



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 243 252**

⑤① Int. Cl.7: **A23C 9/20**
A23C 11/04

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **00921862 .9**

⑧⑥ Fecha de presentación : **07.04.2000**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **1168929**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **09.01.2002**

⑤④ Título: **Reforzante en polvo para leche humana.**

③⑩ Prioridad: **09.04.1999 US 128575 P**

④⑤ Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2005

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2005

⑦③ Titular/es: **Abbott Laboratories**
Chad 0377/AP6D-2, 100 Abbott Park Road
Abbott Park, Illinois 60064-3500, US

⑦② Inventor/es: **Barrett-Reis, Bridget, M.;**
Reynolds, Patricia, A.;
Montalto, Michael, B. y
O'Connor, Deborah, L.

⑦④ Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 243 252 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Reforzante en polvo para leche humana.

5 La presente invención se refiere a un reforzante en polvo de la leche humana. El reforzante se utiliza para suministrar nutrición a niños pretérmino, añadiendo el reforzante en polvo a leche humana, y administrando la leche humana reforzada a un niño prematuro. El reforzante se utiliza para favorecer el crecimiento de un niño prematuro, administrando la leche humana reforzada a un niño prematuro. La estabilidad física de la leche humana es intensificada añadiendo un emulsificante a la leche humana.

10

Antecedentes

15 La leche humana ha sido reconocida durante mucho tiempo como el alimento ideal para niños nacido a término, debido a su composición nutricional y beneficios inmunológicos. Por estas razones, la leche humana madura de donante fue considerada un alimento conveniente para niños pretérmino, con bajo peso al nacer (BPN), en unidades de cuidado intensivo para recién nacidos prematuros (UCIRN). Sin embargo, se descubrió que la leche madura de donante no proporciona suficiente de algunos nutrientes para satisfacer rápidamente las necesidades de niños BPN en crecimiento. También existían asuntos acerca de la posible contaminación bacteriana, viral y otras de la leche del donante. Por estas razones, la leche de la propia madre del niño prematuro ha llegado a ser el alimento preferido en las modernas UCIRN.

20

25 Los niños pretérmino son alimentados frecuentemente con una fórmula infantil comercial diseñada específicamente para estos niños, o con la leche de su propia madre. La investigación está todavía en marcha por lo que respecta a las necesidades nutricionales de estos niños. Sin embargo, numerosos estudios han documentado que la leche pretérmino y la leche de término depositada no suplementadas proporcionan cantidades inadecuadas de diversos nutrientes para satisfacer las necesidades de estos niños (Davies, D. P., "Adequacy of expressed breast milk for early growth of preterm infants". ARCHIVES OF DISEASE IN CHILDHOOD, 52, págs. 296-301, 1997). Las necesidades energéticas estimadas del niño BPN en crecimiento son, aproximadamente, de 120 cal/kg/día. Las necesidades energéticas exactas varían entre los niños debido a las diferencias en la actividad, el gasto energético basal, la eficacia de la absorción de los nutrientes, la enfermedad y la capacidad para utilizar energía para la síntesis de tejidos. A 120 cal/kg/día, aproximadamente el 50% de la ingesta energética de un niño BPN se gasta en las necesidades metabólicas basales, la actividad y el mantenimiento de la temperatura corporal. Aproximadamente el 12'5% se utiliza para sintetizar nuevo tejido, y se almacena un 25%. El 12'5% restante se excreta. Se estima que la leche humana pretérmino madura contiene alrededor de 67 cal/100 ml. Para lograr una ingesta de 120 cal/kg/día, un niño BPN necesita consumir unos 180 ml/kg/día de leche pretérmino. Este volumen de alimento no es a menudo bien tolerado. Típicamente, se alimentan volúmenes de 100 a 150 ml/kg/día. Por lo tanto, para conseguir una ingesta de 120 cal/kg/día en un volumen aceptable, se tiene que complementar el contenido calórico de la leche pretérmino.

30

35 Adicionalmente, en relación con estimaciones de las necesidades de los niños, la leche humana pretérmino está carente de calcio, fósforo y proteína. Cuando la leche humana pretérmino se refuerza con proteína y energía, el crecimiento del niño BPN se aproxima a lo que ocurre en el útero. Adicionalmente, cuando se refuerza con calcio y fósforo, existe un aumento del incremento de estos minerales y una mejora de la densidad ósea. De este modo, se ha recomendado que, cuando los niños pretérmino sean alimentados con leche humana pretérmino, la leche humana sea reforzada para satisfacer mejor las necesidades nutricionales del niño prematuro.

40

45 La Patente U.S. N° 5.013.569 revela una formulación para alimento infantil, que se aproxima a la leche humana en composición de ácidos grasos, constando de una mezcla de ácido (todo-Z)-4,7,10,13,16,19-docosahexanoico y ácido (todo-Z)-5,8,11,14,17-eicosapentanoico en una proporción de 1:1 a 2:1, una fuente de carbohidrato, y una fuente de proteína. Toenz y col., Monatsschrift fuer Kinderheilkunde, vol. 134, n° 12, 1986, páginas 885-887, revelan leche materna para niños pretérmino, reforzada con energía, proteínas y minerales. Bhatia J. y col., American Journal of Diseases of Children, vol. 142, n° 4, 1988, páginas 445-447, revelan un estudio diseñado para determinar la entrega al niño de energía, calcio, fósforo, cobre, magnesio y zinc, a partir de leche de una madre de un niño pretérmino, quien fue complementada con reforzantes para leche humana disponibles comercialmente.

50

55 Las formas líquidas y en polvo de reforzantes para leche pretérmino han sido comercializadas en el país, como respuesta a la necesidad arriba identificada. En la Tabla 1 se muestra la composición energética y de nutrientes para un típico suplemento diario de reforzantes en polvo y líquidos, comercialmente disponibles, para leche humana.

60

65

ES 2 243 252 T3

TABLA 1

Composición Energética y de Nutrientes de Reforzantes para Leche Humana

Nutrientes	Enfamil® Human Milk Fortifier Polvo (3'8 g)	Similac Natural Care® Líquido (100 ml)
Energía, kcal	14	81
Proteína, g	0'7	2'2
fuelle	concentrado de proteína de suero, caseinato sódico	concentrado de proteína de suero, leche desnatada
Grasa, g	< 0'1	4'4
fuelle	no añadida ninguna	TCM, soja, coco
Carbohidrato, g	2'7	8'6
fuelle	sólidos de jarabe de maíz	sólidos de jarabe de maíz, lactosa
Minerales		
calcio, mg	90	171
fósforo, mg	45	94
Magnesio, mg	1	10
zinc, mg	0'71	1'22
manganeso, mcg	4'7	9'8
cobre, mg	0'06	0'2
sodio, mg	7	35
potasio, mg	15'6	105
cloruro, mg	17'7	66
hierro, mg	no añadido ninguno	0'3
selenio, mcg	no añadido ninguno	1'46
Vitaminas		
A, UI	950	1.008
D, UI	210	122
E, UI	4'6	3'2
K, mcg	4'4	10
Tiamina, mg	0'15	0'2
Riboflavina, mg	0'21	0'5
B6, mg	0'11	0'2
B12, mcg	0'18	0'45
Niacina, mg	3	4
Ácido fólico, mcg	25	30
Ácido pantoténico, mg	0'73	1'54
Biotina, mcg	2'7	30
C, mg	11'6	30
Enfamil® Human Milk Fortifier (Mead Jonson Nutritionals, Evansville, Ind.) Los valores están declarados en la etiqueta, para 4 paquetes que son añadidos a 100 ml de leche materna.		
Similac Natural Care® (Ross Products Division of Abbott Laboratories, Chicago, IL) Los valores están declarados en la etiqueta para 100 ml.		

