

## 모유수유와 분유수유에 따른 영아 장내 미생물 군집의 특징

김경순<sup>1</sup> · 신정<sup>1</sup> · 심지수<sup>1</sup> · 연수지<sup>2</sup> · 이평안<sup>2</sup> · 정문규<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국의과학연구원, <sup>2</sup>한국엔디랩

## Comparison of gut microbial diversity of breast-fed and formula-fed infants

Kyeong Soon Kim<sup>1</sup>, Jung Shin<sup>1</sup>, JiSoo Sim<sup>1</sup>, SuJi Yeon<sup>2</sup>, Pyeong An Lee<sup>2</sup>, and Moon Gyu Chung<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Korea Research Institute of Bio-medical Science, Daejeon 34946, Republic of Korea

<sup>2</sup>Korea ND Lab Co., Ltd., Jeonju 54863, Republic of Korea

(Received July 17, 2019; Revised August 23, 2019; Accepted August 26, 2019)

The intestinal microbiomes vary according to the factors such environment, age and diet. The purpose of this study was to compare the gut microbial diversity between Korean infants receiving breast-fed milk and formula-fed milk. We analyzed microbial communities in stool samples collected from 80 Korean infants using next generation sequencing. Phylum level analysis revealed that microbial communities in both breast-fed infants group (BIG) was dominated by *Actinobacteria* (74.22 ± 3.48%). Interestingly, the phylum *Actinobacteria* was dominant in formula-fed infants group A (FIG-A) at 73.46 ± 4.12%, but the proportions of phylum *Actinobacteria* were lower in formula-fed infants group B and C (FIG-B and FIG-C) at 66.52 ± 5.80% and 68.88 ± 4.33%. The most abundant genus in the BIG, FIG-A, FIG-B, and FIG-C was *Bifidobacterium*, comprising 73.09 ± 2.31%, 72.25 ± 4.93%, 63.81 ± 6.05%, and 67.42 ± 5.36% of the total bacteria. Furthermore, the dominant bifidobacterial species detected in BIG and FIG-A was *Bifidobacterium longum* at 68.77 ± 6.07% and 66.85 ± 4.99% of the total bacteria. In contrast, the proportions of *B. longum* of FIG-B and FIG-C were 58.94 ± 6.20% and 61.86 ± 5.31% of the total bacteria. FIG-A showed a community similar to BIG, which may be due to the inclusion of galactooligosaccharide, galactosyllactose, synergy-oligosaccharide, bifidooligo and improvement material of gut microbiota contained in formula-milk. We conclude that

5-Bifidus factor contained in milk powder promotes the growth of *Bifidobacterium* genus in the intestines.

**Keywords:** *Bifidobacterium longum*, 5-Bifidus factor, breast-fed, formula-fed, next generation sequencing

인체에는 매우 다양한 미생물이 존재하며 서로 공생 관계를 가지고 살아가면서 다양한 생존환경을 만들고 있다. 특히 장에는 1000종 이상의 미생물이 있으며 10조에서 100조 정도의 미생물이 살고 있다(Johnson *et al.*, 2012). 이러한 미생물은 microbiota라고 불리며 이 미생물의 유전자를 microbiome이라 한다. 또한 인간과 공생하는 미생물 유전자들의 경우 인간의 두 번째 유전자(second genome)라고 불리기도 한다(Grice *et al.*, 2012). 특히 장내에 유용한 역할을 하는 세균을 유산균이라 통칭하고 있으며 유산균은 체내에서 다양한 영향을 주고받는 연구가 진행되고 있다(Berstad *et al.*, 2016). 유산균은 성장하면서 유산을 생성하는 균이며 대표적인 유산균으로는 *Bifidobacterium* 종과 *Lactobacillus* 종이 알려져 있다. *Lactobacillus* 종은 주로 소장에 존재하며 면역과 항균물질 형성, 장내 세균구성 정상화 및 유해균생성 억제 등의 효능을 가지고 있다(Dawood *et al.*, 2016). 반면 *Bifidobacterium* 종은 주로 대장에서 존재하며 대장균증식 억제, 장운동 및 배변활동 강화 등에 효능을 가지고 있으며 최근에는 피부질환과 같은 알

\*For correspondence. E-mail: pgaeguri@hanmail.net;  
Tel.: +82-42-716-2310; Fax: +82-42-716-2309

레르기 발병의 완화에도 도움을 준다고 알려져 있다(Grönlund *et al.*, 2007; Vazquez-Gutierrez *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2018).

