (12) (13). La composición taxonómica de la microbiota de la leche materna es muy variable entre los individuos (14), siendo los taxones bacterianos más prominentes *Staphylococcus* y *Streptococcus*, pero también otros géneros, incluyendo *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Bacteroides* (15). Los datos disponibles hasta la fecha indican que los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Weissella* y *Leuconostoc* son aquellos que se aíslan con mayor frecuencia por cultivo (16). En otro estudio que incluyó 16 muestras de leche materna, *Staphylococcus* y *Streptococcus* fueron de nuevo los géneros aislados con mayor abundancia (17). Otro de mayor tamaño analizó la microbiota de la leche materna de 393 mujeres canadienses provenientes de las diadas de la cohorte Child mediante secuenciación del gen 16S ARNr. Se encontró que la microbiota láctea a los 3-4 meses post-parto estaba dominada por los filos Proteobacteria y Firmicutes representados por los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Ralstonia* (18). En una revisión sistemática de 12 estudios, se identificó *Streptococcus* en 91% de las muestras de leche materna y *Staphylococcus* en el 83% (19). Más recientemente en 2019, se analizaron muestras de leche materna extraídas 3 a 6 meses post-parto en 21 mujeres, siendo los taxones más frecuentemente encontrados *Streptococcus* (en 15 de 19 muestras), Enterobacteriaceae (13/19) y el grupo *Lactobacillus/Lactococcus/Pediococcus* (12/19) (13). Otro estudio reveló una gran diversidad microbiana, identificando más de 207 géneros bacterianos en 10 muestras de leche materna, predominando *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Elizabethkingia*,

*Variovorax*, *Bifidobacterium*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Stenotrophomonas*, *Brevundimonas*, *Chryseobacterium* y *Enterobacter* (20). En base a estos estudios, *Streptococcus* y *Staphylococcus* parecen ser los géneros más abundantes y frecuentemente observados en la leche materna.

Se han propuesto dos vías principales para explicar el origen de la microbiota de la leche: la translocación entero-mamaria desde la microbiota intestinal materna y la inoculación retrógrada por la microbiota oral del lactante (21). El hecho de que el calostro recolectado incluso antes de la primera alimentación infantil ya contenga una comunidad microbiana apoya la vía entero-mamaria (22), mientras que la similitud de la microbiota oral infantil con la microbiota de la leche materna apoya la vía retrógrada (23). Dependiendo de la fuente de bacterias, diferentes factores podrían contribuir a modelar la microbiota de la leche.

Se ha sugerido que podría influir la zona geográfica donde vive la madre. Esto fue estudiado en 89 mujeres sanas provenientes de 11 ciudades en 5 regiones de China, concluyendo que el perfil de la microbiota láctica era muy específico de la región ya que las muestras de las zonas noroeste y norte mostraban una mayor diversidad alfa en comparación con aquellas de las otras regiones. Además, las muestras de madres con un elevado IMC post parto tenían mayor abundancia de *Staphylococcus* y menor de *Lactobacillus* y *Streptococcus* (24). Así también, un estudio realizado en India comparó la microbiota de la leche de 15 mujeres que vivían en zonas urbanas con la de 15 mujeres que vivían en zonas rurales. La microbiota láctea entre estos dos grupos de mujeres difería tanto en la abundancia de taxones como Proteobacteria y Firmicutes como en la diversidad microbiana expresada por el índice de Shannon (25). Por otro lado, se ha visto que el tipo de parto también afecta la composición de la microbiota láctea, como lo mostró un estudio en el que se analizaron 10 muestras de leche madura (recolectadas después del primer mes post parto). Se observó una mayor diversidad y riqueza microbiana en la leche de las madres que habían tenido un parto vaginal frente a las que se sometieron a una cesárea (26). En otro estudio realizado en 21 mujeres lactantes sanas que fueron seguidas desde el día 2 hasta los 6 meses post parto,



se observó que el microbioma de la leche se mantenía relativamente constante a lo largo del tiempo y que las abundancias relativas de ciertos taxones se asociaban tanto con el IMC materno como al modo de parto. Las madres con sobrepeso y obesidad produjeron leche con una mayor abundancia relativa de *Granulicatella* que aquellas normopeso, y las abundancias relativas de varios taxones bacterianos también se asociaron con variaciones en la ingesta alimentaria materna (27). El impacto del tiempo de lactancia también fue estudiado a partir de 472 muestras de leche materna recolectadas a los 10 días y 3 meses después del parto. Se encontraron diferencias significativas en el número de especies y la diversidad de la microbiota láctea (28). La administración periparto de antibióticos también afecta la microbiota láctea, disminuyendo la carga bacteriana total. En un estudio realizado a partir de 84 muestras de leche materna recolectadas a 1 mes post parto en mujeres sanas, 23 de ellas tratadas con antibióticos (penicilina, cefalotina, cefalexina, cefuroxima o metronidazol) durante el parto, se reportaron cambios en la composición microbiana de leche materna (29). Factores maternos como el estado nutricional, la paridad, las prácticas de lactancia y otros componentes de la leche afectan la composición y diversidad de la microbiota de la leche de forma distinta de acuerdo al sexo del lactante (18). Otro estudio en 32 participantes informó una mayor abundancia relativa y del recuento de *Bifidobacterium* en aquellas que dieron luz a término (30). En otro estudio se evaluó el efecto de mastitis sobre la microbiota láctea en 10 mujeres afectadas por esta patología, comparado con 10 mujeres sanas. Se observó un alto grado de variabilidad interindividual entre mujeres sanas, mientras que por el contrario, *Staphylococcus aureus* dominaba claramente el microbioma de la leche de las mujeres con mastitis aguda, concluyendo que la mastitis inducía una pérdida de diversidad bacteriana láctea (31).

Sin embargo, en oposición con todos estos estudios, otros no han observado diferencias de composición de la microbiota láctea según la ubicación geográfica, el índice de masa corporal de la madre, o la etapa de lactancia (32). Es posible que el método de recolección de la leche y el número reducido de muestras en estos estudios puedan explicar estas inconsistencias (33).

No existe en la literatura una revisión exhaustiva que haya investigado los factores maternos como la dieta, el IMC, la ubicación geográfica materna, y la microbiota de la leche materna. Por lo tanto, es importante realizar una revisión sistemática de la evidencia disponible para facilitar y resumir los contenidos de múltiples artículos que responden a la misma pregunta específica. Si bien, optar por un meta análisis sería lo más adecuado, en este caso no es posible debido a la heterogeneidad de los estudios con microbiota de leche materna. Dado sus estrictos protocolos de elaboración, las revisiones sistemáticas corresponden al mejor nivel de evidencia ya que disminuyen al máximo el riesgo de sesgo, permitiendo, de esta forma, tomar decisiones clínicas informadas basadas en evidencia. Mejorar el conocimiento acerca de la microbiota de la leche materna y de los estilos de vida maternos que podrían modificar su composición, ayudará a maximizar los beneficios de la lactancia y a optimizar potencialmente los beneficios de la leche materna, para poder establecer recomendaciones basadas en evidencias para mujeres embarazadas y así beneficiar la salud del lactante.

## **Pregunta de investigación y objetivos**

**Pregunta de investigación:** ¿Cómo influyen los estilos de vida de la madre en la composición de la microbiota de la leche materna?

### **Objetivo general**

-Evaluar la influencia de distintos factores tales como el estado nutricional de la madre, su dieta, la ubicación geográfica y el estrés sobre la composición de la microbiota de la leche materna, a través de una revisión sistemática de la literatura.

### **Objetivos específicos**

- Establecer una estrategia de búsqueda sistemática
- Evaluar la calidad y la metodología empleadas en las investigaciones
- Analizar las variaciones en la composición de la microbiota de la leche materna dependiendo de los diferentes factores maternos.
- Sintetizar la evidencia científica

## **Metodología**

### **Definición del diseño de la investigación**

Se realizó una revisión sistemática cualitativa en la que no se incluyeron análisis estadísticos. Se resumió y analizó la evidencia disponible sobre los estilos de vida maternos que pudiesen modificar la composición de la microbiota de la leche materna. El tipo de estudio es observacional y el diseño es analítico.

### **Protocolo de investigación**

El proceso para llevar a cabo la revisión sistemática comenzó con la formulación de la pregunta estructurada y específica que determinó los términos utilizados en la búsqueda en las bases de datos, y el tipo de artículos necesarios para responder esa pregunta.

**Pregunta de investigación:** ¿Cómo influyen los estilos de vida maternos en la composición de la microbiota de la leche materna?

La pregunta de investigación y la estrategia de búsqueda bibliográfica fueron elaborados de acuerdo al enfoque PICO<sup>R</sup> (34).

**Estrategia PICO<sup>R</sup> para la pregunta de investigación y la búsqueda de evidencia:**

**P** → paciente o problema: leche materna de madres.

**I** → intervención (estilos de vida de la madre).

**C** → control o comparación (no aplica en esta revisión).

**O** → resultado esperado (abundancia relativa de bacterias).

Para conseguir una buena calidad de la revisión sistemática, se utilizó la pauta PRISMA, que consta de 27 ítems y un diagrama de flujo de 4 fases (anexo). Esto garantiza que la revisión sistemática esté planificada adecuadamente (35).

i) La búsqueda fue realizada por dos autores de forma independiente. Para evaluar el grado en el cual coincidieron las evaluaciones realizadas por ambos revisores (medición del acuerdo), se usó el índice Kappa de Cohen. Se considera que valores de kappa entre 0.40 y 0.59 reflejan un acuerdo aceptable, entre 0.60 y 0.74 un acuerdo adecuado y > 0.75 un acuerdo excelente (36).

## **ii) Definición de la muestra:**

### **Criterios de elegibilidad de los artículos: criterios de inclusión de los artículos**

- Unidad de estudios: realizados en humanos
- Idioma: artículos escritos en inglés.
- Estudios que analizaron la composición de la microbiota de la leche materna
- Artículos publicados entre el año 2002 y 2020.
- Diseño de los estudios: cohorte, caso y control, estudios observacionales.