El Similac Natural Care® y el Enfamil® Human Milk Fortifier son reforzantes para leche humana, disponibles comercialmente. Los reforzantes se diferencian con respecto a su forma, fuente de ingredientes y composición energética y de nutrientes. En las UCIRN existe la necesidad de ambos reforzantes líquidos y en polvo para leche humana. Los productos en polvo son ventajosos por minimizar la dilución de la leche materna. Por ejemplo, no es conveniente la dilución de la leche materna cuando una mamá sea capaz de producir y bombear suficiente leche para satisfacer las necesidades de volumen de su niño. Sin embargo, si el suministro de la mamá es limitado, se puede utilizar un reforzante líquido para alargar su suministro de leche humana. El Similac Natural Care® está diseñado para ser añadido a leche pretérmino en una proporción uno a uno, o alimentado alternativamente con leche humana que satisfaga una necesidad en la UCIRN.

Generalmente, los niños prematuros permanecen en la UCIRN durante varias semanas después de que su madre haya salido del hospital. Estos niños chiquitines pueden ser mantenidos fácilmente en la palma de una mano adulta.

ES 2 243 252 T3

Por lo general, son colocados en incubadoras especiales, están en respiradores para ayudarles en su respiración, tienen varios catéteres implantados para administración y/o extracción de muestras de fluidos, y están intubados para su alimentación por tubo.

5 El método de alimentación entérica elegido para cada niño está basado en la edad gestacional, peso al nacer, estado clínico y experiencia del personal de enfermería del hospital. Las decisiones de la alimentación específica que son hechas por el médico de la clínica incluyen la edad para iniciar la alimentación, la vía de entrega de la alimentación, la frecuencia de alimentación, la potencia de la alimentación, y la velocidad del progreso. La vía de administración entérica está determinada por la capacidad del niño para coordinar el mamar, el tragar, y el respirar, los
10 cuales aparecen a, aproximadamente, las 32 a 34 semanas de gestación. Los niños pretérmino de esta edad gestacional, que son despabilados y vigorosos, pueden ser alimentados por tetilla. Los niños que sean menos maduros, débiles, o críticamente enfermos requieren alimentación por tubo para evitar el riesgo de aspiración y conservar energía. Las alimentaciones nasogástricas y orogástricas, las alimentaciones por tubo más comúnmente utilizadas en la unidad de cuidado intensivo neonatal, se pueden realizar en bolo o infusiones continuas de leche humana reforzada. Los niños
15 que reciban alimentaciones nasogástricas u orogástricas pueden ser alimentados con un programa de bolo intermitente o continuo. Las alimentaciones intermitentes cada 2 a 3 horas simulan el modelo de alimentación que el niño tendrá cuando progrese a la alimentación con biberón o alimentación a pecho. Las alimentaciones continuas pueden ser mejor toleradas por niños muy pequeños, niños que previamente no han tolerado las alimentaciones en bolo y niños cuya mala absorción clínicamente significativa se desarrolla con alimentaciones en bolo. Sin embargo, la entrega reducida de nutrientes es un problema asociado con la alimentación continua. La grasa de la leche humana tiende a adherirse a las superficies del tubo de alimentación y reducir la densidad energética. Asimismo, la pérdida de nutrientes por los reforzantes utilizados para complementar la leche humana aumenta cuando se dan en alimentación continua.

25 Para continuar alimentando a los niños con la leche de su propia madre, después de que su madre sea dada de alta en el hospital, la madre tiene que extraer leche en casa, en unos recipientes adecuados, almacenar la leche en el frigorífico o congelar y transportar la leche extraída hacia la UCIRN. Una vez en la UCIRN, la leche es almacenada a temperaturas de frigorífico o congelador dependiendo del volumen de leche necesario para alimentar ese día. Típicamente, después de ser extraída, se refrigera la cantidad de leche que será alimentada en 24 horas. Se congela la cantidad de leche extraída extra. Por consiguiente, la leche extraída puede ser sometida a varias condiciones de almacenaje diferentes
30 antes de la preparación como alimento diario.

El reforzamiento de la leche humana es utilizado, en general, para todos los niños que necesitan alimentación por tubo de la leche humana, y para algunos niños que requieran restricción de líquidos. Los protocolos típicos de alimentación para niños prematuros (<1.500 g) incluyen la adición de reforzante una vez que el niño esté recibiendo
35 leche humana sin reforzar, a aproximadamente 100 ml/kg/día. El reforzante se añade inicialmente a la mitad de la dosis. Por ejemplo, a 100 ml de leche materna se añade dos paquetes de 0'96 g de Enfamil® Human Milk Fortifier. Si el niño tolera la leche reforzada durante 24 horas, se aumenta la dosis del reforzante hasta la dosis total. En el caso del ejemplo anterior, se aumenta el reforzante a cuatro paquetes de 0'96 g en 100 ml de leche materna.

40 Típicamente, la cantidad de leche humana preparada está basada en la cantidad de leche necesaria para dar al niño un suministro de 24 horas. Por ejemplo, un niño de 1.500 g sería alimentado con 150 ml de leche por día. Si se utiliza leche congelada, se pone la leche congelada en un baño de agua caliente hasta que se descongele completamente. Se da atención especial a mezclar con los reforzantes. Se necesita un mezclado suave para evitar la rotura del glóbulo de grasa de la leche, lo que puede aumentar la adherencia de la grasa de la leche a las paredes de los recipientes de alimentación,
45 y producir una pérdida importante de grasa (energía). La cantidad recetada de leche reforzada es preparada en jeringas y etiquetada con una identificación. Cuando se termina la preparación de la leche, las alimentaciones repartidas en partes iguales, y etiquetadas, son distribuidas a los cuartos de los niños y puestas en frigoríficos para su fácil acceso por el personal de enfermería. Típicamente, antes de la alimentación se calienta la leche reforzada refrigerada. Por ejemplo, la leche reforzada es calentada en una batería de incubadores de laboratorio de calor seco, dentro de un intervalo de 35-
50 45°C, durante un máximo de 15 minutos. Esto conduce la temperatura de la leche reforzada a la temperatura ambiente. La leche reforzada puede ser administrada al niño como alimentación en bolo o mediante una bomba de jeringa para infusión para alimentación continua. Si se utiliza una bomba para infusión, la punta de la jeringa es posicionada vertical para permitir una infusión continua de grasa, y la jeringa se une directamente al tubo de alimentación para disminuir el área superficial potencial a la que se puedan adherir la grasa y los componentes inmunológicos. La principal ventaja del reforzante es polvo es que hay una mínima dilución de la leche humana. Actualmente existe únicamente un reforzante
55 en polvo para leche humana, disponible en el mercado del país (Enfamil® Human Milk Fortifier). Se añaden cuatro paquetes de Enfamil® Human Milk Fortifier en polvo (0'96 g de polvo/paquete) a 100 ml de leche pretérmino. Un estudio en niños pretérmino recibiendo este reforzante en polvo demostró una escasa absorción de la grasa (Schanler, "Suitability of human milk for the low-birth weight infant", CLINICS IN PERINATOLOGY, 22, págs. 207-222, 1995).
60 La escasa absorción de grasa afecta negativamente al crecimiento en estos niños prematuros. Además, los informes de las UCIRN describieron un residuo que se adhería a las paredes del recipiente para reconstitución cuando se añadía a la leche humana el reforzante en polvo disponible comercialmente, y existió la preocupación de que los niños no estaban recibiendo realmente todos los nutrientes en la leche reforzada.

65 Existe la necesidad de un reforzante en polvo para leche humana que sea bien tolerado por los niños pretérmino, y que demuestre una buena absorción de la grasa para proporcionar la mucha energía necesaria para el niño pretérmino. Adicionalmente, existe la necesidad de un reforzante en polvo para leche humana que se reconstituya bien en leche humana, a fin de que todos los nutrientes sean realmente entregados al niño pretérmino. Además, existe la necesidad

de un método para prevenir el rompimiento de la emulsión de la leche humana, y que origine que la grasa se adhiera a la jeringa y al tubo de alimentación, de ese modo infradistribuyendo muchas calorías energéticas necesarias.

