

## GRUPO PROBILAC: La microbiota comensal en el periodo perinatal y su aplicación en alimentación infantil

Leonides Fernández Álvarez, Esther A. Jiménez Quintana, Irene Espinosa Martos, Virginia Martín Merino, Nivia Cárdenas Cárdenas, Susana Manzano Jiménez, Lorena Ruíz García, Diana Escuder Vieco, Rebeca Arroyo Rodríguez, Javier de Andrés Leo, Cristina García Carral, Irma Castro Navarro, Marina Aparicio Marlasca, Juan Miguel Rodríguez Gómez



Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos – Facultad de Veterinaria – Universidad Complutense de Madrid. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid



**Grupo PROBILAC:** una compleja "macrobiota". Esther Jiménez, Irma Castro, Rebeca Arroyo, Susana Manzano, Javier de Andrés, Nivia Cárdenas, Juan Miguel Rodríguez, Diana Escuder, Virginia Martín, Cristina García, Irene Espinosa, Lorena Ruiz, Leonides Fernández y Marina Aparicio (de arriba a abajo y de izquierda a derecha).

PROBILAC es un grupo de investigación consolidado (UCM-920080) que inició su andadura en el año 1998 con el objetivo de desarrollar nuevos probióticos. En estrecha relación con este objetivo surgió la necesidad de abordar el estudio de la microbiota asociada a diversas mucosas y su relación con el estado de salud, centrándonos especialmente en el binomio madre-hijo en la etapa perinatal. El trabajo desarrollado en estos años ha sido posible gracias a la incorporación permanente o temporal de numerosos investigadores (pre- y posdoctorales, nacionales y extranjeros) con formación en distintas disciplinas como Veterinaria, Ciencia y Tecnología de los Alimen-

tos, Farmacia, Química, Medicina o Nutrición Humana, así como de diversos técnicos de Formación Profesional (Grado Superior). Por otro lado, la participación en diversas redes (RedBAL), proyectos multidisciplinares (FUN-C-FOOD) e internacionales (INSPIRE) y la colaboración con numerosos grupos de investigación (nacionales e internacionales), centros sanitarios y empresas nos ha permitido abordar problemas reales con un enfoque multidisciplinar y con resultados satisfactorios. Nada de todo esto habría sido posible sin la financiación, tanto nacional como internacional, obtenida mediante fondos públicos y contratos con la industria.

### LA LECHE MATERNA CONTIENE UNA COMPLEJA MICROBIOTA

Uno de los hallazgos iniciales más relevantes de PROBILAC fue la descripción detallada de la composición microbiológica de la leche materna en condiciones fisiológicas. Además, se describió la existencia de una ruta endógena (ruta enteromamaria) por la cual ciertas bacterias son capaces de atravesar el epitelio intestinal y llegar a la glándula mamaria empleando como sistema de transporte el sistema inmunológico asociado a la mucosa intestinal (Martín et al. 2003). La novedad de estos hallazgos, que no estuvieron exentos de

controversia, abrió una amplia e interesante línea de investigación no sólo para nuestro grupo sino también para muchos otros.

La caracterización de la microbiota comensal de la leche materna se abordó inicialmente utilizando técnicas clásicas de cultivo, mostrando que *Staphylococcus* y *Streptococcus* son los géneros más frecuentes y abundantes; también se encuentran, en menor cantidad, bacterias lácticas y bifidobacterias. La aplicación de técnicas independientes de cultivo, incluyendo técnicas metagenómicas, confirmó estos resultados y reveló una mayor complejidad microbiológica, incluyendo la presencia de secuencias genómicas de especies anaerobias estrictas, arqueas, hongos, virus y protozoos (Martín et al. 2009; Jiménez et al. 2015). También hemos descrito la existencia de una microbiota específica en la leche de otras especies (perras, gatas, ciervas, cerdas...).

En un porcentaje significativo de mujeres lactantes la microbiota de la glándula mamaria se altera, siendo los principales agentes etiológicos implicados estafilococos, estreptococos y corinebacterias. Este cambio determina una inflamación de la glándula mamaria (mastitis), caracterizada por distintos síntomas locales y/o sistémicos y representa la primera causa médica de destete precoz (Contreras y Rodríguez 2011; Fernández et al. 2013; Jiménez et al. 2015).

## LA LECHE MATERNA ES UNA NUEVA FUENTE DE PROBIÓTICOS

El estudio de algunas bacterias lácticas aisladas de la leche materna reveló que tenían un gran potencial probiótico. En concreto, en varios ensayos clínicos hemos comprobado que la administración de ciertas cepas a mujeres que padecían mastitis es una estrategia altamente efectiva para su tratamiento durante la lactancia o su prevención durante el embarazo. Este enfoque es una alternativa interesante al tratamiento con antibióticos (Arroyo et al. 2010; Fernández et al. 2016; Jiménez et al. 2010; Langa et al. 2012). La eficacia de la administración de probióticos a mujeres lactantes con mastitis se ha puesto de manifiesto en un reciente estudio metabólico de la orina, cuyos resultados indican

la recuperación del epitelio de la glándula mamaria. Además, hemos encontrado interesantes biomarcadores de la efectividad de este tratamiento probiótico (Vázquez-Fresno et al. 2014; Espinosa-Martos et al. 2016).