영아는 태어나기 전 배속에서 무균 상태이지만 출산이 진행되는 과정이나 환경 및 섭취하는 음식물에 따라 서로 다른 미생물들이 장내에서 군집을 형성하게 된다(Groer *et al.*, 2014; Mueller *et al.*, 2015; Chu *et al.*, 2017; Stavropoulou *et al.*, 2018). 출산은 자연분만과 제왕절개로 나뉘며 출산과정에 의해 우점되는 미생물이 달라지게 된다. 자연분만은 영아의 장내 미생물군집이 혐기성 미생물로 우점되지만 제왕절개로 태어난 영아는 태어나는 조건에서 공기가 접촉되는 환경에 노출되기 때문에 혐기적 미생물보다 호기적 미생물이 쉽게 정착하여 우점을 형성한다(Azad *et al.*, 2013; Dominguez-Bello *et al.*, 2016).

특히 영아의 장내 미생물군집은 섭취하는 음식에 따라 군집의 변화가 크다고 알려져 있으며 섭취하는 음식이 모유 또는 분유에 한정되어 있기 때문에 장내 미생물군집 변화가 뚜렷하게 달라진다. 또한 음식에는 다양한 미생물이 포함되어 있기 때문에 어떤 음식을 섭취하는지에 따라 장내 우점하는 미생물이 달라지게 된다. 모유를 먹고 자란 영아는 *Bifidobacterium* 종들이 우점을 차지하면서 *Lactobacillus*, *Staphylococcus* 종과 같은 유익한 미생물이 장내에 존재하지만 분유를 섭취한 영아는 *Bifidobacterium* 종 외에 *Bacteroides* 종과 *Clostridium* 종도 우점되는 것으로 보고되었다(Bezirtzoglou *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2014; Pannaraj *et al.*, 2017). 모유에는 영아들의 성장과 발달에 필수적인 요소들이 함유되어 있어서 가장 이상적인 영양분이다. 모유는 면역력이 부족한 영아들에게 면역글로불린 A, 라이소자임, 락토페린과 같은 다양한 면역물질을 공급해줌으로써 면역력과 저항력을 증가시키는 것으로 알려졌다(Minami *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2017; Turin *et al.*, 2017).

장내 미생물군집을 분석하기 위해 분변시료에서 미생물을 배양하여 순수분리 후 동정을 진행하는 배양법은 다양한 군집을 확인할 수 없으며 시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 따라서 모든 미생물의 정보가 가장 잘 보존되고 있는 16S rRNA 유전자를 대상으로 다양한 분자생물학적 분석방법들이 수행되고 있다. 특히 최근 미생물군집을 확인하기 위한 방법으로 기존의 sanger 방법에서 cloning 단계를 거치지 않고 빠르게 분석이 가능한 차세대 염기서열 분석법(NGS)이 개발되면서 미생물 군집의 염기서열을 결정하여 분석하는 연구가 수행되고 있다. 따라서 이 연구에서는 DNA를 기반으로 시료 전체 유전체 정보인 메타게놈 분석법을 이용하여 모유섭취그룹과 분유섭취그룹의 장내 미생물군집을 분석하고 그 특성을 조사하였다.

영아의 분변 수집 및 genomic DNA의 추출은 한국의과학연

구원에서 제작한 장내세균분석키트를 가지고 남양유업 중앙연구소에서 모유 수유군 20개와 분유 수유군 60개의 분변 시료를 수집하였다. 분변 내의 세균의 genomic DNA를 추출하기 위해서 QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN)을 사용하였으며 제조사의 방법에 따라 DNA를 추출하였다.