5 La presente invención es un reforzante en polvo para leche humana que favorece la estabilidad física de la mezcla de leche humana reforzada. Además, el reforzante en polvo para leche humana de la presente invención es bien tolerado, y maximiza los beneficios para la salud de la leche humana mientras se estudia la variabilidad de la leche humana como única fuente de energía, proteína, calcio, fósforo, sodio y otros micronutrientes.

Sumario de la invención

10

Con respecto a los cálculos de las necesidades de los niños con bajo peso al nacer (BPN), la leche pretérmino está carente de calcio, fósforo, energía y proteína. Cuando la leche humana pretérmino es reforzada con proteína y energía, el crecimiento del niño BPN se aproxima a lo que ocurre en el útero. Adicionalmente, cuando se refuerza con calcio y fósforo, existe un aumento del incremento de estos minerales y una mejora de la densidad ósea. De este modo, se ha
15 recomendado que, cuando los niños pretérmino sean alimentados con leche humana pretérmino, la leche humana sea reforzada para satisfacer mejor las necesidades nutricionales del niño pretérmino.

20

El reforzante en polvo de la presente invención mejora el reforzante en polvo de la técnica anterior, proporcionando cantidades superiores de proteína y grasa en el reforzante en polvo, mejorando de ese modo las pautas de crecimiento de niños prematuros cuando se comparan con niños alimentados con reforzante en polvo de la técnica anterior. Los problemas de precipitación de proteína del reforzante en polvo de la técnica anterior también han sido estudiados con éxito mediante la adición de calcio insoluble que, sorprendentemente, no afectó negativamente al desarrollo óseo de estos niños prematuros. Además, la adición de una pequeña cantidad de emulsificante en el reforzante en polvo para
25 leche humana, de la presente invención, mejoró sorprendentemente la estabilidad de la emulsión de la leche humana reforzada.

30

La presente invención tiene que ver con el empleo de un reforzante en polvo para leche humana para la fabricación de una formulación que proporcione nutrientes complementarios a niños pretérmino, añadiendo el reforzante para leche humana a la leche humana, y mediante la administración de la leche humana reforzada a un niño prematuro, dicho reforzante en polvo para leche humana constando de:

35

a. un componente proteico presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

40

b. un componente graso presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo para leche humana, y

45

c. un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo para leche humana.

50

La presente invención también se refiere al empleo de leche humana reforzada constando de:

55

a. leche humana, y

60

b. un reforzante en polvo para leche humana para la fabricación de una formulación que favorezca el crecimiento de un niño prematuro mediante la administración de la leche humana reforzada a un niño prematuro, dicho reforzante en polvo para leche humana constando de:

65

i. un componente proteico presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

ii. un componente graso presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo para leche humana, y

70

iii. un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo para leche humana.

75

A propósito de los usos anteriores, el componente graso consta además, preferentemente, de un emulsificante en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 10% p/p del componente graso.

80

La presente invención tiene que ver con un reforzante en polvo para leche humana que incluye un componente proteico presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo, un componente graso presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo, un emulsificante presente en la cantidad indicada a continuación, y un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el
65 75% p/p del reforzante en polvo.

Los glóbulos de grasa lácteos de la leche humana son conocidos por separarse de la leche y adherirse a las paredes de los recipientes de alimentación, lo que produce una pérdida importante de grasa, la principal fuente de energía para

el niño. El emulsificante no solamente ayudó a que los componentes solubles e insolubles en agua del reforzante en polvo se incorporasen dentro de la leche humana sino que, sorprendentemente, ayudó a evitar la separación de fases de la leche humana extraída. El emulsionante está presente en el reforzante en polvo en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 10% p/p del componente graso, lo que típicamente puede corresponder a un 0.1% p/p hasta aproximadamente el 1% p/p del reforzante en polvo.

Se preparan pequeños volúmenes de leche humana reforzada (25 ml a 100 ml) para una alimentación diaria de un niño prematuro. Por consiguiente, un recipiente para granel de reforzante en polvo sería abierto repetidamente, excavado, recuperado y almacenado, lo que genera inquietud acerca de la esterilidad del polvo en un entorno hospitalario. Las dosis unitarias individuales permiten la adición de pequeñas cantidades de polvo a la leche humana, sin la posibilidad de contaminación del polvo restante puesto que todo el polvo se utiliza en una única preparación. Preferentemente, el reforzante en polvo es suministrado en recipientes de dosis unitarias individuales que contienen desde unos 0.5 g hasta unos 10 g de reforzante en polvo.

El reforzante en polvo se utiliza para proporcionar la nutrición a niños pretérmino, añadiendo el reforzante en polvo a leche humana y administrando la leche humana reforzada a un niño prematuro. El reforzante en polvo es utilizado además para favorecer el crecimiento de un niño prematuro, administrando la leche humana reforzada a un niño prematuro.

La estabilidad de la emulsión de la leche humana se intensifica añadiendo un emulsificante a la leche humana.

Descripción detallada de la invención

Como se utiliza aquí:

Los términos “prematuro”, “pretérmino” y niños con “bajo peso al nacer (BPN)” son utilizados intercambiabilmente, y se refieren a niños nacidos con menos de 37 semanas de edad gestacional y/o con pesos de nacimiento inferiores a 2.500 g.

“Una dosis unitaria” se refiere a paquetes individuales de reforzante en polvo conteniendo una cantidad de reforzante en polvo que será utilizada en una preparación. No habrá reforzante en polvo sobrante que requiera almacenamiento. La cantidad de leche humana reforzada, preparada para un niño prematuro, varía típicamente desde 25 ml hasta 150 ml por día. Por consiguiente, una dosis unitaria individual es la cantidad adecuada de polvo para reforzar una preparación de 25 ml. A las preparaciones con volumen mayor se le añaden múltiples paquetes.

El término “crecimiento” se refiere a ganancias en peso, longitud y/o circunferencia craneal.

El término “calcio insoluble” se refiere a fuentes de calcio, de calidad alimentaria, listadas en el CRC HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS como escasamente solubles en agua.

El término “vitamina E” se refiere a un grupo de tocoferoles que se diferencian únicamente en el número y posición de los grupos metilo en el anillo. La forma más activa de vitamina E es también la más extensamente distribuida en la naturaleza. Cuando se sintetizó por primera vez el tocoferol, se descubrió que la materia sintética tenía una actividad biológica ligeramente inferior que el tocoferol de las plantas. Debido a este fenómeno, la forma de existencia natural ha sido denominada RRR-”-tocoferol. Con fines dietéticos, la actividad de la vitamina E se expresa como equivalentes de RRR-”-tocoferol (ET). Un ET es la actividad de 1 mg de RRR-”-tocoferol. Un mg de RRR-”-tocoferol es equivalente a 1.49 UI de vitamina E.

“Maltodextrinas” y “jarabes de maíz” se refieren a carbohidratos complejos utilizados rutinariamente en formulaciones nutricionales debido a su excelente digeribilidad y propiedades funcionales. Específicamente, son buenos aglutinantes acuosos y proporcionan productos con una textura y tacto en la boca deseables. Las maltodextrinas son polisacáridos obtenidos a partir de la hidrólisis ácida o enzimática de almidón de maíz. Su clasificación está basada en el grado de hidrólisis y se narra como “equivalente de dextrosa (ED)”. La FDA define las maltodextrinas como polisacáridos nutritivos, no dulces, que tienen un ED inferior a 20. Los sólidos de jarabe de maíz son definidos por tener un ED mayor de 20. Los sólidos de jarabe de maíz constan de cadenas dextrosa de aproximadamente 3 a 4 unidades de longitud, mientras que las maltodextrinas están menos hidrolizadas y contienen cadenas dextrosa más largas. La diferencia en la longitud del polímero produce diferente funcionalidad, viscosidad, tacto en la boca y osmolalidad.

Un objeto principal de la invención es proporcionar un perfeccionado reforzante en polvo para leche humana, para niños prematuros que necesitan nutrientes adicionales para apoyar su crecimiento. La invención es un polvo que, cuando se añade a leche humana, complementa los niveles de proteína, grasa, vitaminas y minerales. Otro objeto de la invención es proporcionar nutrientes complementarios a un niño prematuro que necesita nutrientes adicionales para su crecimiento.