### **Criterios de exclusión de los artículos**

- Estudios que analizaron solo calostro
- Estudios que investigaron poblaciones bacterianas específicas en lugar de la composición general de la microbiota de la leche materna
- Estudios que utilizaron leche materna pasteurizada

## **iii) Fuentes de información:**

Se utilizaron las siguientes bases de datos: MEDLINE, CINAHL (EBSCO), Scopus, EMBASE. También se incluyó literatura gris que abarca todo documento que no puede ser calificado como literatura convencional, tales como tesis doctorales, memorias, conferencias de universidades, proyectos de centros de investigación o actas de congresos (37). La búsqueda comenzó el 22 de octubre de 2020 y finalizó el 20 de noviembre de 2020.

## **iv) Estrategia de búsqueda:**

Para la búsqueda en MEDLINE se seleccionaron las palabras clave con términos MeSH y términos libres, junto con los operadores booleanos: (((("Microbiota"[Mesh]) AND "Milk, Human"[Mesh]) AND ("Mothers"[Mesh]) OR ("Maternal Exposure"[Mesh] OR "Obesity, Maternal"[Mesh] OR "Maternal Factors" OR "geographical" OR "diet")))). Filtros de búsqueda: estudios hechos en humanos, estudios con mujeres, y filtro de año.

Búsqueda en EBSCO: Breast milk OR human milk OR mothers milk AND microbiota OR microbiome AND factors OR causes OR influences.

Búsqueda en EMBASE: 'microbiome'/exp AND 'breast milk'/exp. Utilizando Emtree.

Búsqueda en Scopus: (microbiota OR microbiome AND breast AND milk OR human AND milk AND NOT calostro OR infants) AND (LIMIT-TO (ACCESSTYPE(OA))).

**Literatura gris:** se realizó la búsqueda de forma manual en las siguientes páginas: BioRxiv, Opengrey, Scirus, Biosis, Open AIRE, DART-Europe, TripDatabase y GreyNet.

#### **v) Selección de los estudios:**

La selección inicial se realizó en base a los resúmenes y títulos de la información disponible, identificando así los artículos potencialmente elegibles y eliminando los artículos claramente irrelevantes. Los resultados de la búsqueda fueron integrados mediante el programa informático de gestión de referencias bibliográficas Mendeley y con el mismo programa se eliminaron los registros duplicados. Luego se analizaron en su totalidad y por completo los artículos seleccionados y se realizó una selección final a través de criterios de inclusión que permitió analizar críticamente los artículos y así se tomó una decisión definitiva sobre su inclusión.

Para presentar el proceso de selección de artículos, se usó un diagrama de flujo proveniente de las pautas PRISMA 2009 donde se especifica desde el número inicial de artículos potencialmente elegibles según la búsqueda realizada hasta los finalmente incluidos, especificando los motivos por los cuales se excluyeron los trabajos que no se consideraron finalmente.

Se recuperó el texto completo de los artículos potencialmente relevantes. Para evaluar la calidad de los estudios se utilizó la herramienta STROBE (anexo), en la que un estudio con puntuación igual o mayor a 15 es considerado como teniendo una calidad metodológica alta.

#### **vi) Proceso de extracción de los datos:**

Una vez finalizada la selección de los artículos, se obtuvo de ellos toda la información atinente a la pregunta. Los datos fueron tabulados en un formulario de recolección de datos que fue diseñado en el software RevMan.

#### **vii) Lista de datos:**

Para cada artículo se listaron cada una de las variables para las cuales se buscaron datos, incluyendo:

- Autores del estudio
- Año del estudio: fecha en la que se llevó a cabo.
- País: lugar de procedencia del artículo.
- Número y características de los participantes: estado nutricional materno, método de alimentación y ubicación geográfica.
- Método de recolección de la leche materna
- Técnica de análisis de la microbiota: kit de extracción de ADN, región, cebadores, ciclos de PCR, base de datos para secuenciación.
- Principales géneros bacterianos: abundancia relativa, familias, géneros.
- Número de taxones
- Filo, especie y otros
- Hallazgos clave del artículo: cambios en la diversidad y la abundancia de microbios en la leche materna.

#### **viii) Riesgo de sesgos de los estudios individuales:**

El riesgo de sesgo de cada artículo se evaluó mediante el programa RevMan 5.4.1, elaborado por la Colaboración Cochrane y que tiene como propósito guiar la elaboración de protocolos de revisión, así como revisiones sistemáticas completas, desde la redacción del texto de las mismas hasta la realización de los análisis estadísticos, composición de figuras, tablas, apéndices y las referencias bibliográficas.

#### **ix) Medidas de resumen:**

Se indicó la abundancia relativa de las bacterias.

**x) Síntesis de resultados:**

Para manejar y combinar los resultados de los diferentes estudios, se resumieron los datos obtenidos de los estudios en tablas.



## Resultados

El coeficiente Kappa, que evalúa el grado de coincidencia entre los dos revisores, fue de 0.74, es decir que hubo una concordancia “adecuada” entre los resultados encontrados por ambos. En la figura 1 se detalla el procedimiento para obtener el coeficiente de Kappa.

		INVESTIGADOR 1			Total
		Incluye	Excluye	Dudoso	
INVESTIGADOR 2	Incluye	17 (a)	17 (b)	13 (c)	47 (I1)
	Excluye	2 (d)	231 (e)	21 (f)	254 (E1)
	Dudoso	0 (g)	15 (h)	169 (i)	184 (U1)
	Total	19 (I2)	263 (E2)	203 (U2)	485 (K)

**K:** total de estudios que se distribuyen según a-i.

**P<sub>o</sub>:** proporción de estudios sobre los cuales hubo acuerdo.

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

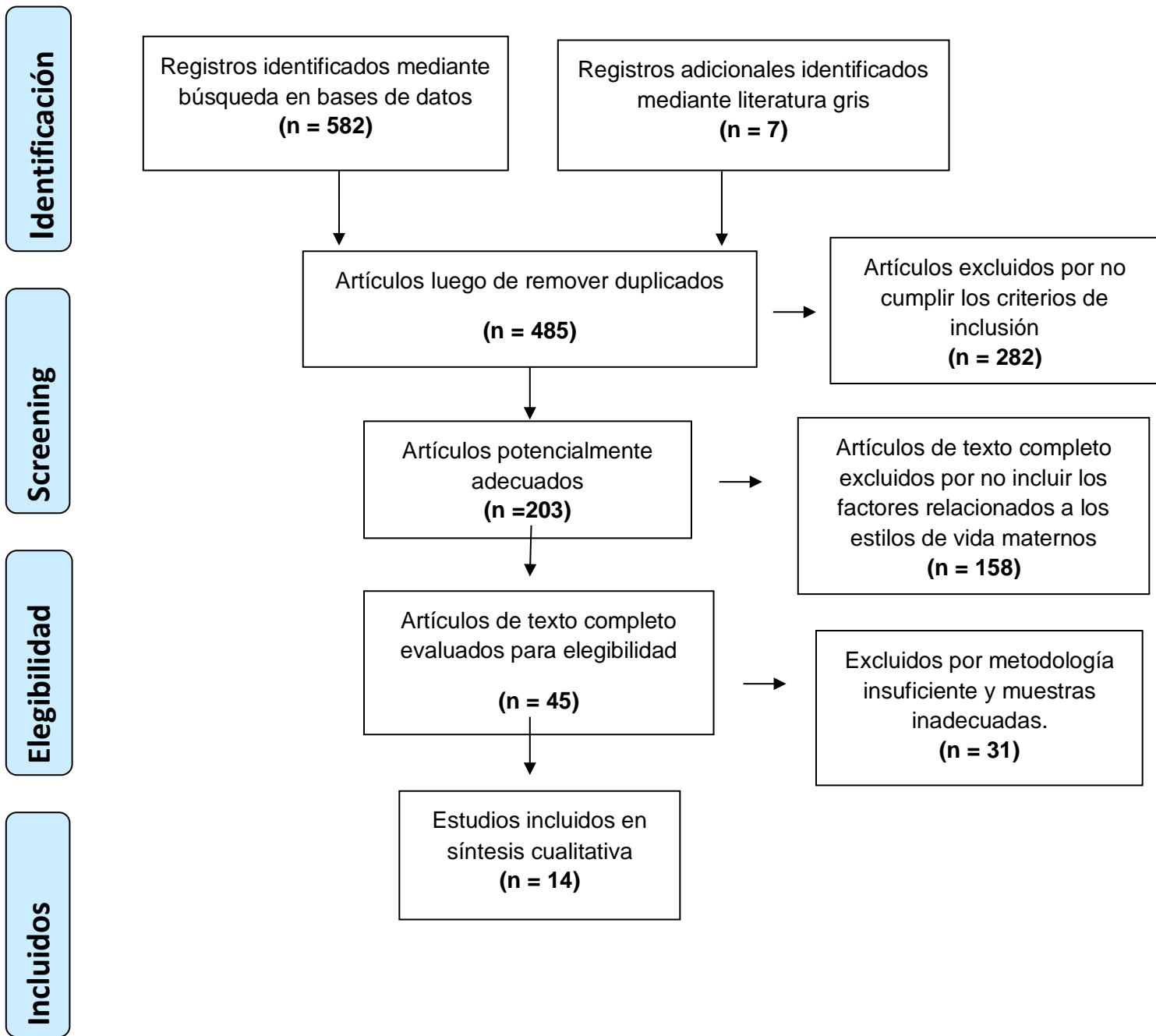
**P<sub>e</sub>:** proporción de estudios sobre los cuales se esperaría que hubiera acuerdo sólo por azar.

**Figura 1:** Procedimiento para la obtención del coeficiente de Kappa.

La **Figura 2** muestra el diagrama de flujo que detalla los procesos de búsqueda sistemática y de selección de los estudios, basados en las pautas PRISMA 2009. En la búsqueda fueron identificados 589 artículos: 95 en MEDLINE, 91 en EBSCO, 270 en Embase, 126 en Scopus y 7 mediante literatura gris. De este total, 14 cumplieron con el criterio de inclusión, los cuales analizaron un total de 2006 muestras de leche materna de 1594 mujeres. Los demás artículos fueron eliminados por estar en duplicados, no responder a los criterios de inclusión, tener una metodología inadecuada o muestras que no correspondían a lo requerido, o por no incluir las variables de estudio.