라이브러리 제작은 Illumina에서 제공하는 16S metagenomic library prep guide sequencing을 참조하여 진행하였다. rRNA의 V4 region을 증폭하기 위하여 프라이머(forward: 5'-TCGT CGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGYCA GCMGCCGCGGTAA-3', reverse: 5'-GTCTCGTGGGCTC GGAGATGTGTATAAGAGACAGGGACTACNVGGGT WTCTAAT)를 MacroGen에 의뢰하여 제작하였다. PCR 반응 조건은 94°C에서 pre-denaturation 3분, denaturation 30초, 55°C에서 annealing 30초, 72°C에서 extension 30초 반응을 25회 반복하였으며, 72°C에서 5분간 extension 반응을 수행하였다. 증폭산물에 대한 clean-up 과정은 Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter)를 이용하여 진행하였으며 인덱스를 붙이는 2차 PCR을 통해 라이브러리를 제작하였다. 라이브러리는 Qubit4.0 (Thermo Fisher Scientific)을 통해 정량하였으며 사이즈는 Qsep1 (Bioptic)을 이용하여 측정하였다. 제작된 라이브러리의 농도를 20 pmol로 맞추고 pooling을 통해 mixture를 만든 뒤 카트리지에 20 µl의 시료를 넣고 Iseq100 (Illumina) 장비를 통해 분석이 진행되었다.

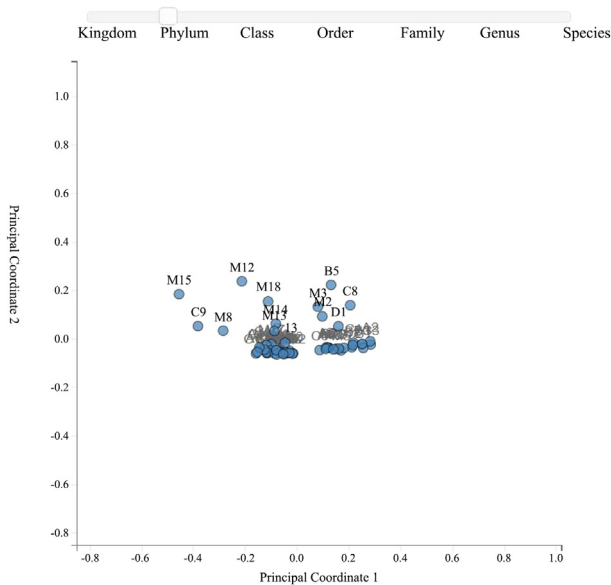
Iseq100 장비에서 만들어진 FASTQ 파일은 EZBioCloud (ChunLab) 플랫폼과 BaseSpace (Illumina) 플랫폼을 통해 metagenome을 분석하였다. Shannon diversity index, Simpson index를 통해 시료 내 미생물 군집의 다양성과 균등도를 분석하고 beta diversity를 통해 시료간의 상관관계를 확인하였다.

모유그룹(BIG)과 분유 섭취에 따른 3그룹(FIG-A, FIG-B, FIG-C)에 대한 metagenome 분석은 차세대 염기서열분석을 통해 진행하였다. 모유그룹(BIG)은 분유를 섭취하지 않고 모유만 섭취한 유아를 대상으로 진행하였으며 분유그룹은 시중에서 판매되고 있는 분유 3종을 선정하여 각 제품을 섭취하고 있는 유아들을 대상으로 진행하였다. 종 다양성의 지표인 Shannon diversity index에 대한 분석 결과 BIG, FIG-A, FIG-B 및 FIG-C에서 각각 4.37, 4.45, 4.49 및 4.41로 확인되었다. 특히 모유그룹에 비해 분유그룹의 Shannon Diversity Index가 높기 때문에 분유그룹에 다양한 미생물이 존재하는 것으로 판단된다.