El reforzante en polvo de esta invención proporcionará, típicamente, la siguiente distribución de macronutrientes. El componente proteico estará presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo, preferentemente desde el 25% p/p hasta el 42% p/p del reforzante en polvo, más preferentemente desde el 28% p/p hasta el 36% p/p del reforzante en polvo. El componente graso estará presente en una cantidad desde el 1% p/p

ES 2 243 252 T3

5 hasta el 30% p/p del reforzante en polvo, preferentemente desde el 5% p/p hasta el 20% p/p del reforzante en polvo, más preferentemente desde el 8% p/p hasta el 18% p/p del reforzante en polvo. El componente carbohidrato estará presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo, preferentemente desde el 38% p/p hasta el 70% p/p del reforzante en polvo, más preferentemente desde el 46% p/p hasta el 64% p/p del reforzante en polvo. Adicionalmente, la cantidad de polvo necesaria para proporcionar una dosis unitaria del reforzante variará, típicamente, desde 0'5 hasta 10 g de polvo en una dosis unitaria, preferentemente desde 0'8 g hasta 5'0 g de polvo en una dosis unitaria, más preferentemente desde 0'85 g hasta 2'0 g de polvo en una dosis unitaria. La densidad calórica es, típicamente, desde aproximadamente 1'0 kcal/g de polvo hasta aproximadamente 8'5 kcal/g de polvo.

10 El primer componente del reforzante en polvo de esta invención es una fuente de proteína. La proteína es necesaria para el crecimiento, la síntesis de enzimas y hormonas, y la reposición de la proteína perdida por la piel y en la orina y heces. Estos procesos metabólicos determinan la necesidad de la cantidad total de proteína en la alimentación y las cantidades relativas de aminoácidos específicos. La idoneidad de la cantidad y tipo de proteína en la alimentación para niños se determina midiendo el crecimiento y retención de nitrógeno, los aminoácidos plasmáticos, algunos analitos sanguíneos y las respuestas metabólicas.

20 Como se indicó antes, el componente proteico estará presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo. Las proteínas que se pueden utilizar en los productos nutricionales de la invención incluyen cualquier proteína o fuente de nitrógeno apropiada para consumo humano. Tales proteínas son bien conocidas por aquellos especializados en la técnica, y se pueden seleccionar fácilmente cuando se preparen tales productos. Ejemplos de fuentes proteicas apropiadas para un niño prematuro incluyen, típicamente, caseína, suero, leche desnatada condensada, leche descremada, soja, guisante, arroz, maíz, proteína hidrolizada, aminoácidos libres, fuentes proteicas que contengan calcio en suspensión coloidal con la proteína, y mezclas de las mismas.

25 La fuente preferida de proteína estará compuesta, típicamente, de aproximadamente el 51% p/p del componente proteico como concentrado de proteína de suero, y de aproximadamente el 49% p/p del componente proteico como leche descremada en polvo, lo que corresponde a aproximadamente el 60% p/p del componente proteico como suero y aproximadamente el 40% p/p del componente proteico como caseína.

30 Las fuentes comerciales de proteína son fácilmente disponibles y conocidas por uno que practique la técnica. Por ejemplo, caseinatos, suero, caseinatos hidrolizados, suero hidrolizado y proteínas lácteas están disponibles por New Zealand Milk Products de Santa Rosa, California. Las proteínas de soja y de soja hidrolizadas están disponibles por Protein Technologies International de Saint Louis, Missouri. La proteína de guisante está disponible por Feinkost Ingredients Company de Lodi, Ohio. La proteína de arroz está disponible por California Natural Products de Lathrop, California. La proteína de maíz está disponible por EnerGenetics Inc. of Keokuk, Iowa. Adicionalmente, proteínas enriquecidas en minerales están disponibles por New Zealand Milk Products de Santa Rosa, California, y por Protein Technologies International de Saint Louis, Missouri.

40 El segundo componente del reforzante en polvo de esta invención es una fuente de grasa. La grasa es una fuente ideal de energía para niños BPN, no debido únicamente a su alta densidad calórica sino también debido a su baja actividad osmótica en solución.

45 Como se indicó antes, el componente graso estará presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo. Ejemplos de fuentes apropiadas de grasa incluyen, típicamente, aceite de cártamo rico en oleico, aceite de soja, aceite de coco fraccionado (triglicéridos de cadena media, aceite TCM), aceite de girasol rico en oleico, aceite de maíz, aceite de colza, aceites de coco, de palma y de almendra de palma, aceite marino, aceite de algodón y ácidos grasos específicos tales como ácido docosahexanoico y ácido araquidónico.

50 El ácido docosahexanoico (DHA) es un ácido graso omega-3 y se cree que es esencial para el adecuado desarrollo del cerebro y la visión de niños debido a que es el ácido graso poliinsaturado de cadena larga (AGPI) más abundante en el cerebro y la retina. Aunque existe una ruta metabólica en los mamíferos para la síntesis de DHA a partir de ácido linolénico dietético, esta ruta es bioenergéticamente desfavorable, y se cree que los mamíferos obtienen la mayor parte de su DHA a partir de fuentes dietéticas. En el caso de niños, la fuente más probable sería la leche humana. En efecto, el DHA es el AGPI omega-3 de 20 carbonos más abundante en la leche humana. Sin embargo, el contenido de DHA de la leche humana variará grandemente dependiendo de la dieta de la madre. Si la madre come a menudo pescado rico en DHA, su leche contendrá niveles superiores de DHA, mientras que una mamá con menos acceso al pescado tendrá niveles inferiores de DHA en su leche. Por consiguiente, la leche humana puede necesitar suplemento de DHA para asegurar que el niño pretérmino está recibiendo cantidades suficientes de DHA. Preferentemente, el suplemento está acompañado por suplemento de ácido araquidónico. La Patente U.S. 5.492.938, según Kyle y col., describe un método para obtener DHA a partir de dinoflagelados, y su uso en una composición farmacéutica y suplementos dietéticos.

65 Típicamente, el aceite TCM es la fuente preferida de grasa que comprende el 100% del componente graso. A este nivel, esta fuente de grasa proporciona calorías de grasa bien toleradas para el niño prematuro, además de proporcionar un vehículo para las vitaminas y emulsificantes liposolubles.

Están fácilmente disponibles numerosas fuentes comerciales para las grasas listadas antes, y son conocidas por uno que practique la técnica. Por ejemplo, los aceites de soja y colza están disponibles por Archer Daniels Midland de Decatur, Illinois. Los aceites de maíz, coco, palma y almendra de palma están disponibles por Premier Edible Oils

ES 2 243 252 T3

Corporation de Portland, Oregón. El aceite de coco fraccionado está disponible por Henkel Corporation de LaGrange, Illinois. Los aceites de cártamo rico en oleico y de girasol rico en oleico están disponibles por SVO Specialty Products de Eastlake, Ohio. El aceite marino está disponible por Mochida International de Tokio, Japón. Los aceites de girasol y algodón están disponibles por Cargil de Minneápolis, Minnesota. El aceite de cártamo está disponible por California Oils Corporation de Richmond, California. El DHA está disponible por Martek Biosciences Corporation de Columbia, Maryland. El ácido araquidónico está disponible por Genzyme Corporation de Cambridge, Mass.

Típicamente, se incorpora un emulsificante dentro del reforzante en polvo. Los emulsificantes ayudan a los componentes solubles e insolubles en agua del reforzante en polvo a incorporarse dentro de la leche humana. Ejemplos de emulsificantes adecuados incluyen, típicamente, lecitina de soja, estearato de polioxietileno, monooleato de polioxietilensorbitán, monopalmitato de polioxietilensorbitán, monoestearato de polioxietilensorbitán, fosfátidos de amonio, monolaurato de polioxietilensorbitán, ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácido tartárico de mono y diglicéridos de ácidos grasos.