Los estudios seleccionados fueron realizados en 11 países distintos (2 en Canadá, 2 en USA, 1 en Brasil, 1 en Israel, 1 en Holanda, 1 en India, 1 en Nueva Zelanda, 1 en Taiwán, 1 en China, 1 en España, 1 en África y 1 en China, Finlandia, España y Sur de África). En todos los estudios, la microbiota se analizó por secuenciación masiva. La zona del gen r16S amplificada varió según los estudios (v1-v2, v3-v4, v4).

## Diagrama de Flujo (PRISMA 2009)



**Figura 2:** Diagrama de flujo de los estudios incluidos basado en la lista de chequeo PRISMA 2009.

Los resultados de los 14 artículos están resumidos en la **Tabla 1**, agrupados según la variable en estudio: IMC de la madre, dieta materna, ubicación geográfica de la madre y estrés materno.

**Tabla 1:** Características de los estudios seleccionados.

	Autor, país, año	Características participantes	Momento extracción muestra	Filos, especies y otros hallazgos	Conclusiones del estudio
IMC	Butts et al.(38) Nueva Zelanda 2020.	<b>n= 78.</b> 234 <i>muestras</i> . Mujeres de diferentes grupos étnicos en NZ (10% asiáticas, 22% maoríes y 68% europeas). Edad: 31 ± 5 años. 27 normopeso 31 sobrepeso 20 obesos.	6-8 semanas post parto.	Taxas más prevalentes: Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, Bifidobacterium,. Según IMC, la composición de la microbiota de la leche materna fue similar entre individuos normales, con sobrepeso y obesos, siendo los más predominantes: Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacterias, Fusobacteria y Verrucomicrobia.	Diferencias no significativas entre grupos étnicos. Sin diferencias en la composición de la microbiota según IMC.
	Cabrera-Rubio et al.(39) España 2012.	n=18. 54 muestras 10 con IMC >30 kg/m2 y 8 con IMC ≤ 25 (controles).	2 días post parto (calostro), 1 y 6 meses post parto.	Géneros más abundantes: <i>Weisella</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Actinetobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Lysinibacillus</i> , <i>Carnobacterium</i> .	El IMC materno influyó en la composición microbiana de la leche materna. Madres obesas tenían una composición bacteriana más homogénea en

		Edad: 32,0 ± 5,1 años.		Un mayor recuento de <i>Staphylococcus</i> y <i>Lactobacillus</i> y uno menor de <i>Bifidobacterium</i> en muestras de LM a los 6 meses se relacionaron con un IMC materno elevado.	comparación con las normopeso
Williams et al. (40) USA 2017.	<b>n= 21.</b> 104 muestras: Edad: 31 ± 3 años. Recordatorio de 24 horas (9 veces). Las mujeres fueron clasificadas por IMC como peso saludable (<25) o con sobrepeso u obesidad (≥25).	2, 5 y 10 (± 1 d) y 1, 2, 3, 4, 5 y 6 meses (± 1 d) posparto.	Filos más abundantes: Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria y Bacteroidetes Género: <i>Streptococcus</i> y <i>Staphylococcus</i> La leche de mujeres con SP y OB tuvo mayor abundancia relativa de <i>Granulicatella</i> que las mujeres con IMC normal. Asociación negativa entre <i>Bacteroides</i> y el IMC. La ingesta de AGM se asoció inversamente con la AR de <i>Corynebacterium</i> , CHO, disacáridos y lactosa se asociaron negativamente con Firmicutes y proteínas se correlacionó positivamente con AR de <i>Gemella</i> . El consumo de ácido fólico se asoció de forma negativa con la abundancia de <i>Lactobacillus</i> .	Las abundancias relativas de varios taxones se asociaron con el IMC. Se observaron múltiples relaciones entre el consumo de micronutrientes y los patrones del microbioma lácteo.	
LeMay-Nedjelski et al. (41) Canadá 2020.	<b>n=117</b> Edad: 34,2 ± 4,2 años.	3 ± 1 mes posparto	Filos más abundantes: Proteobacteria (58,6 ± 27,3%), Firmicutes (35,6 ± 26,3%), Actinobacteria (4,1 ± 4,7%), Bacteroidetes (1,4 ± 2,7%) y Fusobacterias (0,1 ± 0,3%). Géneros más predominantes: <i>Pseudomonas</i> (43,4 ± 26,0%), <i>Streptococcus</i> (30,6 ± 25,3%), <i>Staphylococcus</i> (6,2 ± 11,5%), <i>Acinetobacter</i>	La leche materna tiene una microbiota diversa cuya diversidad y abundancia diferencial parecen estar asociadas con el IMC materno, el estado de tolerancia a la	

				(3,5 ± 7,4%), Veillonella (3,2 ± 7,2%), Gemella (1,9 ± 3,3%), Corynebacterium (1,6 ± 5,5%), Rothia (1,3 ± 2,4%), Aeromonas (0,6 ± 6,2%) y Brevundimonas (0,6 ± 5,7%). Las mujeres obesas tuvieron una mayor incidencia de Bacteroidetes y una incidencia reducida de Proteobacterias en la leche, en comparación con las mujeres con un IMC de SP. Gemella mostró una mayor incidencia entre las madres con un IMC con SP y OB.	glucosa, el modo de parto y la etnia.
	Moosavi et al. (42) Canadá 2019.	N: 393 muestras de leche materna provenientes de la cohorte CHILD. Edad 33.0 ± 4.2.	3-4 meses post parto	La microbiota de la leche estaba dominada por los filos Proteobacteria (67% ± 24%), Firmicutes (26% ± 22%), Actinobacteria (4% ± 4%) y Bacteroidetes (1% ± 3%). A nivel de género: Streptococcus (16% ± 17%), Ralstonia (5% ± 3%) y Staphylococcus (5% ± 11%). El IMC se asoció inversamente con la diversidad de Proteobacteria y positivamente con la diversidad de Firmicutes.	El IMC materno influye de manera interactiva en la composición de la microbiota láctea. La composición y diversidad de la microbiota de la leche se asociaron con factores maternos (IMC, paridad y modo de parto), prácticas de lactancia y otros componentes de la leche de una manera específica por sexo.
<b>DIETA</b>	Babakobi et al.(43) Israel 2020.	N: 24. N° muestras: 62.	1 semana, 1 mes y 3 meses post parto.	Streptococcus (47%), Escherichia y Staphylococcus (15%). Streptococcus se correlacionó fuerte y negativamente con la	El efecto de la nutrición materna sobre la microbiota láctea puede estar mediado al

		Edad: 25 a 40 años. CFC validado (126 alimentos).		ingesta de ácidos grasos insaturados y ácido fólico. Correlación positiva de los niveles de <i>Staphylococcus hominis</i> con los ácidos grasos de cadena media.	menos en parte, por los ácidos grasos de la leche materna.
Meyer et al. (44) USA 2016.	<b>N: 14.</b> Dos cohortes de mujeres: en la primera, 7 recibieron el 60% de su ingesta calórica diaria de glucosa y galactosa con un periodo de lavado de 1 semana y en la segunda, 7 recibieron una dieta alta en grasas (55% lípidos, 30% CHO y 15% proteínas) y una dieta alta en CHO (25% lípidos, 60% CHO y 15% proteínas).	1-2 semanas después de darles la alimentación.	Dieta con galactosa: <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Rothia</i> y <i>Acinetobacter</i> frente a una dieta alta en glucosa: AR mucho mayor de <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Veillonella</i> y <i>Rothia</i> . En la segunda cohorte, dieta alta en CHO: AR muy elevada de <i>Staphylococcus</i> , AR muy baja de <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> . Frente a una DAG: <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> y <i>Corynebacterium</i> .	El consumo de galactosa aumenta la abundancia de genes bacterianos implicados en el metabolismo, la señalización y la motilidad en comparación con la dieta alta en glucosa. Del mismo modo, hay notables diferencias taxonómicas y en la composición de la microbiota entre las dietas altas en CHO frente a la dieta alta en grasas.	
Padilha et al. (45) Brasil 2019.	<b>N: 94. N° muestras: 94.</b> Mujeres lactantes sanas. Edad: 18-37 años. Cuestionario de consumo (85 alimentos). Se agruparon las muestras	Día 30 ± 4 post parto. Mujeres voluntarias sanas lactantes de 18 a 37 años con embarazo	Filos más abundantes: Firmicutes (70%), Actinobacteria (14.5%), Proteobacteria (14%) y Bacteroidetes (1%). 10 géneros: <i>Rothia</i> (0.67%), <i>Veillonella</i> (0.41%), <i>Rubrobacter</i> (0.38%), <i>Pseudomonas</i> (0.32%), <i>Halomonas</i> , <i>Trabulsiella</i> , <i>Chelonobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Actinomyces</i> y	La dieta materna influye en la microbiota de la leche materna, especialmente durante el embarazo, lo que puede contribuir a dar forma a la microbiota intestinal del lactante.	

		en 2 grupos según las similitudes del perfil de la microbiota.	sin complicaciones.	Lactobacillus estuvieron presentes en al menos el 90% de todas las muestras, con tres géneros presentes en todas las muestras: Streptococcus (42%), Staphylococcus (22%) y Corynebacterium (7%). Correlaciones negativas entre Tiamina, Riboflavina y Folato con Enterococcus. Correlación positiva entre ingesta de vitamina C y Staphylococcus.	
<b>GEOGR AFÍA</b>	Ding et al.(46) China 2019.	<b>N: 89.</b> <i>Nº de muestras:</i> 89. Edad: 20-35 años. Mujeres sanas de 11 ciudades en 5 regiones de China. 28: noreste, 7: norte, 31: sur, 14: este y 9: noroeste.	Día 42 después del parto.	Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus y Lactobacillus fueron los géneros dominantes en todas las muestras. Finegoldia, Bifidobacterium, Propionibacterium y Yersinia se encontraron en menor cantidad (<1%). Las muestras del noroeste y norte de China mostraron una mayor diversidad alfa en comparación con otras regiones (p <0,05). La composición microbiana de las madres del norte y noroeste son diferentes a las del este, noreste y sur de China.	El perfil de la microbiota era muy específico de la región. Estos hallazgos indican diferencias de la composición de la microbiota láctea entre el norte y el sur de China.
	Kumar et al. (47) China, Finlandia, España, Sur de África 2016.	<b>N: 80</b> (20 mujeres de cada país). Finlandia, España, Sudáfrica y China. Edad media: 32 a 34 años.	1 mes post parto	Filos más abundantes: Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria y Bacteroidetes. Géneros más prevalentes: Staphylococcus, Streptococcus, Pseudomonas, Ralstonia, Acinetobacter, Phyllobacterium, Stenotrophomonas, Rothis, Corynebacterium.	La microbiota de la leche y la composición de lípidos exhiben diferencias basadas en ubicaciones geográficas. La composición de lípidos, particularmente la de los ácidos