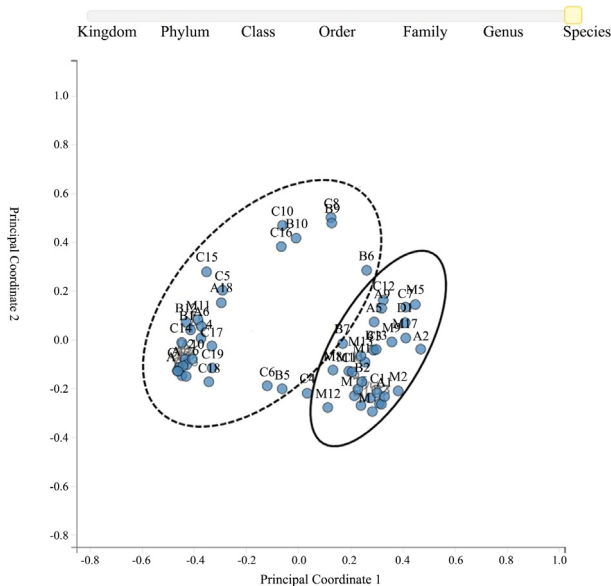
Principal Coordinate Analysis (PCoA) 분석 결과 문(phylum) 수준에서는 모유그룹과 분유그룹간에 클러스터별로 분리되지 않고 모여있는 패턴을 보였다(Fig. 1). 그러나 세부 수준은

로 내려갈수록 시료 별 차이가 나타났으며 가장 낮은 수준인 종(species) 수준에서는 클러스터가 분리되는 것을 확인하였다. 특히 BIG와 FIG-A의 클러스터가 모이면서 두 그룹간의 유사도가 높은 것을 확인하였으며 FIG-B와 FIG-C가 클러스터된 결과를 볼 수 있었다(Fig. 2).

미생물군집 분석은 16S rRNA 염기서열 분석결과를 가지고 진행하였으며 80개의 시료를 그룹별로 분류한 후 평균값을 통



**Fig. 1.** Weighted unifrac matrix based on principal coordinate analysis (PCoA) result of bacterial communities of phylum level.



**Fig. 2.** Weighted unifrac matrix based on bacterial communities of BIG, FIG-A (black line) and FIG-B, FIG-C (black dot line) by principal coordinate analysis (PCoA) of species level.

해 그룹간의 비교를 하였다. 각 그룹의 문(phylum) 수준에서 전체미생물 군집을 비교한 결과, 공통적으로 *Actinobacteria* 문이 우점을 차지하고 있었다(Fig. 3). 모유그룹에서 *Actinobacteria* 문이  $74.22 \pm 3.48\%$ 로 높은 비율을 차지하고 있었으며 분유그룹인 FIG-A, FIG-B 및 FIG-C는 각각  $73.46 \pm 4.12\%$ ,  $66.52 \pm 5.80\%$  및  $68.88 \pm 4.33\%$ 를 확인함으로써 분유나 모유 섭취 시에 모두 *Actinobacteria*가 우점인 것을 확인하였으며 선행 연구 결과(Turroni et al., 2012)에서는 영아의 장내에 88.5%가 존재한다는 것을 확인하였다. 그 다음으로 우점하는 *Proteobacteria* 문의 분포는 BIG ( $13.68 \pm 4.87\%$ ), FIG-A ( $11.00 \pm 3.67\%$ ), FIG-B ( $21.55 \pm 5.33\%$ ) 및 FIG-C ( $17.90 \pm 6.89\%$ )로 나타났으며 분유그룹B와C에서 더 많은 군집을 형성하고 있는 것이 관찰되었으며 특히 *Proteobacteria* 중에서 *Gammaproteobacteria*가 높은 비율로 존재하였다.

속(Genus) 수준에서도 미생물의 군집 조성이 문 수준과 결과와 유사한지 확인하였다(Fig. 4). 그 결과, *Actinobacteria* 문에 해당하는 *Bifidobacterium* 속이 대부분을 차지하였으며 전체 군집에서 *Bifidobacterium* 속의 분포가 각각 BIG ( $73.09 \pm 2.31\%$ ), FIG-A ( $72.25 \pm 4.93\%$ ), FIG-B ( $63.81 \pm 6.05\%$ ) 및 FIG-C ( $67.42 \pm 5.36\%$ )의 결과를 확인하였다. 영아의 장에는 *Bifidobacterium* 속이 우점을 차지하고 있는 결과를 관찰하였으며 *Bifidobacterium* 속에 대한 종별 비율을 확인한 결과 *Bifidobacterium longum*이 모든 그룹에서 우점을 차지하고 있었다. BIG와 FIG-A는 전체 군집의  $68.77 \pm 6.07\%$ 와  $66.85 \pm 4.99\%$ 의 결과가 나왔으며 FIG-B와 FIG-C는 각각  $58.94 \pm 6.20\%$ 와  $61.86 \pm 5.31\%$ 로 FIG-A보다 낮은 비율을 확인하였다. FIG-A의 *B. longum* 분포가 FIG-B와 FIG-C에 비해 높은 결과는 *Bifidobacterium* 속의 생장에 영향을 주는 분유성분이 관여한 것으로 판단된다.