La fuente preferida de emulsificante es la lecitina de soja natural. El emulsificante estará presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 10% p/p del componente graso, lo que puede corresponder típicamente a aproximadamente el 0'1% p/p hasta alrededor del 1% p/p del reforzante en polvo. Preferentemente, el emulsificante está presente en una cantidad desde el 1'5% p/p hasta el 5% p/p del componente graso.

Están fácilmente disponibles numerosas fuentes comerciales para los emulsificantes listados antes, y son conocidas por uno que practique la técnica. Por ejemplo, la lecitina de soja está disponible por Archer Daniels Midland Company de Decatur, Illinois. El estearato de polioxietileno, monooleato de polioxietilensorbitán, monopalmitato de polioxietilensorbitán, monoestearato de polioxietilensorbitán monolaurato de polioxietilensorbitán, ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos de ácidos grasos, y ésteres de ácido tartárico de mono y diglicéridos de ácidos grasos están disponibles por Quest en Owings Mills, Maryland.

El tercer componente del reforzante en polvo de esta invención es una fuente de carbohidratos. El carbohidrato es una fuente principal de energía, fácilmente disponible, que el niño BPN necesita para su crecimiento y que protege al niño del catabolismo tisular. En la leche humana y en la mayoría de las fórmulas infantiles estándar basadas en la leche, el carbohidrato es lactosa. Los niños BPN pueden ser incapaces de digerir completamente la lactosa debido a que la actividad lactasa en el intestino fetal no se desarrolla completamente hasta el final de la gestación (36 a 40 semanas). Por otra parte, la actividad sacarasa es máxima a las 32 semanas de gestación, y la actividad glucoamilasa, que digiere los sólidos de jarabe de maíz (polímeros de glucosa), aumentan dos veces tan rápidamente como la actividad lactasa durante el tercer trimestre.

Como se observó antes, los carbohidratos estarán presentes en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo. El nivel y fuente preferidos de carbohidrato se seleccionan para disminuir la osmolalidad y la viscosidad del producto reconstituido. La fuente preferida de carbohidrato es el 100% del componente carbohidrato como jarabe de maíz.

Los carbohidratos que se pueden utilizar en el reforzante en polvo pueden variar ampliamente. Ejemplos de carbohidratos apropiados para niños pretérmino incluyen, típicamente, almidón de maíz hidrolizado, maltodextrina, polímeros de glucosa, sacarosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, jarabe de arroz, glucosa, fructosa, lactosa, jarabe de maíz rico en fructosa y oligosacáridos indigeribles tales como fructooligosacáridos (FOS). Se puede utilizar cualquier carbohidrato individual listado arriba, o cualquier combinación de ellos, cuando sea apropiado.

Están fácilmente disponibles fuentes comerciales para los carbohidratos listados antes, y son conocidas por uno que practique la técnica. Por ejemplo, los sólidos de jarabe de maíz están disponibles por Cerestar USA Inc., en Hammond, Indiana. Los jarabes basados en glucosa y arroz están disponibles por California Natural Products en Lathrop, California. Diversos jarabes de maíz y jarabes de maíz ricos en fructosa están disponibles por Cargil en Minneápolis, Minnesota. La fructosa está disponible por A. E. Staley en Decatur, Illinois. La maltodextrina, los polímeros de glucosa, y el almidón de maíz hidrolizado están disponibles por American Maize Products en Hammond, Indiana. La sacarosa está disponible por Domino Sugar Corp., en Nueva York, Nueva York. La lactosa está disponible por Foremost en Baraboo, Wisconsin, y los oligosacáridos indigeribles, tales como fructooligosacáridos (FOS), están disponibles por Golden Technologies Company de Golden, Colorado.

La osmolalidad de la leche humana reforzada juega un papel importante en la tolerancia de los niños a sus alimentos, tales como a la distensión abdominal y al vómito/saliva. La osmolalidad de la leche humana reforzada está vinculada al nivel y fuente de carbohidrato utilizado en el reforzante en polvo. La osmolalidad del reforzante en polvo de la presente invención, reconstituido en leche humana, es típicamente inferior a aproximadamente 400 mOsm/kg de agua, preferentemente desde aproximadamente 300 mOsm/kg de agua hasta aproximadamente 400 mOsm/kg de agua. La sustitución de algún carbohidrato por grasa por en el reforzante en polvo de la presente invención sirve para reducir la osmolalidad de la leche humana reforzada, reemplazando el carbohidrato, que tiene una alta actividad osmótica, con grasa que tiene una baja actividad osmótica. El tipo de carbohidrato incorporado dentro del reforzante en polvo también afecta a la osmolalidad de la leche humana reforzada. Cuanto más hidrolizada sea la fuente de carbohidrato (ED superior), mayor será la actividad osmótica. Adicionalmente, las fuentes de carbohidrato parcialmente hidrolizadas pueden aumentar adicionalmente la osmolalidad cuando se reconstituyen con leche humana, debido a la hidrólisis complementaria por la amilasa de la leche humana. Basado en los valores de ED para carbohidratos, un especializado

ES 2 243 252 T3

en la técnica puede seleccionar fácilmente la fuente de carbohidrato, o combinación de carbohidratos, que producirá la osmolalidad preferida de la solución reconstituida de reforzante en polvo/leche humana.

5 Como se indicó antes, la viscosidad es también una característica de los carbohidratos. La viscosidad de la solución reconstituida de reforzante en polvo/leche humana juega el papel de suspender los minerales insolubles durante la alimentación. Aunque la superior viscosidad tiende a reducir la caída de los minerales insolubles, la viscosidad superior puede causar la obstrucción del tubo/tetilla. Un tubo de alimentación obstruido, en un aparato de alimentación continua, requiere la atención adicional por el personal de enfermería, el cual tendrá que desatascar el tubo, reiniciar el sistema de la bomba, lo que puede requerir una nueva preparación de leche humana reforzada. Más importantemente, 10 un tubo obstruido impide la entrega oportuna de muchos nutrientes necesarios para un niño prematuro. La viscosidad de la solución reconstituida de reforzante en polvo/leche humana de la presente invención es, típicamente, inferior a unos 30 cps, preferentemente desde unos 10 cps hasta unos 20 cps. La viscosidad está inversamente relacionada con la osmolalidad. Cuanto más hidrolizado esté un almidón (ED superior), menor será la viscosidad y mayor la osmolalidad. Basado en los valores de ED para carbohidratos, un especializado en la técnica puede seleccionar fácilmente la fuente 15 de carbohidrato, o combinación de carbohidratos, que controlará las características de viscosidad y osmolalidad de la solución reconstituida de reforzante en polvo/leche humana hacia los niveles preferidos.

El reforzante en polvo de la presente invención incluye, típicamente, vitaminas y minerales complementados.

20 El niño pretérmino necesita los electrolitos sodio, potasio y cloruro para su crecimiento, y para el equilibrio ácido-base. También son necesarias ingestas suficientes de estos electrolitos para la reposición de las pérdidas por la orina y cámaras, y por la piel. El calcio, fósforo y magnesio son necesarios para la adecuada mineralización ósea. Para que los huesos crezcan, en la alimentación tienen que estar presentes cantidades adecuadas de estos minerales. Los niños BPN pueden desarrollar raquitismo u osteopenia si no reciben la cantidad adecuada de calcio y fósforo en su 25 dieta. El fósforo y el magnesio también se encuentran en el fluido intracelular. Estos minerales son necesarios para el crecimiento y función del tejido blando. La leche humana no proporciona suficiente calcio o fósforo, incluso si estos minerales fuesen totalmente absorbidos y retenidos, lo que no lo son.