			La composición de la microbiota láctea difirió significativamente entre los países (p: 0.002). La composición en la microbiota de la leche de lípidos difirió entre los países.	grasos poliinsaturados, difirió entre los países.
Ojo-Okunola et al. (48) Sudáfrica 2019.	<b>N: 554.</b> N° muestras: 554. Edad: 19-40 años. Mujeres sanas de Sudáfrica de ingresos bajos y medios. Los habitantes vivían en condiciones relacionadas con la pobreza.	6 y 10 semanas después del parto.	Streptococcus (49%), Staphylococcus (18%), Rothia (6%), Corynebacterium (4%), Veillonella, Gemella, Acinetobacter, Micrococcus. Bacteria: 58 filos, 133 clases, 596 familias, 1300 géneros. Filos: Firmicutes (71%), Actinobacteria (16%), Proteobacteria (10%), Cyanobacteria (0.1%). Enterobacteriaceae estaban presentes en el 80% de las muestras.	El bacterioma de la leche materna estaba dominado a nivel de filo por Firmicutes y Actinobacteria, y a nivel de género por Staphylococcus, Streptococcus y Rothia. La ubicación geográfica se asoció con la composición de la microbiota de la leche materna.
Chen et al. (49) Taiwán 2018.	<b>N: 33.</b> N° muestras: 33. Madres taiwanesas sanas. Edad: 17-43 años.	30 proporcionaron sus muestras dentro de los 12 días post parto y 3 mujeres entre el día 120 y 320 después del parto.	Las especies bacterianas más comunes fueron Staphylococcus epidermidis, Streptococcus lactarius y Staphylococcus hominis. 4 especies de Lactobacillus estuvieron presentes en 7 muestras (21% de prevalencia). El Staphylococcus aureus se detectó en 15 muestras (45% de prevalencia) y las especies de Bifidobacterias fueron taxones bastante raros en las muestras.	Cada muestra de leche reveló un perfil y patrones únicos de niveles de abundancia bacteriana. Los géneros más abundantes fueron Staphylococcus, Streptococcus, Enhydrobacter, Enterococcus y Rothia.



	Vaidya et al. (50) India 2017.	<b>N: 30.</b> 15 mujeres urbanas que vivían en una ciudad metropolitana y 15 mujeres rurales que viven en la aldea tribal de Gujarat. Rango de edad: 20 a 32 años.	15-90 días post parto.	La comunidad bacteriana en la leche materna contenía más de 26 filos, 157 familias y 543 géneros diferentes. La comparación de la microbiota láctea urbana y rural reveló que difieren tanto en taxones muy abundantes, como Proteobacteria (p: 0.008) y Firmicutes (p: 0.046) y diversidad microbiana general (índice de Shannon: p < 0.001).	En conjunto, el estudio proporcionó los primeros conocimientos sobre la comunidad microbiana de la leche humana de la población india y demostró que diferentes estilos de vida pueden alterar rápidamente la microbiota de la leche.
<b>ESTRÉS</b>	Browne et al. (51) Holanda 2019.	<b>N: 51.</b> <i>Nº muestras:</i> 152. Edad materna media (DE) fue de 32 años, con un rango de 25 a 40 años. Subgrupos de mujeres con angustia psicosocial alta (grupo H, n = 13) y baja (grupo L, n = 13). Cuestionario sobre estrés, ansiedad y síntomas depresivos a las 6 semanas post parto.	Recolección en 3 momentos: semana 2, 6 y 12 después del parto.	<b>Filos:</b> Firmicutes (disminuyó con el tiempo), Proteobacterias (aumentó con el tiempo), Actinobacterias. Bacteroidetes (aumentó a lo largo del tiempo). <b>Géneros:</b> Staphylococcus (disminuyó con el tiempo). Streptococcus. Corynebacterium, Gemella, Propionibacterium, Lactobacillus, Flavobacterium. En las muestras de la semana 12 se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la diversidad microbiana entre el grupo H y L. Hubo un aumento estadísticamente significativo en la diversidad alfa en muestras del grupo L.	La angustia psicosocial está relacionada con algunos cambios en la abundancia relativa de bacterias de la leche y con una menor diversidad bacteriana de la leche. La diferencia entre las mujeres con dificultad psicosocial alta y baja por la diversidad se volvió significativa a los 3 meses post parto.

**IMC materno:** en esta revisión fueron seleccionados 5 estudios que analizaron la relación entre la microbiota láctea y el estado nutricional materno, en los cuales se examinaron 862 muestras de leche materna y un total de 627 mujeres. El rango de edad de las mujeres fue de 26 a 38 años. Los 5 estudios obtuvieron los datos del microbioma utilizando la secuenciación del gen de ARNr 16S. El 60% de esos estudios amplificó la región hipervariable v4 del gen ARNr 16S, el 20% la región v1-v3 y el resto la región v1-v2, unas diferencias que complican la comparación de los resultados obtenidos.

**Dieta materna:** para estudiar este factor fueron considerados 4 estudios que incluyeron 153 mujeres (se agregaron las 21 mujeres del estudio de Williams et al ya que analizó también la dieta) y 274 muestras de leche materna. La edad de las mujeres estaba en el rango de 18 a 40 años de edad.

**Ubicación geográfica:** se consideraron 7 estudios que incluyeron a 981 mujeres (incluyendo las de los estudios de Butts et al. y LeMay-Nedjelski et al. que también consideraron el factor geográfico) y 1133 muestras de leche. En todos los estudios se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la composición de la microbiota de la leche materna según la región donde vivía la madre.

**Estrés materno:** para este factor se incluyó solo un estudio que incluyó 51 mujeres y 152 muestras de leche materna. Hasta el momento sólo este estudio ha examinado la posible asociación entre la composición de la microbiota láctea y la angustia psicosocial materna (ansiedad, síntomas depresivos y angustia post natal). La recolección de las muestras fue realizada en las semanas 2, 6 y 12 post parto. El rango de edad de las mujeres fue de 25 a 40 años.

La **Tabla 2** muestra la calidad de cada uno de los artículos utilizando la herramienta STROBE modificada y adaptada para esta revisión sistemática. La herramienta STROBE se muestra en el anexo 2.

**Tabla 2: Calidad de los artículos incluidos en la revisión.** La lista de chequeo original de STROBE fue modificada en algunos puntos y se agregó un ítem extra que fue adaptado para esta revisión sistemática.

**X:** no incluido.      **•:** incluido      **no aplica:** ítem no corresponde al estudio.

Sección	Item	Recomendación	Butts 2020	Cabrera-Rubi	E Williams 20	LeMay-Nedje	Moosavi 201	Dayagi Babak	Meyer 2016	Padilha 2019
Título y abstract	1	Indica el diseño del estudio con un término de uso habitual en el título o resumen	•	•	•	•	•	•	•	•
		Proporciona en el resumen una sinopsis informativa de lo que se hizo y se encontró	•	•	•	•	•	•	•	•
<b>Introducción</b>										
Antecedentes/justif	2	Explica los antecedentes científicos y justificación de la investigación que se comunica	•	•	•	•	•	•	•	•
Objetivos	3	Menciona objetivos específicos, incluyendo hipótesis pre especificada	•	•	•	•	•	•	•	•
<b>Métodos</b>										
Diseño del estudio	4	Presenta los elementos clave del diseño del artículo al principio del estudio	•	•	•	•	•	•	•	•
Setting	5	Describe el contexto, las ubicaciones, las fechas relevantes y la recopilación de datos	•	•	•	•	•	•	•	•
Participantes	6	Estudio de cohorte: proporciona los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de selección de los	X	X	X	X	X	X	•	X
		Casos y controles: proporciona los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de verificación de ca	X	X	X	X	X	X	X	X
		Estudio transversal: proporciona los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de selección de pa	•	•	•	•	•	•	X	•
Variables	7	Define claramente todos los resultados, posibles factores de confusión y efectos modificadores	•	•	•	•	•	•	X	•
Fuentes de datos, n	8	Para cada variable de interés, proporciona fuentes de datos y detalles de los métodos de evaluación	•	•	•	•	•	•	X	•
Sesgos	9	Describe cualquier esfuerzo para abordar las posibles fuentes de sesgo	•	•	•	•	•	•	X	•
Muestra	10	Explica cómo se llegó al tamaño del estudio	•	•	•	•	•	•	•	•
Variables cuantitati	11	Explica cómo se manejaron las variables cuantitativas en los análisis	•	•	•	•	•	•	•	•
Métodos estadístico	12	Describe todos los métodos estadísticos, incluidos los utilizados para controlar los factores de confusión	•	•	•	•	•	•	X	•
		Describe cualquier método utilizado para examinar subgrupos e interacciones	•	•	•	•	•	•	X	•
		Estudio transversal: si corresponde, describa los métodos analíticos	•	•	•	•	•	•	X	•
		Describe cualquier análisis de sensibilidad	•	•	•	•	•	•	X	•