일반적으로 모유에는 다양한 올리고당이 존재하며 모유를 섭취하는 유아는 모유의 올리고당 때문에 장내 미생물 군집에서 *B. longum* 분포가 매우 높다. 따라서 모유섭취 아동의 장내 균총을 구현하기 위하여 다양한 종류의 올리고당이 첨가된 분유의 섭취가 효과적이다. FIG-A 그룹에서 섭취한 분유는 유산균의 선택적 증식인자로 알려진 5-bifidus factor가 분유 내에 5.8% 포함되어 있었고 이 복합물은 *Bifidobacterium*의 선택적 증식이 우수하다고 알려져 있는 갈락토올리고당, 갈락토실락토스, 시너지올리고당, 비피도올리고, 장내균총개선소재와 같은 5가지의 프리바이오틱스로 구성되어 있었다. 갈락토올리고당과 갈락토실락토스는 모유 내 존재하는 올리고당으로 *Bifidobacterium* 속의 증식에 도움을 주는 것으로 알려져 있기 때문에 조제분유에 가장 많이 사용되는 프리바이오틱스

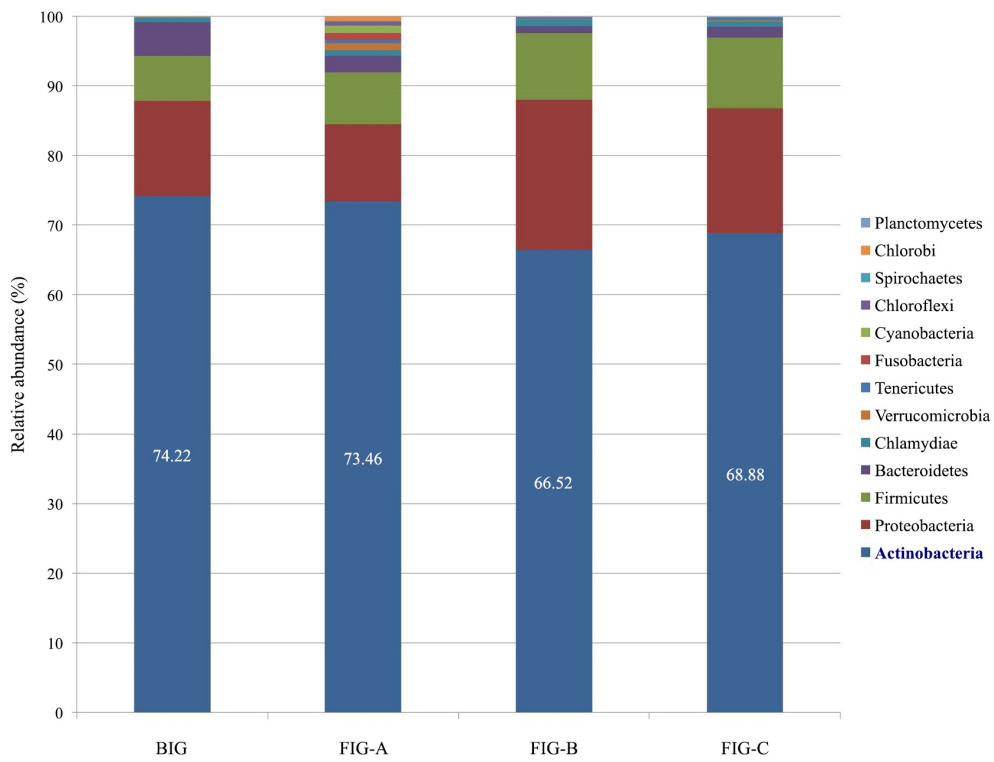


Fig. 3. Bacterial composition at the phylum level of BIG, FIG-A, FIG-B, and FIG-C.