Los minerales traza están asociados con la división celular, la función inmune y el crecimiento. Por consiguiente, 30 se necesita el suministro de cantidades suficientes de minerales traza para el rápido crecimiento en niños BPN. La leche humana no proporciona cantidades suficientes de los minerales traza, especialmente zinc y cobre, para satisfacer las necesidades de un niño BPN en crecimiento. Otro mineral traza, el hierro, es importante para la síntesis de hemoglobina, mioglobina y enzimas conteniendo hierro. Sin embargo, no es cierto que los niños BPN necesiten las cantidades recomendadas de hierro durante los primeros 2 meses de vida. La anemia del prematuro, que ocurre poco 35 después del nacimiento, no puede ser evitada dando hierro complementario. También, se estima que el niño pretérmino tiene suficientes reservas de hierro sin que reciba suplemento de hierro, si la pérdida de sangre es pequeña, hasta los 2 meses de edad. Por consiguiente, el reforzante en polvo de la presente invención, para leche humana, es bajo en hierro. Se necesita zinc para el crecimiento, para la actividad de numerosas enzimas, y para la síntesis de ADN, ARN y de proteínas. El cobre es necesario para la actividad de varias enzimas importantes. Se estima que aproximadamente 40 el 75% del cobre en un neonato a término se acumula durante las 10 a 12 últimas semanas en el útero. Por consiguiente, es probable que los niños BPN, especialmente aquellos nacidos pesando menos de 1.500 g, tengan reservas bajas de cobre. El manganeso es necesario para el desarrollo del hueso y cartílago, y es importante en la síntesis de polisacáridos y glicoproteínas.

45 Probablemente, los niños BPN necesiten más de la mayoría de las vitaminas proporcionadas por solo la leche humana, debido a las bajas reservas al nacer, la baja ingesta de alimentos, la escasa absorción de vitaminas, y los estados clínicos que requieran ingestas incrementadas de vitaminas.

La vitamina A es una vitamina liposoluble esencial para el crecimiento, la diferenciación celular, la visión y el sistema inmunológico. En los niños BPN, las reservas de vitamina A son adecuadas poco después, pero disminuyen pronto después de eso. Por lo tanto, los niños pretérmino pueden necesitar ingestas superiores de vitamina A que los niños a término. La vitamina D es importante para la absorción de calcio y para, en menor grado, fósforo, y para el desarrollo del hueso. Durante muchos años se pensó que el escaso desarrollo óseo observado en niños BPN era debido a la insuficiente ingesta de vitamina D y al metabolismo, y los niños BPN necesitaban una ingesta significativamente mayor de vitamina D que los niños a término. Ahora se ha identificado que las ingestas de calcio y fósforo son 55 más importantes que la vitamina D para el crecimiento óseo en niños pretérmino. La vitamina E (tocoferol) evita la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados en la célula, de ese modo evitando el daño tisular. Los niños BPN pueden desarrollar anemia hemolítica y deficiencia en vitamina E cuando son alimentados con alimentaciones bajas en vitamina E y altas en hierro y en ácidos grasos poliinsaturados. Adicionalmente, la leche pretérmino contiene niveles 60 muy bajos de vitamina K.

Como lo son algunas otras vitaminas hidrosolubles, la vitamina C es baja en una leche pretérmino madura. El ácido fólico es importante en el metabolismo de aminoácidos y nucleótidos. Se ha demostrado que las concentraciones de folato sérico caen por debajo de lo normal, después de 2 semanas de edad, en niños BPN con bajas ingestas de ácido fólico. Adicionalmente, en la leche prematura están presentes varias vitaminas B a bajas concentraciones. 65

Como se describió antes, la variabilidad de las concentraciones de vitaminas y minerales en la leche humana, y las necesidades incrementadas del niño pretérmino, requiere un mínimo reforzamiento para asegurar que un niño pre-

turo en crecimiento esté recibiendo las adecuadas cantidades de vitaminas y minerales, aunque no sobrerreforzando y causando, posiblemente, por ejemplo hipercalcemia. Utilizando las recomendaciones del Comité en Nutrición, de la American Academy of Pediatrics, un especializado en la técnica puede calcular fácilmente cuanta fuente de vitaminas y minerales se debería añadir al producto nutricional para liberar la cantidad deseada de una vitamina o mineral (Necesidades nutricionales de niños prematuros, PEDIATRIC NUTRITION HANDBOOK, ed. 4, Elk Grove Village, III. American Academy of Pediatrics, 1998, págs. 55-87). Los practicantes también comprenden que a las composiciones nutricionales se les necesita proporcionar las cantidades adicionales apropiadas de ingredientes con vitaminas y minerales, para compensar alguna pérdida durante el procesamiento y almacenamiento de tales composiciones.

Ejemplos de vitaminas y minerales complementarios en el reforzante en polvo de la presente invención incluyen, típicamente, vitamina A, vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina B₁₂, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina, m-inositol, calcio, fósforo, magnesio, zinc, manganeso, cobre, sodio, potasio, cloruro, hierro y selenio. También pueden requerir suplemento los nutrientes adicionales cromo, molibdeno, yodo, taurina, carnitina y colina. Convenientemente, el reforzante en polvo incluirá la forma natural de vitamina E (acetato de RRR-d-alfa-tocoferol).

Los inventores descubrieron que las características de solubilidad de alguno de los minerales, concretamente el calcio en el reforzante en polvo, afectan negativamente a la estabilidad de las proteínas en la solución de leche humana reforzada. Específicamente, la presencia en el producto final de minerales solubles divalentes desestabiliza la proteína de la leche humana y la proteína del reforzante, lo que origina que precipite la proteína en la solución y se adhiera a las paredes de los recipientes de mezcla. El Experimento II evalúa la desnaturalización de las proteínas por el reforzante en polvo conteniendo calcio soluble y el reforzante en polvo de la presente invención conteniendo calcio insoluble. Los inventores han ensayado para proteína el residuo dejado en las paredes de los recipientes de mezcla, y encontraron que el residuo constaba de proteína de suero y caseína inmunológicamente activa, y otra proteína sin identificar. Además, los inventores fueron capaces de calcular el porcentaje de proteína total perdida como residuo que se adhiere a las paredes de los recipientes de mezcla, para cada reforzante en polvo. La adición de reforzante en polvo conteniendo calcio soluble a la leche humana produjo la pérdida del 6% de la proteína total en la leche humana reforzada. Estas altas pérdidas de proteína pueden tener un impacto negativo en el crecimiento de niños pretérmino.

La prudencia convencional dicta que una fuente de calcio insoluble maximizará las características de biodisponibilidad del mineral para un niño en crecimiento. Esto está apoyado por la incorporación de las fuentes de calcio soluble gluconato de calcio y glicerosfato de calcio en el reforzante en polvo disponible comercialmente, Enfamil[®] Human Milk Fortifier. Sin embargo, se sabe que los minerales divalentes solubles, particularmente el calcio, son capaces de interactuar con las proteínas. La desestabilización de las proteínas produce proteína desnaturalizada que precipita en la solución, o se adhiere a las paredes del recipiente de reconstitución/distribución. Por consiguiente, las proteínas no se distribuyen realmente al niño, lo que contribuye a las retardadas tasas de crecimiento (ver Experimento III).

La invención actual utiliza fuentes de calcio insoluble y estudia los problemas de precipitación mineral resultante haciendo el reforzante un polvo y, en segundo lugar, utilizando tamaños de partícula bastante pequeños (ultramicronizadas) para que permanezcan en solución durante la alimentación. Ejemplos de fuentes de calcio insoluble apropiadas incluyen, típicamente, fosfato cálcico dibásico, fosfato cálcico tribásico, y carbonato cálcico y citrato cálcico. Alternativamente, el calcio está en suspensión coloidal con la proteína, tal como el caseinato cálcico.

Preferentemente, aproximadamente el 95% del calcio total es suministrado mediante el fosfato cálcico tribásico, y aproximadamente el 5% del calcio total es suministrado mediante citrato cálcico.

Están disponibles fácilmente, y conocidas por uno que practique la técnica, numerosas fuentes comerciales de calcio insoluble. Por ejemplo, el fosfato cálcico tribásico, el fosfato cálcico dibásico, y el citrato cálcico están disponibles por Mallinckrodt Specialty Chemicals en Charlotte, Carolina del Norte. El carbonato cálcico está disponible por Prillaman Chemical Corporation en Suffolk, Virginia. El caseinato cálcico está disponible por New Zealand Milk Products en Hamilton, Nueva Zelanda.