Sección	Item	Recomendación	Ding 2019	Kumar 2016	Ojo-Okunola	Po-Wen Chei	Vaidya 2017	Browne 2019
<b>Título y abstract</b>	1	Indica el diseño del estudio con un término de uso habitual en el título o resumen	•	•	•	•	•	•
		Proporciona en el resumen una sinopsis informativa de lo que se hizo y se encontró	•	•	•	•	•	•
<b>Introducción</b>								
Antecedentes/justif	2	Explica los antecedentes científicos y justificación de la investigación que se comunica	•	•	•	•	•	•
Objetivos	3	Menciona objetivos específicos, incluyendo hipótesis pre especificada	•	•	•	•	•	•
<b>Métodos</b>								
Diseño del estudio	4	Presenta los elementos clave del diseño del artículo al principio del estudio	•	•	•	•	•	•
Setting	5	Describe el contexto, las ubicaciones, las fechas relevantes y la recopilación de datos	•	•	•	•	•	•
Participantes	6	Estudio de cohorte: proporciona los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de selección de los	X	X	X	X	X	X
		Casos y controles: proporciona los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de verificación de ca	X	X	X	X	X	X
		Estudio transversal: proporciona los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de selección de pa	•	•	•	•	•	•
Variables	7	Define claramente todos los resultados, posibles factores de confusión y efectos modificadores	•	•	•	•	•	•
Fuentes de datos, m	8	Para cada variable de interés, proporciona fuentes de datos y detalles de los métodos de evaluación	•	•	•	•	•	•
Sesgos	9	Describe cualquier esfuerzo para abordar las posibles fuentes de sesgo	•	•	•	•	•	•
Muestra	10	Explica cómo se llegó al tamaño del estudio	•	•	•	•	•	•
Variables cuantitati	11	Explica cómo se manejaron las variables cuantitativas en los análisis	•	•	•	•	•	•
Métodos estadístic	12	Describe todos los métodos estadísticos, incluidos los utilizados para controlar los factores de confusión	•	•	•	•	•	•
		Describe cualquier método utilizado para examinar subgrupos e interacciones	•	•	•	•	•	•
		Estudio transversal: si corresponde, describa los métodos analíticos	•	X	•	•	•	•
		Describe cualquier análisis de sensibilidad	•	•	•	•	•	•
			<b>Butts 2020</b>	<b>Cabrera-Rubi E Williams 20</b>	<b>LeMay-Nedje</b>	<b>Moosavi 2011</b>	<b>Dayagi Babak Meyer 2016</b>	
<b>Resultados</b>	13	Describe el número de participantes en cada fase del estudio	•	•	•	•	•	•
		Describe las razones de la pérdida de participantes en cada fase	X	X	X	X	X	X
Datos descriptivos	14	Describe las características de los participantes en el estudio y la información sobre las exposiciones y l	•	•	•	•	•	X
		Indica el número de participantes con datos ausentes en cada variable de interés	X	X	X	X	X	X
		Estudios de cohortes: resume el período de seguimiento (p. ej., promedio y total)	X	X	X	X	X	•
Datos de las variab	15	Estudios de cohortes: describe el número de eventos resultado, o bien proporciona medidas resumen a	X	X	X	X	X	•
		Estudios de casos y controles: describe el número de participantes en cada categoría de exposición, o E	X	X	X	X	X	X
		Estudios transversales: describe el número de eventos resultado, o bien proporciona medidas resumen	•	•	•	•	•	X
Resultados princip	16	Proporciona estimaciones no ajustadas y, si procede, ajustadas por factores de confusión, así como su	X	X	X	X	•	X
		Si categoriza variables continuas, describe los límites de los intervalos	X	X	X	X	•	X
Otros análisis	17	Describe otros análisis efectuados (de subgrupos, interacciones o sensibilidad)	•	•	•	•	•	X
<b>Discusión</b>								
Resultados clave	18	Resume los resultados principales de los objetivos del estudio	•	•	•	•	•	•
Limitaciones	19	Discute las limitaciones del estudio, teniendo en cuenta posibles fuentes de sesgo o de imprecisión.	•	•	•	•	•	X
Interpretación	20	Proporciona una interpretación global prudente de los resultados considerando objetivos, limitaciones, r	•	•	•	•	•	•
Generabilidad	21	Discute la posibilidad de generalizar los resultados (validez externa)	X	X	X	•	•	X
<b>Otra información</b>								
Financiación	22	Especifica la financiación y el papel de los patrocinadores del estudio y, si procede, del estudio previo e	•	X	X	•	•	X
<b>Extras</b>	23	Existe un protocolo para la extracción de la muestra de leche	•	•	•	•	X	X
	24	Los investigadores son quienes recolectan las muestras de leche	X	X	•	X	X	X
	25	Si es el caso, utilizan un cuestionario de frecuencia de consumo validado	no aplica	no aplica	•	no aplica	no aplica	•

			Padilha 2019	Ding 2019	Kumar 2016	Ojo-Okunula	Po-Wen Chei	Vaidya 2017	Browne 2019
<b>Resultados</b>									
Participantes	13	Describe el número de participantes en cada fase del estudio	•	•	•	•	•	•	•
		Describe las razones de la pérdida de participantes en cada fase	•	X	X	X	X	X	X
Datos descriptivos	14	Describe las características de los participantes en el estudio y la información sobre las exposiciones y	•	•	•	•	•	•	•
		Indica el número de participantes con datos ausentes en cada variable de interés	X	X	X	•	X	X	X
		Estudios de cohortes: resume el período de seguimiento (p. ej., promedio y total)	X	X	X	X	X	X	X
Datos de las variab	15	Estudios de cohortes: describe el número de eventos resultado, o bien proporciona medidas resumen a	X	X	X	X	X	X	X
		Estudios de casos y controles: describe el número de participantes en cada categoría de exposición, o b	X	X	X	X	X	X	X
		Estudios transversales: describe el número de eventos resultado, o bien proporciona medidas resumen	•	•	•	•	•	•	•
Resultados princip	16	Proporciona estimaciones no ajustadas y, si procede, ajustadas por factores de confusión, así como su	X	X	X	X	X	X	X
		Si categoriza variables continuas, describe los límites de los intervalos	X	X	X	X	X	X	•
Otros análisis	17	Describe otros análisis efectuados (de subgrupos, interacciones o sensibilidad)	•	•	•	•	•	•	•
<b>Discusión</b>									
Resultados clave	18	Resume los resultados principales de los objetivos del estudio	•	•	•	•	•	•	•
Limitaciones	19	Discute las limitaciones del estudio, teniendo en cuenta posibles fuentes de sesgo o de imprecisión.	•	•	•	•	•	•	•
Interpretación	20	Proporciona una interpretación global prudente de los resultados considerando objetivos, limitaciones, r	•	•	•	•	•	•	•
Generabilidad	21	Discute la posibilidad de generalizar los resultados (validez externa)	•	X	•	•	•	•	•
<b>Otra información</b>									
Financiación	22	Especifica la financiación y el papel de los patrocinadores del estudio y, si procede, del estudio previo e	•	•	X	•	•	•	•
<b>Extras</b>	23	Existe un protocolo para la extracción de la muestra de leche	•	•	•	•	•	•	•
	24	Los investigadores son quienes recolectan las muestras de leche	•	•	•	•	•	•	X
	25	Si es el caso, utilizan un cuestionario de frecuencia de consumo validado	•	no aplica	no aplica	no aplica	no aplica	no aplica	•

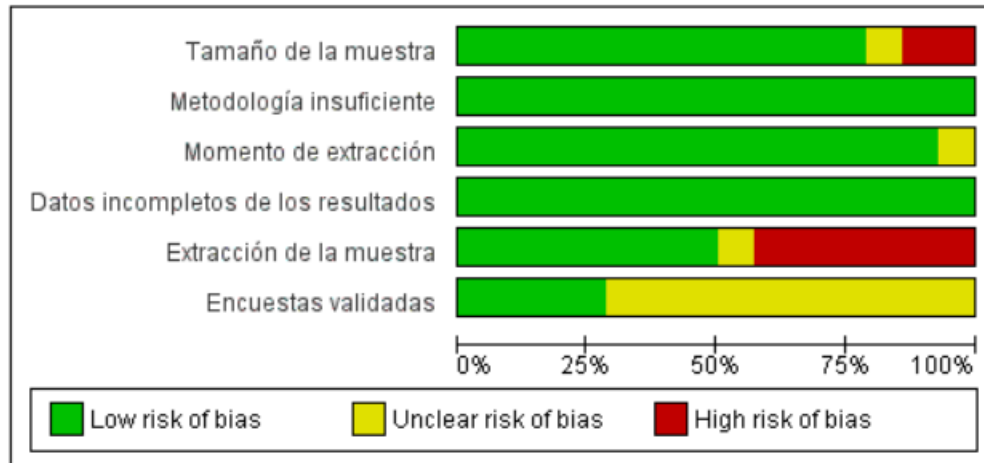
En base a estos resultados, la **Figura 2** muestra el resumen del riesgo de sesgo de los artículos incluidos en la revisión sistemática.

**Figura 2: Riesgo de sesgo en los estudios:** presenta los resultados obtenidos para cada estudio respecto de los distintos parámetros utilizados para la evaluación de riesgo de sesgo, utilizando el Programa RevMan.

	Tamaño de la muestra	Metodología insuficiente	Momento de extracción	Datos incompletos de los resultados	Extracción de la muestra	Encuestas validadas
Browne 2019	+	+	+	+	-	+
Butts 2020	+	+	+	+	-	?
Cabrera-Rubio 2012	-	+	+	+	-	?
Dayagi Babakobi 2020	?	+	+	+	-	+
Ding 2019	+	+	+	+	+	?
E Williams 2017	+	+	+	+	+	+
Kumar 2016	+	+	+	+	+	?
Lauren LeMay-Nedjelski 2020	+	+	+	+	-	?
Meyer 2016	-	+	+	+	?	?
Moossavi 2019	+	+	+	+	-	?
Ojo-Okunola 2019	+	+	+	+	+	?
Padilha 2019	+	+	+	+	+	+
Po-Wen Chen 2018	+	+	+	+	+	?
Vaidya 2017	+	+	?	+	+	?

-  : Bajo riesgo de sesgo
-  : Poco claro
-  : Alto riesgo de sesgo

**Figura 3:** resumen del riesgo de sesgos de los estudios incluidos. En verde aparecen los estudios con bajo riesgo de sesgos, en amarillo los de riesgo incierto y en rojo aquellos con un alto riesgo de sesgo.