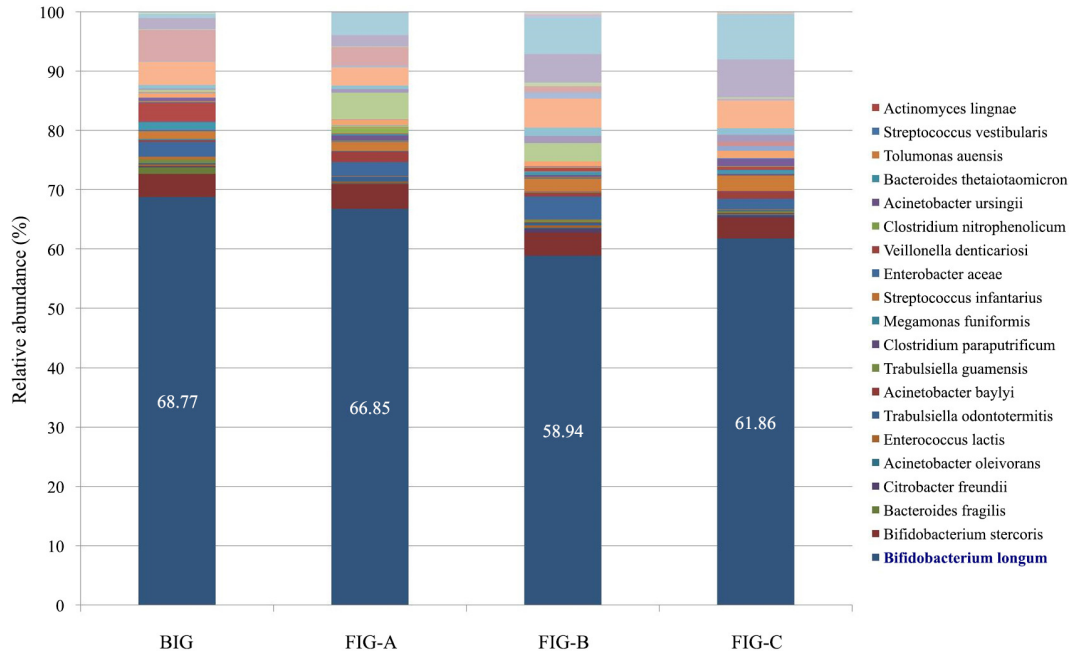


Fig. 4. Relative abundance profiles of individual subjects on each platform for species.

이며(Sumiyoshi *et al.*, 2004; Tzortzis *et al.*, 2005) 갈락토올리고당을 섭취한 마우스의 경우 *Salmonella enterica* serovar Typhimurium 감염을 감소시킨다는 결과와 병원성 *E. coli*가

상피세포에 부착되는 것을 억제시킨다는 결과가 있다(Shoaf *et al.*, 2006). 갈락토올리고당은 단쇄 올리고당으로 소화 단계 초기에서 분해되어, 시너지올리고당과 같은 장쇄 올리고당과

혼합되어 사용하여 장 전체에 유익균 증식에 도움을 준다 (Roberfroid, 2007). 비피도올리고는 모유를 섭취한 아기의 장에서 발견되는 *Bifidobacterium bifidum* 균주의 효소를 이용해 만든 프리바이오틱이며(Depeint et al., 2008), 쌀의 발효과정을 통해 생성된 장내균총개선표제 또한 5-Bifidus factor 복합물에 이용되었다(Lee et al., 2014). 이와 같은 5-Bifidus factor라는 유산균에 대한 증식인자가 우수한 프리바이오틱스를 혼합하여 사용하였기 때문에 모유를 섭취한 영아의 장내의 존재하는 *Bifidobacterium* 속의 균집과 유사하게 나타났을 것으로 판단된다.