La incorporación de calcio insoluble en el reforzante en polvo conduce a un especializado en las técnicas nutricionales a preocuparse por la biodisponibilidad del calcio para esta población prematura en crecimiento. La leche humana pretérmino es ya deficiente en calcio y, si el reforzante en polvo proporciona calcio en una forma que no esté biodisponible para el niño pretérmino, el crecimiento será afectado negativamente. Los inventores realizaron estudios preliminares (Experimento IV) evaluando la densidad ósea del antebrazo de niños suplementados con el reforzante en polvo de la presente invención, conteniendo calcio insoluble, y compararon sus densidades óseas del antebrazo con niños suplementados con reforzante en polvo conteniendo calcio soluble. Sorprendentemente, los resultados no muestran diferencia en la densidad ósea. La adición de fuentes de calcio insoluble al reforzante en polvo de la presente invención evitó la desnaturalización de la proteína en la leche reforzada, y fue absorbido por el niño prematuro. Por consiguiente, la proteína y el calcio fueron distribuidos con éxito al niño prematuro, y el niño fue capaz de desarrollarse bien y crecer.

El polvo nutricional de esta invención se puede fabricar utilizando técnicas conocidas por aquellos especializados en la técnica. Aunque las variaciones de fabricación son naturalmente conocidas por aquellos especializados en las técnicas de formulación nutricional, en los Ejemplos se describen en detalle algunas de las técnicas de fabricación. En términos generales, se prepara una mezcla oleosa conteniendo todos los aceites, algún emulsificante, y las vitaminas

ES 2 243 252 T3

liposolubles. Se preparan por separado dos lodos líquidos más (carbohidrato y proteína), mezclando el carbohidrato y los minerales juntos, y la proteína en agua. Después, se mezclan juntos los dos lodos líquidos con la mezcla oleosa. La mezcla resultante es homogeneizada, termoprocesada, estandarizada con vitaminas hidrosolubles, y desecada. El polvo resultante puede ser molido hasta un tamaño de partícula específico, y/o aglomerado para modificar el tamaño de partícula y las características de mezclabilidad. Aquellos especializados en las técnicas de formulación nutricional deberían ser capaces también de mezclar las materias de partida individuales y añadir los ingredientes líquidos mediante la aglomeración, o durante la etapa de mezclado en seco.

Se prefieren los paquetes de tamaño para dosis unitarias individuales sobre el empaquetado a granel. Debido a los pequeños volúmenes de leche administrados a niños prematuros durante el transcurso de una alimentación diaria, se preparan pequeños volúmenes de leche humana reforzada. La esterilidad del polvo en un recipiente a granel que ha sido repetidamente abierto, excavado, recuperado y almacenado, es siempre una preocupación en un entorno hospitalario. Las dosis individuales permiten la adición de pequeñas cantidades de polvo a la leche humana, sin la posibilidad de contaminación del polvo restante puesto que todo el polvo es utilizado en una única preparación. Como se observó antes, la dosis unitaria de la invención es, típicamente, desde unos 0'5 g hasta unos 10 g de reforzante en polvo en una dosis unitaria, preferentemente desde unos 0'8 g hasta unos 5'0 g de reforzante en polvo en una dosis unitaria, más preferentemente desde unos 0'85 g hasta unos 2'0 g de reforzante en polvo en una dosis unitaria. Dependiendo del volumen de una alimentación diaria, se añadirán aproximadamente 1 a 4 dosis unitarias a unos 25 ml hasta unos 100 ml, respectivamente.

Están disponibles numerosos tipos de recipientes, y conocidos por uno que practique la técnica. Ejemplos de tipos de recipientes incluyen, típicamente, paquetes o sobres que pueden ser fabricados de papel, lámina de metal y película de plástico, y papel recubierto con lámina de metal y película de plástico; y ampollas que pueden estar fabricadas de plástico, papel reforzado y vidrio.

Como se estableció antes, un objeto de la presente invención es proporcionar la nutrición a niños pretérmino, añadiendo el reforzante en polvo de la presente invención a la leche humana, y administrando la leche humana reforzada a un niño prematuro. Otro objeto de la invención es favorecer el crecimiento de un niño prematuro niño prematuro, administrando la leche humana reforzada a un niño prematuro. Los Experimentos III y IV describen el protocolo de estudio y el mejor crecimiento de niños prematuros con el reforzante en polvo de la presente invención, comparado con un reforzante en polvo disponible comercialmente.

La estabilidad de la emulsión de la leche humana se mejora añadiendo un emulsificante a la leche humana. Sorprendentemente, el emulsificante ayuda a evitar la separación de los glóbulos de grasa de la leche humana. Los inventores descubrieron que la adición de una pequeña cantidad de emulsificante, al reforzante en polvo para la leche humana, mejoró los resultados de la separación de fases. En el Experimento I están descritos el estudio y los resultados que comparan la estabilidad física de la leche humana y el reforzante en polvo/leche humana. La cantidad de emulsificante en la solución de leche humana reforzada estará presente, típicamente, desde un 0'36% p/v hasta aproximadamente el 3'6% p/v de la solución de leche humana, preferentemente desde un 0'54% p/v hasta aproximadamente el 1'8% p/v de la solución de leche humana.

Ejemplo de fabricación A

Se fabrica un granel de reforzante en polvo combinando los ingredientes adecuados para generar un lodo líquido de carbohidrato/minerales (CBH/MIN), una mezcla oleosa y un lodo líquido de proteína en agua (PEA). Los lodos líquidos CBH/MIN y PEA y la mezcla oleosa son mezclados juntos para formar la mezcla final. Después, la mezcla final es procesada con un tratamiento HTST. Después de la estandarización, la mezcla final es secada por pulverización.

La Tabla 2 presenta una lista de materias para fabricar 8.172 kg de reforzante en polvo para leche humana. Sigue una descripción detallada de su fabricación.

ES 2 243 252 T3

TABLA 2

Lista de materiales

Ingrediente	Cantidad
Agua ingrediente	16.205 l
Sólidos de jarabe de maíz	1.603 kg
Cloruro magnésico	96'2 kg
Citrato potásico	223'8 kg
Citrato sódico	6'6 kg
Cloruro sódico	15'4 kg
Aceite TCM	801 kg
Lecitina	16'6 kg
Vitamina A	2'36 kg
Vitamina D	359'3 g
Vitamina K	27'5 g
Vitamina E natural	7'6 kg
Carbonato cálcico	33'1 kg
Fosfato tricálcico	646 kg
Concentrado de proteína de suero	1.506 kg
Leche descremada en polvo	3.307 kg
Citrato potásico	257'2 g
Sulfato ferroso	3'7 kg
Sulfato de zinc	11'1 kg
Sulfato de cobre	1'84 kg
Sulfato de manganeso	0'320 kg
Seleniato sódico	0'001 kg
Niacinamida	0'98 kg
Riboflavina	1'14 kg
Pantotenato cálcico	4'08 kg
Clorhidrato de piridoxina	0'655 kg
m-inositol	9'55 kg
Biotina	0'0727 kg
Ácido fólico	0'0775 kg
Cianocobalamina	0'0016 kg
Ácido ascórbico	153'5 kg

Se prepara un lodo líquido de carbohidrato/minerales calentando 2.763 litros de agua ingrediente a 54°C-62°C. Con agitación, se añaden al agua calentada las cantidades especificadas de sólidos de jarabe de maíz (Maltrin M200, distribuido por Grain Processing Corporation, Muscatine, Iowa), cloruro magnésico, cloruro sódico, citrato sódico, fosfato tricálcico ultramicronizado y carbonato cálcico. El lodo líquido es mantenido bajo agitación a 54°C-62°C, durante no más tiempo de seis horas, hasta que se mezcle con los otros lodos líquidos.