**Tamaño de muestra:** estudios con menos de 20 muestras de leche materna se consideraron poco representativas.

**Metodología insuficiente:** artículos con información insuficiente en la sección metodología se consideraron con alto riesgo.

**Momento de la extracción:** artículos con muestra de leche obtenida después del primer mes post parto, se consideró adecuado para esta revisión sistemática.

**Datos incompletos de los resultados:** artículos con resultados insuficientes fueron considerados con alto riesgo de sesgos.

**Extracción de la muestra:** si las madres fueron las que extrajeron las muestras de leche materna.

**Encuestas validadas:** estudios que utilizaron encuestas validadas se consideraron apropiados y con bajo riesgo de sesgo.

## Discusión

En esta revisión sistemática, 14 estudios fueron examinados provenientes de 11 países distintos que incluyeron 1594 participantes mujeres y analizaron 2006 muestras de leche materna. Muchos estudios fueron excluidos por analizar solo calostro o una cantidad inadecuada de muestras de leche (n muy bajo), por incluir madres con mastitis, por analizar muestras de leche de madres que consumían antibióticos, lo cual podía alterar los resultados en la microbiota, estudios con datos insuficientes y artículos que analizaban otros factores no relacionados a los estilos de vida de la madre.

La microbiota de la leche materna es diversa, con una gran variabilidad interindividual vinculada a varios factores incluyendo estilos de vida de la madre (52). Durante la lactancia materna se establece en el intestino del lactante amamantado una microbiota intestinal dominada por poblaciones beneficiosas del género *Bifidobacterium* (53). El establecimiento de esta microbiota específica es determinado por la presencia de altas concentraciones de oligosacáridos en la leche materna así como la de otros componentes como los nucleótidos o el glicomacropéptido (43). Es muy probable que la microbiota de la leche materna también contribuya a este proceso de colonización. Es por lo tanto relevante caracterizar los factores asociados a la madre que impactan su composición bacteriana y que pueden influir sobre el hecho que esta microbiota sea, o no, beneficiosa para el lactante.

Esta revisión, por lo tanto, evaluó 4 factores maternos: IMC, dieta materna, ubicación geográfica de la madre y estrés materno, sobre la composición microbiana de la leche determinada por secuenciación masiva. Cada uno de ellos se examina a continuación.

**IMC materno:** Con respecto a los filos encontrados en estos estudios, el que más predominó fue Firmicutes, seguido de Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Fusobacteria. Los géneros bacterianos más prevalentes fueron *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Gemella*, *Veillonella*, *Acinetobacter*,



*Corynebacterium* y *Lactobacillus*. Dos estudios tuvieron resultados similares: Moosavi et al. describieron una asociación inversa entre IMC y diversidad de Proteobacteria, además de una asociación positiva entre IMC y diversidad de Firmicutes mientras que Kumar et al. reportaron una correlación positiva entre IMC materno y abundancia de Firmicutes. Así también, otro estudio realizado en el mismo país, (Lemay-Nedjelski et al.) mostró la misma asociación con Proteobacteria, ya que madres obesas tenían una menor incidencia de este filo en su leche. En cuanto a los géneros bacterianos, Cabrera-Rubio y colaboradores, informaron una mayor abundancia de *Staphylococcus* y una disminución de *Bifidobacterium* en mujeres con un elevado IMC. Asimismo, Lemay-Nedjelski et al reportaron que mujeres con obesidad tenían una abundancia mayor de *Staphylococcus* en comparación con mujeres con estado nutricional normal. Ding y colaboradores reportaron que un IMC mayor estaba relacionado con una AR mayor de *Staphylococcus* y *Streptococcus* y una menor de *Lactobacillus*. Uno de los estudios realizado en España, llegó a la interesante conclusión de que el IMC materno elevado está relacionado con una menor diversidad en la microbiota de la leche materna en comparación con las madres de peso saludable. Sólo uno de los estudios analizados, no encontró diferencias en la composición de la microbiota según IMC.

**Dieta materna:** Los estudios mostraron similitudes en los filos bacterianos más abundantes: Firmicutes con una abundancia relativa media de 78%, Actinobacteria con un 10%, Proteobacteria con un 8% y Bacteroidetes con un 1%. Con respecto a los géneros bacterianos, los 4 estudios tenían presente a *Streptococcus* con una abundancia relativa media de 45% seguido por *Staphylococcus* con una abundancia relativa media de 19% y *Corynebacterium*, *Bifidobacterium*, *Rothia*, *Veillonella*, *Gemella*, *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter* y *Lactobacillus* en menores abundancias. Dos de los estudios (Williams et al. y Babakobi et al.) coincidieron en el efecto (correlación negativa) que tuvo el consumo materno de ácidos grasos insaturados sobre la abundancia relativa del género *Corynebacterium*. Un estudio mencionado anteriormente (Kumar y colaboradores) indica que hay cambios de la microbiota inducidos por el consumo materno de

ácidos grasos, con una fuerte correlación negativa entre los niveles de *Streptococcus* y ácidos grasos saturados, y entre *Staphylococcus* y ácidos grasos monoinsaturados. Esto se podría explicar porque niveles más altos de ácidos grasos disminuyen el pH de la leche y, en consecuencia, la diversidad bacteriana de la leche (47). Estos hallazgos se han mencionado previamente, ya que las dietas altas en grasas se han asociado a una reducción en la diversidad microbiana (54).

En 3 estudios se encontró una asociación negativa entre el consumo materno de ácido fólico y las abundancias relativas de algunas bacterias: *Lactobacillus* en el caso del estudio de Williams et al., *Streptococcus* en el estudio de Babakobi et al. y *Enterococcus* en el artículo de Padilha et al. Una hipótesis probable para explicar esta correlación es que existe un efecto indirecto de los niveles de ácido fólico consumidos por la madre sobre el crecimiento de especies bacterianas en su leche. Esta diferencia también podría ser debida a las diferentes metodologías utilizadas para registrar el consumo alimentario de las madres, ya que en el estudio de Williams et al. se utilizó un recordatorio de 24 horas mientras que en el de Babakobi et al. se usó un cuestionario de frecuencia de consumo. Por último, los estudios de Williams et al. y Padilha et al. encontraron una correlación negativa entre la ingesta de tiamina y la AR de *Lactobacillus* y *Enterococcus* respectivamente. Un hallazgo que se debe mencionar es la diferencia taxonómica encontrada en muestras de leche materna de mujeres que consumieron una dieta alta en grasas frente a aquellas que consumían una dieta alta en carbohidratos en el estudio de Meyer et al. en Estados Unidos. Las bacterias más predominantes en las primeras fueron *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Corynebacterium* y *Acinetobacter* mientras que las segundas tuvieron una abundancia relativa mucho mayor de *Staphylococcus* y mucho menor de *Streptococcus* y la presencia del género *Bacillus*. Por lo tanto, estos datos nos confirman que la dieta materna modifica la composición de la microbiota de la leche materna. Es importante entonces, velar por una adecuada alimentación de la madre antes y después del parto.

**Ubicación geográfica:** En general, los filos más abundantes encontrados en los estudios fueron similares: Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Fusobacteria, y a nivel de género, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter* y *Bifidobacterium*. Vaidya et al. analizaron muestras de leche de mujeres provenientes de sectores rurales y urbanos en India, y los compararon con un estudio hecho en Finlandia (n=42) y Suiza (n=21). El análisis de PCoA indicó que la microbiota de las mujeres de la India era significativamente distinta a las de Finlandia y de Suiza a nivel de filos. Las mujeres de zonas urbanas tenían una abundancia relativa significativamente mayor de Proteobacteria, mientras que Firmicutes era ligeramente más abundante en mujeres de zonas rurales. Concluyeron que la microbiota de la leche de mujeres de zonas rurales era significativamente más diversa que la de mujeres de zonas urbanas. Estas variaciones en la microbiota de la leche puede ser explicada debido a que la ubicación geográfica influye en la dieta y las prácticas culturales. Por último, otro estudio en China reportó que la composición microbiana de la leche de madres del norte y noroeste de este país difería de la de las del este, noroeste y sur debido a los hábitos alimentarios y al grado de industrialización en estas zonas geográficas.

**Estrés materno:** Los filos más predominantes en este estudio fueron: Firmicutes seguido por Proteobacteria, Actinobacteria y Bacteroidetes. Los géneros más abundantes fueron: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Gemella*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Acinetobacter*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Enhydrobacter* y *Flavobacterium*. El estudio llegó a la conclusión de que las mujeres con niveles más altos de angustia psicosocial presentaban una menor diversidad bacteriana en su microbiota láctea a los 3 meses después del parto en comparación con aquellas con menor angustia. Sería útil que los estudios futuros extendieran el análisis a una población más grande y que pudieran incluir muestras de leche de mujeres con un estado psicopatológico clínico con el fin de sacar conclusiones definitivas sobre los cambios en la microbiota de la leche materna.

Esta revisión tiene varias fortalezas. Ambos revisores realizaron de forma independiente la búsqueda en las bases de datos y evaluaron manuscritos

calificados. El grado de concordancia obtenido por el índice de kappa fue muy apropiado. Los criterios de inclusión fueron amplios, no restringidos y los términos de búsqueda estuvieron enfocados para capturar todos los datos relevantes, pero lo suficientemente estrechos como para minimizar la captura de literatura extraña que podía resultar en un tiempo y esfuerzo innecesario para evaluar artículos irrelevantes. La búsqueda fue realizada en 4 bases de datos, más la literatura gris, esto hace que la revisión sea muy amplia. Lo innovador de esta revisión, es la inclusión de tablas del riesgo de sesgos que fueron elaboradas exclusivamente para este análisis. Por otro lado, esta revisión tiene dos limitaciones; la primera es el enfoque descriptivo de los estudios analizados, ya que la mayoría de ellos era de tipo observacional, esto es debido a que en la literatura son muy pocos los estudios experimentales que investigan la microbiota de la leche materna y como segunda limitación, está el hecho de no poder realizar análisis más profundos de causa-efecto, debido a la heterogeneidad de los estudios, que a pesar de que todos ellos analizaron la microbiota mediante secuenciación del gen ARNr 16S, utilizaron distintas regiones hipervariables del mismo, por lo tanto no son comparables.