## 적 요

장 내에 존재하는 microbiome은 생활환경, 나이와 섭취하는 음식물에 따라 변하게 된다. 본 논문에서는 모유를 섭취한 영아와 분유를 섭취한 영아들에 대한 장내미생물 군집의 변화를 비교하였다. 미생물의 군집변화를 차세대 염기서열 분석기법을 이용하여 분석하였으며 총 80개의 영아 분변을 통해 미생물 군집변화를 확인하였다. 모유그룹(BIG)과 분유그룹(FIG-A, FIG-B, FIG-C)간의 장내세균의 군집을 비교한 결과 BIG에서는 *Actinobacteria* 문이 전체 군집의  $74.22 \pm 3.48\%$ 로 우점을 차지하였다. 분유그룹의 *Actinobacteria* 문을 비교하였을 때 FIG-A는  $73.46 \pm 4.12\%$ 였지만 FIG-B와 FIG-C는  $66.52 \pm 5.80\%$ 와  $68.88 \pm 4.33\%$ 로 BIG와 FIG-A에 비해 낮은 비율을 보였다. 속(genus) 수준에서 살펴보면 *Bifidobacterium*이 전체 미생물군집에서 가장 높은 비율로 분포하고 있었으며 BIG가  $73.09 \pm 2.31\%$ 로 가장 높았고 FIG-A, FIG-B 및 FIG-C는 각각  $72.25 \pm 4.93\%$ ,  $63.81 \pm 6.05\%$  및  $67.42 \pm 5.36\%$ 를 차지하였다. *Bifidobacterium* 종의 경우 모든 그룹에서 *Bifidobacterium longum*이 우점을 차지하고 있었으며 BIG와 FIG-A가 전체 군집의  $68.77 \pm 6.07\%$ 와  $66.85 \pm 5.80\%$ 를 차지하였다. 이에 반해 FIG-B와 FIG-C는 각각  $58.94 \pm 6.20\%$ 와  $61.86 \pm 5.31\%$ 로 BIG와 FIG-A보다 낮은 비율로 분포하는 것을 분석하였다. FIG-A가 섭취한 분유는 *Bifidobacterium*의 선택적 증식이 우수하다고 알려진 갈락토올리고당, 갈락토실락토스, 시너지올리고당, 비피도올리고 및 장내균총개선표제를 혼합한 5-Bifidus factor 복합물이 포함되어 있다. 이와 같은 5-Bifidus factor라는 유산균에 대한 증식능이 우수한 프리바이오틱스를 혼합하였기 때문에 모유를 섭취한 영아의 장내에 존재하는 *Bifidobacterium* 속의 균집과 유사하게 나타난 것으로 판단된다.

## 감사의 말

샘플의 수집에 도움을 준 남양유업 중앙연구소에게 감사드립니다.

## References

- Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Chari RS, Sears MR, Becker AB, Scott JA, Kozyrskyj AL, and CHILD Study Investigators. 2013. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ* **185**, 385-394.
- Berstad A, Raa J, Midtvedt T, and Valeur J. 2016. Probiotic lactic acid bacteria—the fledgling cuckoos of the gut?. *Microb. Ecol. Health Dis.* **27**, 31557.
- Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, and Welling GW. 2011. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *Anaerobe* **17**, 478-482.
- Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, and Aagaard KM. 2017. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat. Med.* **23**, 314-326.
- Dawood MA, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S, El Basuini MF, Hossain MS, Nhu TH, Dossou S, and Moss AS. 2016. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Shellfish Immunol.* **49**, 275-285.
- Depeint F, Tzortzis G, Vulevic J, Anson K, and Gibson GR. 2008. Prebiotic evaluation of a novel galactooligosaccharide mixture produced by the enzymatic activity of *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171, in healthy humans: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled intervention study. *Am. J. Clin. Nutr.* **87**, 785-791.
- Dominguez-Bello MG, De Jesus-Laboy KM, Shen N, Cox LM, Amir A, Gonzalez A, Bokulich NA, Song SJ, Hoashi M, Rivera-Vinas JI, et al. 2016. Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nat. Med.* **22**, 250-253.
- Grice EA and Segre JA. 2012. The human microbiome: our second genome. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **13**, 151-170.
- Groer MW, Luciano AA, Dishaw LJ, Ashmeade TL, Miller E, and Gilbert JA. 2014. Development of the preterm infant gut microbiome: a research priority. *Microbiome* **2**, 38.
- Grönlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Grönroos T, Salminen S, and Isolauri E. 2007. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the *Bifidobacterium* microbiota in infants at risk of allergic