## IMPORTANCIA DE LA MICROBIOTA DE LA LECHE MATERNA EN LA COLONIZACIÓN INTESTINAL INFANTIL

La esterilidad del intestino fetal ha sido otro paradigma derribado por los resultados obtenidos por nuestro grupo que han puesto de manifiesto que existe una microbiota prenatal, que cambia tras el nacimiento y cuya composición depende de distintos factores (prematuridad, tipo de parto, administración de antibióticos, alimentación, ambiente) (Moles et al. 2013). La administración de ciertas cepas aisladas de leche materna a niños prematuros también ha dado resultados muy prometedores ya que provoca un cambio muy positivo en la microbiota intestinal de estos niños (Moles et al. 2015).

## DE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA

A lo largo de estos años, el grupo ha participado en el desarrollo de 7 patentes, que están siendo explotadas por distintas entidades: Nutricia/Danone [Utrech/Singapur], Casen [España]/Casen Recordati [Italia/EEUU]; Bionaturis [España]; Lactalis Puleva/Biosearch Life [España], Angelini Farma [España], Purimedic [Australia], Affinity Petcare [España]; Alpina [Colombia]; HiPP [Alemania].

La experiencia adquirida por PROBILAC impulsó la creación de una empresa de base tecnológica asociada a la UCM: Probisearch [www.probisearch.com](http://www.probisearch.com). La empresa centra sus servicios en la selección y caracterización de probióticos, incluyendo la realización de ensayos clínicos, y en el estudio de microbiotas complejas empleando distintas técnicas ómicas. Además de ser el primer centro de diagnóstico especializado en el análisis de la leche humana.

## PUBLICACIONES RELEVANTES

Espinosa-Martos I, Jiménez E, de Andrés J, Rodríguez-Alcalá LM, Tavárez S, Manzano S, Fer-

nández L, Alonso E, Fontecha J, Rodríguez JM. (2016) Milk and blood biomarkers associated to the clinical efficacy of a probiotic for the treatment of infectious mastitis. *Benef Microbes* 7: 305-18.

Fernández L, Cárdenas N, Arroyo R, Manzano S, Jiménez E, Martín V, Rodríguez JM. (2016) Prevention of infectious mastitis by oral administration of *Lactobacillus salivarius* PS2 during late pregnancy. *Clin Infect Dis* 62: 568-73.

Jiménez E, de Andrés J, Manrique M, Pareja-Tobes P, Tobes R, Martínez-Blanch JF, Codoñer FM, Ramón D, Fernández L, Rodríguez JM. (2015) Metagenomic analysis of milk of healthy and mastitis-suffering women. *J Hum Lact* 31: 406-15.

Moles L, Escribano E, de Andrés J, Montes MT, Rodríguez JM, Jiménez E, Sáenz de Pipaón M, Espinosa-Martos I. (2015) Administration of *Bifidobacterium breve* PS12929 and *Lactobacillus salivarius* PS12934, two strains isolated from human milk, to very low and extremely low birth weight preterm infants: a pilot study. *J Immunol Res* 2015: 538171.

Vázquez-Fresno R, Llorach R, Marinic J, Tulipán S, Espinosa I, Jiménez E, Rodríguez JM, Andrés-Lacueva C. (2014) Urinary metabolic biomarkers in women with mastitis after consumption of a probiotic. A <sup>1</sup>H-NMR-based metabolomic approach. *Pharmacol Res* 87:160-5.

Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado-Barragán A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. (2013) The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res* 69: 1-10.

Moles L, Gómez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S, De Vos W, Fernández L, Rodríguez JM, Jiménez E. (2013) Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. *PLoS One* 9: e66986.

Langa S, Maldonado-Barragán A, Delgado S, Martín R, Martín V, Jiménez E, Ruiz-Barba JL, Mayo B, Connor RI, Suárez JE, Rodríguez JM. (2012) Characterization of *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a strain isolated from human milk: from genotype to phenotype. *Appl Microbiol Biotechnol* 94: 1279-87.

Contreras GA, Rodríguez JM. (2011) Mastitis, comparative etiology and epidemiology. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 16: 339-56.

Jiménez E, Martín R, Maldonado A, Martín V, Gómez de Segura A, Fernández L, Rodríguez JM. (2010) Complete genome sequence of *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a probiotic strain isolated from human milk and infant feces. *J Bact* 192: 5266-7.

Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. (2010) Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of lactobacilli isolated from breast milk. *Clin Infect Dis* 50: 1551-8.

Martín R, Jimenez E, Heilig H, Fernandez L, Marin M, Zoetendal EG, Rodriguez JM. (2009) Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Appl Environ Microbiol* 75: 965-9.

Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, Fernández L y Rodríguez JM. (2003) Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 143: 754-8.