Gracias al estricto protocolo de la revisión sistemática estos hallazgos son generalizables y replicables.

Los estudios de esta revisión sistemática revelaron que esta microbiota está dominada principalmente por los filos Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria y Bifidobacterium y por los géneros Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Acinetobacter y Lactobacillus.

Con respecto a los estilos de vida de la madre y la microbiota de la leche materna, los hallazgos fueron interesantes, ya que, en el caso del IMC, las mujeres con un elevado índice de masa corporal, presentaron una menor diversidad en la microbiota de la leche comparado con las mujeres con estado nutricional normal. En cuanto a la nutrición de la madre, la dieta modifica la composición de la microbiota láctea. En el caso de los macronutrientes, se encontraron diferencias taxonómicas entre el consumo de una dieta alta en grasas frente a una dieta alta en carbohidratos.

En el caso del factor relacionado con estrés materno, las mujeres con altos niveles de angustia psicosocial reportaron una menor diversidad microbiana.

Por último, con respecto al factor geográfico, se informó que la microbiota láctea difiere significativamente según la ubicación geográfica de la madre, por lo tanto, la microbiota de la leche materna es específica de cada ubicación, incluso se encontraron diferencias significativas entre madres que viven en el mismo país, pero en regiones diferentes.

## **Conclusión**

La microbiota de la leche materna tiene una diversidad bacteriana importante que es modificada por diversos factores. Por consiguiente, es importante tener en cuenta los estilos de vida de la madre en el momento previo al embarazo y post parto, ya que factores como el estado nutricional, dieta, estrés y ubicación geográfica de la madre, pueden producir diferencias en las abundancias relativas de la microbiota de la leche materna, afectando la colonización microbiana del recién nacido.

## **Referencias**

1. Schellhorn HC V V. Manual de Lactancia Materna Ministerio de Salud [Internet]. Ministerio de Salud. 2010. 238 p. Available from: [https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/manual\\_lactancia\\_materna.pdf](https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/manual_lactancia_materna.pdf) %0A[http://www.minsal.cl/sites/default/files/files/manual\\_lactancia\\_materna.pdf](http://www.minsal.cl/sites/default/files/files/manual_lactancia_materna.pdf) %0A[http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/manual\\_lactancia\\_materna.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/manual_lactancia_materna.pdf) %0A[http://scholar.google](http://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=91811436301103810401&citation_for_view=91811436301103810401:81811436301103810401)
2. Strain H, Orchard F, Fuentealba L. Manual de Lactancia Materna para profesionales de la salud. Manual [Internet]. 2017;91. Available from: <http://www.crececontigo.gob.cl/wp-content/uploads/2018/01/manual-lactancia-profesionales-y-usuarios.pdf>
3. Palmeira P, Carneiro-Sampaio M. Immunology of breast milk. Rev Assoc Med

- Bras. 2016;62(6):584–93.
4. Ellis D. Promotion of breast-feeding. *Can Med Assoc J.* 1984;130(4):340–1.
  5. Gillman MW, Rifas-Shiman SL, Camargo CA, Berkey CS, Frazier AL, Rockett HRH, et al. Risk of overweight among adolescents who were breastfed as infants. *J Am Med Assoc.* 2001;285(19):2461–7.
  6. Duijts L, Jaddoe VWV, Hofman A, Moll HA. Prolonged and exclusive breastfeeding reduces the risk of infectious diseases in infancy. *Pediatrics.* 2010;126(1).
  7. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev [Internet].* 2015;91(11):629–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
  8. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome [Internet].* 2015;3(1):1–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>
  9. Oikonomou G, Addis MF, Chassard C, Nader-macias MEF, Grant I, Delbès C, et al. Milk Microbiota: What Are We Exactly Talking About? 2020;11(February):1–15.
  10. Zimmermann P, Curtis N. Breast milk microbiota: A complex microbiome with multiple impacts and conditioning factors. *J Infect [Internet].* 2020;(xxxx). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.01.023>
  11. Eidelman AI, Schanler RJ. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* 2012;129(3).
  12. Pannaraj PS, Li F, Cerini C, Bender JM, Yang S, Rollie A, et al. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *JAMA Pediatr.* 2017;171(7):647–54.
  13. Schwab C, Voney E, Ramirez Garcia A, Vischer M, Lacroix C. Characterization of the Cultivable Microbiota in Fresh and Stored Mature Human Breast Milk. *Front Microbiol.* 2019;10(November):1–12.
  14. Moossavi S, Azad MB. Origins of human milk microbiota: new evidence and arising questions. *Gut Microbes [Internet].* 2019;00(00):1–10. Available from:

<https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1667722>

15. Demmelmair H, Jiménez E, Collado MC, Salminen S, McGuire MK. Maternal and perinatal factors associated with the human milk microbiome. *Curr Dev Nutr.* 2020;4(4):1–14.
16. Rodríguez JM, Jiménez E, Merino V, Maldonado A, Marín ML, Fernández L, et al. Microbiota de la leche humana en condiciones fisiológicas. *Acta Pediatr Esp.* 2008;66(2):77–82.
17. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UME, Beck DL, Abdo Z, et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One.* 2011;6(6):1–8.
18. Moossavi S, Sepehri S, Robertson B, Bode L, Goruk S, Field CJ, et al. Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. *Cell Host Microbe [Internet].* 2019;25(2):324-335.e4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.011>
19. Fitzstevens JL, Smith KC, Hagadorn JI, Caimano MJ, Matson AP, Brownell EA. Systematic review of the human milk microbiota. *Nutr Clin Pract.* 2017;32(3):354–64.
20. Murphy K, Curley D, O’callaghan TF, O’shea CA, Dempsey EM, O’toole PW, et al. The composition of human milk and infant faecal microbiota over the first three months of life: A pilot study. *Sci Rep [Internet].* 2017;7(July 2016):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep40597>
21. McGuire MK, McGuire MA. Got bacteria? The astounding, yet not-so-surprising, microbiome of human milk [Internet]. Vol. 44, *Current Opinion in Biotechnology.* Elsevier Ltd; 2017 [cited 2020 Oct 24]. p. 63–8. Available from: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.uchile.idm.oclc.org/27940404/>
22. Damaceno QS, Souza JP, Nicoli JR, Paula RL, Assis GB, Figueiredo HC, et al. Evaluation of Potential Probiotics Isolated from Human Milk and Colostrum. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2017;9(4):371–9.
23. Bisanz JE, Enos MK, PrayGod G, Seney S, Macklaim JM, Chilton S, et al. Microbiota at multiple body sites during pregnancy in a rural tanzanian population and effects of Moringa-supplemented probiotic yogurt. *Appl*

- Environ Microbiol. 2015;81(15):4965–75.
24. Ding M, Qi C, Yang Z, Jiang S, Bi Y, Lai J, et al. Geographical location specific composition of cultured microbiota and: *Lactobacillus* occurrence in human breast milk in China. *Food Funct*. 2019;10(2):554–64.
  25. Vaidya YH, Patel SH, Patel RJ, Pandit RJ, Joshi CG, Kunjadia AP. Human milk microbiome in urban and rural populations of India. *Meta Gene* [Internet]. 2017;13(December 2016):13–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mgene.2017.04.001>
  26. Cabrera-Rubio R, Mira-Pascual L, Mira A, Collado MC. Impact of mode of delivery on the milk microbiota composition of healthy women. *J Dev Orig Health Dis*. 2016;7(1):54–60.
  27. Williams JE, Janae M Carrothers, Kimberly A Lackey, Nicola F Beatty, Mara A York, Sarah L Brooker, Bahman Shafii, William J Price, Matthew L Settles MAM, McGuire and MK. Human Milk Microbial Community Structure Is Relatively Stable and Related to Variations in Macronutrient and Micronutrient Intakes in Healthy Lactating Women. *J Nutr*. 2015;145(10):2379–88.
  28. Simpson MR, Avershina E, Storrø O, Johnsen R, Rudi K, Øien T. Breastfeeding-associated microbiota in human milk following supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* La-5, and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. *J Dairy Sci* [Internet]. 2018;101(2):889–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13411>
  29. Hermansson H, Kumar H, Collado MC, Salminen S, Isolauri E, Rautava S. Breast milk microbiota is shaped by mode of delivery and intrapartum antibiotic exposure. *Front Nutr*. 2019;6(February).
  30. Khodayar-Pardo P, Mira-Pascual L, Collado MC, Martínez-Costa C. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J Perinatol*. 2014;34(8):599–605.
  31. Jiménez E, De Andrés J, Manrique M, Pareja-Tobes P, Tobes R, Martínez-Blanch JF, et al. Metagenomic analysis of milk of healthy and mastitis-suffering women. *J Hum Lact*. 2015;31(3):406–15.



32. Li SW, Watanabe K, Hsu CC, Chao SH, Yang ZH, Lin YJ, et al. Bacterial composition and diversity in breast milk samples from mothers living in Taiwan and Mainland China. *Front Microbiol.* 2017;8(MAY):1–15.
33. Sakwinska O, Moine D, Delley M, Combremont S, Rezzonico E, Descombes P, et al. Microbiota in breast milk of Chinese lactating mothers. *PLoS One.* 2016;11(8):1–14.
34. Mamédio C, Roberto M, Nobre C. the Pico Strategy for the Research Question. *Rev latino-am Enferm.* 2007;15(3):1–4.
35. Moraga C J, Cartes-Velásquez R. Pautas De Chequeo, Parte li: Quorom Y Prisma. *Rev Chil cirugía.* 2015;67(3):325–30.
36. Higgins. *Manual Cochrane de Revisiones Sistemáticas de Intervenciones, versión 5.1.* 0. Man Cochrane Revis Sist Interv versión 510 [Internet]. 2012;(March):1–639. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Manual+Cochrane+de+revisiones+sistem?ticas+de+intervenciones#1>
37. Gris LL. En síntesis. 2011;4:4067.
38. Butts CA, Paturi G, Blatchford P, Bentley-Hewitt KL, Hedderley DI, Martell S, et al. Microbiota Composition of Breast Milk from Women of Different Ethnicity from the Manawatu—Wanganui Region of New Zealand. *Nutrients* [Internet]. 2020 Jun;12(6):1756. Available from: <http://10.0.13.62/nu12061756>
39. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2012;96(3):544–51. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L365497060&from=export>
40. Williams JE, Carrothers JM, Lackey KA, Beatty NF, York MA, Brooker SL, et al. Human milk microbial community structure is relatively stable and related to variations in macronutrient and micronutrient intakes in healthy lactating women. *J Nutr.* 2017;147(9):1739–48.
41. LeMay-Nedjelski L, Butcher J, Ley SH, Asbury MR, Hanley AJ, Kiss A, et al.