- disease. *Clin. Exp. Allergy* **37**, 1764–1772.
- Johnson CL and Versalovic J.** 2012. The human microbiome and its potential importance to pediatrics. *Pediatrics* **129**, 950–960.
- Kumar S, Pandey RK, Negi H, Sharma P, Pandey P, Pandey Y, and Kumar K.** 2018. Role of probiotics in health improvement: Adaptations, advantages and their uses. *Asian J. Agric. Food Sci.* **2**, 1–15.
- Lee JK, Cho HR, Kim KY, Lim JM, Jung GW, Sohn JH, and Choi JS.** 2014. The growth-stimulating effects of fermented rice extract (FRE) on lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. *Food Sci. Technol. Res.* **20**, 479–483.
- Li C, Liu Y, Jiang Y, Xu N, and Lei J.** 2017. Immunomodulatory constituents of human breast milk and immunity from bronchiolitis. *Ital. J. Pediatr.* **43**, 8.
- Minami J, Odamaki T, Hashikura N, Abe F, and Xiao JZ.** 2016. Lysozyme in breast milk is a selection factor for bifidobacterial colonisation in the infant intestine. *Benef. Microbes* **7**, 53–60.
- Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, and Dominguez-Bell, MG.** 2015. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol. Med.* **21**, 109–117.
- Pannaraj PS, Li F, Cerini C, Bender JM, Yang S, Rollie A, Zabih S, Lincez PJ, Bittinger K, Bailey A, et al.** 2017. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *JAMA Pediatr.* **171**, 647–654.
- Roberfroid MB.** 2007. Inulin-type fructans: Functional food ingredients. *J. Nutr.* **137**, 2493–2502.
- Shoaf K, Mulvey GL, Armstrong GD, and Hutkins RW.** 2006. Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to tissue culture cells. *Infect. Immun.* **74**, 6920–6928.
- Stavropoulou E, Tsigalou C, and Bezirtzoglou E.** 2018. Functions of the human intestinal microbiota in relation to functional foods. *Erciyes Med. J.* **40**, 188–193.
- Sumiyoshi W, Urashima T, Nakamura T, Arai I, Nagasawa T, Saito T, Tsumura N, Wang B, Brand-Miller J, Watanabe Y, et al.** 2004. Galactosyllactoses in the milk of Japanese women: changes in concentration during the course of lactation. *J. Appl. Glycosci.* **51**, 341–344.
- Turin CG, Zea-Vera A, Rueda MS, Mercado E, Carcamo CP, Zegarra J, Bellomo S, Cam L, Castaneda A, Ochoa TJ, and NEOLACTO Research Group.** 2017. Lactoferrin concentration in breast milk of mothers of low-birth-weight newborns. *J. Perinatol.* **37**, 507–512.
- Turroni F, Peano C, Pass DA, Foroni E, Severgnini M, Claesson MJ, Kerr C, Hourihane J, Murray D, Fuligni F, et al.** 2012. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS One* **7**, e36957.
- Tzortzis G, Goulas AK, Gee JM, and Gibson GR.** 2005. A novel galactooligosaccharide mixture increases the bifidobacterial population numbers in a continuous *in vitro* fermentation system and in the proximal colonic contents of pigs *in vivo*. *J. Nutr.* **135**, 1726–1731.
- Vazquez-Gutierrez P, de Wouters T, Werder J, Chassard C, and Lacroix C.** 2016. High iron-sequestering bifidobacteria inhibit enteropathogen growth and adhesion to intestinal epithelial cells *in vitro*. *Front. Microbiol.* **7**, 1480.