- Examining the relationship between maternal body size, gestational glucose tolerance status, mode of delivery and ethnicity on human milk microbiota at three months post-partum. *BMC Microbiol* [Internet]. 2020 Jul 20;20(1):1–14. Available from: <http://10.0.4.162/s12866-020-01901-9>
42. Moossavi S, Sepehri S, Robertson B, Bode L, Goruk S, Field CJ, et al. Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2019;25(2):324-335.e4. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L2001541918&from=export>
  43. Babakobi MD, Reshef L, Gihaz S, Belgorodsky B, Fishman A, Bujanover Y, et al. Effect of maternal diet and milk lipid composition on the infant gut and maternal milk microbiomes. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(9):1–14. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L2004950660&from=export>
  44. Meyer KM, Mohammad M, Ma J, Chu D, Haymond M, Aagaard K. Maternal diet alters the breast milk microbiome and microbial gene content. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2016;214(1):S47–8. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L72164263&from=export>
  45. Padilha M, Brejnrod A, Danneskiold-Samsøe NB, Hoffmann C, laucci J de M, Cabral VP, et al. Response of the Human Milk Microbiota to a Maternal Prebiotic Intervention Is Individual and Influenced by Maternal Age. *Nutrients* [Internet]. 2020 Apr;12(4):1081. Available from: <http://10.0.13.62/nu12041081>
  46. Ding M, Qi C, Yang Z, Jiang S, Bi Y, Lai J, et al. Geographical location specific composition of cultured microbiota and: *Lactobacillus* occurrence in human breast milk in China. *Food Funct*. 2019 Feb 1;10(2):554–64.
  47. Kumar H, du Toit E, Kulkarni A, Aakko J, Linderborg KM, Zhang Y, et al. Distinct patterns in human milk microbiota and fatty acid profiles across specific geographic locations. *Front Microbiol*. 2016;7(OCT).

48. Ojo-Okunola A, Claassen-Weitz S, Mwaikono KS, Gardner-Lubbe S, Stein DJ, Zar HJ, et al. Influence of socio-economic and psychosocial profiles on the human breast milk bacteriome of south african women. *Nutrients*. 2019 Jun 1;11(6).
49. Chen P-W, Lin Y-L, Huang M-S. Profiles of commensal and opportunistic bacteria in human milk from healthy donors in Taiwan. *J Food Drug Anal*. 2018;26(4):1235–44.
50. Vaidya YH, Patel SH, Patel RJ, Pandit RJ, Joshi CG, Kunjadia AP. Human milk microbiome in urban and rural populations of India. *Meta Gene* [Internet]. 2017;13:13–22. Available from: <https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L615380247&from=export>
51. Browne PD, Aparicio M, Alba C, Hechler C, Beijers R, Rodríguez JM, et al. Human milk microbiome and maternal postnatal psychosocial distress. *Front Microbiol*. 2019;10(OCT):1–16.
52. Ruiz L, García-Carral C, Rodriguez JM. Unfolding the human milk microbiome landscape in the omicsera. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 Jun 25 [cited 2020 Dec 23];10(JUN):1378. Available from: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)
53. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2012 [cited 2020 Dec 23];2:94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23087909/>
54. Maher SE, O'Brien EC, Moore RL, Byrne DF, Geraghty AA, Saldova R, et al. The association between the maternal diet and the maternal and infant gut microbiome: A systematic review. *Br J Nutr*. 2020;

**Financiamiento:** para la elaboración de la revisión sistemática no existió ningún tipo de financiamiento.

## **i. Anexo 1: Lista de abreviaturas**

**RS:** Revisión sistemática

**ATB:** antibióticos

**AR:** abundancia relativa

**IMC:** índice de masa corporal

**PCoA:** análisis de coordenadas principales

**DAG:** dieta alta en grasas

**RevMan:** Review Manager

**USA:** United States of America

**CFC:** cuestionario de frecuencia de consumo

**SP:** sobre peso

**OB:** obesidad

**AGM:** ácidos grasos monoinsaturados

**AGP:** ácidos grasos poliinsaturados

**CHO:** carbohidratos

**ARNr:** ARN ribosómico

**3D:** 3 dimensiones

## ii. Anexo 2: Elaboración del algoritmo de búsqueda

### PubMed

1.- ("Microbiota"[Mesh]) AND "Milk, Human"[Mesh])

Filtros: estudios en humanos y escritos en inglés

45 resultados (Poco específico).

2.- (("Milk, Human" [Mesh]) AND "Microbiota" [Mesh]) OR "Maternal Exposures" [Mesh])

Filtros: idioma inglés y humanos.

285 resultados

3.- ("Breast Feeding"[Mesh] OR "Milk, Human"[Mesh] OR "Lactation"[Mesh] OR "Diet"[Mesh] OR "Body Mass Index"[Mesh] AND "Microbiota"[Mesh])

90492 resultados (No adecuado ya que son demasiados estudios).

4.- (("Microbiota"[Mesh] OR "Milk, Human"[Mesh]) AND (("Mothers" [Mesh] OR "Maternal Exposure"[Mesh] OR "Maternal Age"[Mesh] OR "Obesity, Maternal"[Mesh]))

Filtros: año de artículos publicados entre el año 2000 y 2020 y hechos en humanos.

1199 resultados

5.- (((("Microbiota"[Mesh]) AND "Milk, Human"[Mesh]) AND (("Mothers"[Mesh]) OR ("Maternal Exposure"[Mesh] OR "Obesity, Maternal"[Mesh] OR "Maternal Factors" OR "geographical" OR "diet" )))

Filtros: estudios en humanos

**95 resultados** (Es el más adecuado ya que incluye los factores maternos).

## **EBSCO (CINAHL)**

1.- Human milk AND microbiota

570 resultados

2.- Breast milk OR human milk OR mothers milk AND microbiota OR microbiome  
AND factors influencing

7 resultados

3.- Breast milk OR human milk OR mothers milk AND microbiota OR microbiome  
AND factors OR causes OR influences

**91 resultados.**

## **EMBASE**

1.- ('microbiome'/exp OR 'microbiome') AND ('breast milk'/exp OR 'breast milk')

1202 resultados (muy amplio). Usando Emtree

2.- 'microbiome'/exp AND 'breast milk'/exp.

583 resultados. Utilizando Emtree

3.- 'microbiome'/exp AND 'breast milk'/exp. Con filtros de idioma y año de  
publicación agregado generó **270 resultados.**

## **Scopus**

1.- ( microbiota OR microbiome AND breast AND milk OR human AND milk )

1262 resultados (muy amplio)

2.- ( microbiota OR microbiome AND breast AND milk OR human AND milk)  
AND (LIMIT-TO (ACCESSTYPE(OA))) AND (LIMIT TO (LANGUAGE, "English"))

644 resultados (muy amplio)

3.- ( microbiota OR microbiome AND breast AND milk OR human AND milk)  
AND (mothers OR factors OR causes OR influences) AND (LIMIT-  
TO(ACCESSTYPE(OA))) AND (LIMIT-TO(LANGUAGE, "English"))

437 resultados, sigue siendo amplio

4.- (microbiota OR microbiome AND breast AND milk OR human AND milk  
AND NOT calostro OR infants) AND (LIMIT-TO(ACESTYPE(OA)) AND  
PUBYEAR>2002)

**126 resultados**, es adecuado.

### iii. Anexo 3: Check list STROBE

STROBE Statement—checklist of items that should be included in reports of observational studies

	Item No	Recommendation
<b>Title and abstract</b>	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract (b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found
<b>Introduction</b>		
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses
<b>Methods</b>		
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection
Participants	6	(a) <i>Cohort study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up <i>Case-control study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls <i>Cross-sectional study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants (b) <i>Cohort study</i> —For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed <i>Case-control study</i> —For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias
Study size	10	Explain how the study size was arrived at
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding (b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions (c) Explain how missing data were addressed (d) <i>Cohort study</i> —If applicable, explain how loss to follow-up was addressed <i>Case-control study</i> —If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed <i>Cross-sectional study</i> —If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy (e) Describe any sensitivity analyses

Continued on next page



<b>Results</b>		
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed (b) Give reasons for non-participation at each stage (c) Consider use of a flow diagram
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders (b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest (c) <i>Cohort study</i> —Summarise follow-up time (eg, average and total amount)
Outcome data	15*	<i>Cohort study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures over time <i>Case-control study</i> —Report numbers in each exposure category, or summary measures of exposure <i>Cross-sectional study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included (b) Report category boundaries when continuous variables were categorized (c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses
<b>Discussion</b>		
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results
<b>Other information</b>		
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based

\*Give information separately for cases and controls in case-control studies and, if applicable, for exposed and unexposed groups in cohort and cross-sectional studies.

**Note:** An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at [www.strobe-statement.org](http://www.strobe-statement.org).

#### iv. Anexo 4: Lista de chequeo PRISMA

Sección	#	Lista de chequeo	Reportado en página #
<b>TITULO</b>			
Título	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	
<b>RESUMEN</b>			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	
<b>INTRODUCCION</b>			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	
<b>METODOS</b>			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	

Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., $I^2$ ) for each meta-analysis.	

Sección	#	Lista de chequeo	Reportado en página #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	
<b>RESULTADOS</b>			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	

Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	
<b>DISCUSSION</b>			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	
<b>FINANCIAMIENTO</b>			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	