Se prepara una mezcla oleosa calentando la cantidad específica de aceite TCM (distribuido por Stepan, Maywood, New Jersey) a 32°C-37°C con agitación. Después se añade un emulsificante (lecitina líquida estándar, distribuida por Central Soya, Ft. Wayne, Indiana) bajo agitación, y se deja que se disuelva. Luego se añaden las vitaminas A, D, K y vitamina E natural (distribuidas por Vitamins Inc., Chicago, Illinois) al lodo líquido bajo agitación. El lodo líquido oleoso terminado es mantenido, bajo agitación moderada, a una temperatura de 26°C a 48°C, durante un periodo no más grande de seis horas hasta que se mezcle con los otros lodos líquidos.

Se prepara un lodo líquido de proteína en agua, calentando 9.053 litros de agua ingrediente a 48°C-60°C. Con agitación, al agua calentada se añade la cantidad especificada de concentrado de proteína de suero (AMP 800, distribuido por AMPC Inc., Ames, Iowa) y leche descremada en polvo. No se guarda el lodo líquido de proteína en agua terminado, sino que se mezcla directamente con los otros lodos líquidos.

Los lodos líquidos de proteína en agua, mezcla oleosa y de carbohidrato/minerales son mezclados juntos con agitación, y se mantiene la mezcla resultante a una temperatura desde 51°C hasta 60°C. Después de esperar durante al menos cinco minutos con agitación, se ajusta el pH de la mezcla final con KOH 1N, hasta un pH de 6'45-6'80. Los sólidos totales de la mezcla final son el 30%. La mezcla final es guardada durante no más de dos horas después de la comprobación del pH.

ES 2 243 252 T3

Después de esperar durante un periodo no inferior a cinco minutos y no superior a dos horas, la mezcla es sometida a desaireación, tratamiento térmico alta temperatura-corto tiempo, y homogeneización, como sigue:

- 5 A. desairear la mezcla a 10-15 pulgadas de Hg;
- B. emulsificar la mezcla a 900-1.000 psig en un homogeneizador de etapa única;
- C. pasar la mezcla a través de un intercambiador de placas/serpentín, a una temperatura de 71°C hasta 82°C;
- 10 D. homogeneizar la mezcla a 3.900 hasta 4.100/400 a 600 psig, en un homogeneizador de doble etapa;
- E. pasar la mezcla a través de una tubería de retención de 16 segundos, a una temperatura de 73°C hasta 85°C;
- F. enfriar la mezcla hasta una temperatura de 1°C hasta 7°C; y
- 15 G. almacenar la mezcla a una temperatura de 1°C hasta 7°C.

Después de que se hayan completado las etapas anteriores, se conduce el ensayo analítico adecuado para su control de calidad. Basado en los resultados analíticos de los ensayos de control de calidad, se hacen las correcciones del granel si se necesitasen. Los sólidos totales de la mezcla final son el 29% al 31%.

Se preparan por separado una solución de vitaminas hidrosolubles, una solución de ácido ascórbico, y una solución de minerales traza, y se añaden a la mezcla procesada.

25 La solución de ácido ascórbico se prepara añadiendo la cantidad necesaria de ácido ascórbico a 2.453 litros de agua a 10°C hasta 37°C, con agitación.

30 La solución de minerales se prepara calentando 321 litros de agua ingrediente a 37°C hasta 65°C. Bajo agitación, añadir la cantidad necesaria de citrato potásico y sulfato ferroso. Dejar agitar hasta que la solución sea de un color verde transparente. Añadir a la solución mineral verde las cantidades necesarias de sulfato de zinc, sulfato de cobre, sulfato de manganeso y seleniato sódico. Agitar mínimo cinco minutos.

35 Se prepara la solución de vitaminas hidrosolubles calentando 530 litros de agua ingrediente a 37°C hasta 65°C. Al agua calentada se añaden las cantidades requeridas de niacinamida, riboflavina, pantotenato cálcico, clorhidrato de piridoxina, clorhidrato de tiamina, m-inositol, biotina, ácido fólico y cianocobalamina.

Toda la solución de ácido ascórbico, la solución de minerales, y la solución de vitaminas hidrosolubles son añadidas luego, bajo agitación, al lodo líquido mezclado.

40 La mezcla final es precalentada a través de un intercambiador de placas a 71°C-82°C antes de ir a un tanque de alimentación. La mezcla abandona el tanque de alimentación y pasa a través del inyector de vapor, donde es calentada a 88°C-93°C. La mezcla entra en la cámara de vapor instantáneo, donde es enfriada a 71°C-82°C, bombeada después hacia un filtro en línea de 200 micras, antes de la bomba de alta presión y dentro del desecador. Los ajustes del desecador son como sigue:

45	Presión de la boquilla	3.000-5.000 psig
	Velocidad del flujo de líquido	11 gpm máx.
	Temperatura del aire de entrada	160°C-207°C
50	Temperatura del aire de salida	82°C-108°C

55 Para controlar la densidad, dispersabilidad, tamaño de partícula, humedad y estabilidad física del granel, se pueden variar la boquilla de pulverización específica, la presión de la boquilla, las temperaturas de secado y los parámetros de reinyección de finos dependiendo de las condiciones de desecado del día. El polvo pasa desde el desecador hacia el enfriador de polvo, donde el polvo es enfriado por debajo de 43°C. El polvo enfriado es almacenado en recipientes apropiados hasta que sea llenado en paquetes individuales.

Experimento I

60 El objetivo del estudio fue evaluar la estabilidad de la emulsión de la leche humana después de la adición del reforzante en polvo de la presente invención. La estabilidad de la emulsión de los líquidos que incorporan polvos se ensaya rutinariamente mediante un ensayo de separación de fases. El ensayo evalúa la separación de la leche humana en capas liposolubles e hidrosolubles. Se pesó 7'2 g de reforzante en polvo, producido como en el Ejemplo de Fabricación A, en copas de plástico pequeñas y se taparon para mantenerlo seco. Utilizando una probeta graduada
65 de 250 ml, se vertió 200 ml de leche humana dentro de un vaso de precipitados de 500 ml. Se añadió lentamente el reforzante en polvo al vaso de precipitados, mientras se agitaba vigorosamente. La agitación continuó durante unos 30 segundos para asegurar que el polvo fuese hidratado a fondo. La solución fue inmediatamente transferida a una probeta

ES 2 243 252 T3

graduada de 250 ml, para el ensayo de separación de fases. La muestra estuvo inalterada durante 30, 60 y 120 minutos antes del análisis. Se evaluó la muestra por cualquier evidencia de una capa de grasa en la superficie. Se mantuvo una linterna eléctrica de alta intensidad frente a la probeta graduada para ayudar a distinguir entre la espuma y la capa de grasa. Además, se puso una pequeña espátula dentro de la probeta, para agilizar el borde de la capa superior y ayudar a determinar si la capa superior es espuma o capa de grasa. La capa de grasa fue leída directamente en la probeta graduada en ml. La Tabla 3 lista los resultados de la separación de fases para la solución de leche humana/reforzante en polvo y la leche humana de control después de 30, 60 y 120 minutos.

TABLA 3

Resultados de la separación de fases

Muestra	30-60 minutos	120 minutos
Leche humana reforzada	1 ml	1 ml
Leche humana de control	2 ml	2 ml

La grasa en la muestra de leche humana de control se separó y subió a la parte superior de la solución, como se demostró por una capa de grasa de 2 ml. La leche humana reforzada tenía separada la mitad como mucho, y subió hacia la parte superior de la solución, como se demostró por una capa de grasa de 1 ml. Se sabe que la grasa de la leche humana se separa y adhiere a las paredes de los recipientes de alimentación, y produce una pérdida significativa de grasa (energía). La pequeña cantidad de emulsificante añadida al reforzante en polvo, para ayudar a que el polvo se incorpore dentro de la leche humana, fue también sorprendentemente capaz de disminuir la separación de grasa observada en la leche humana, liberando de ese modo más grasa calóricamente densa al niño prematuro.

Como se discutió antes, la grasa es crucial para el crecimiento de los niños prematuros. La pérdida de grasa ayuda a explicar la diferencia en crecimiento observada en niños pretérmino complementados con el reforzante en polvo disponible comercialmente para leche humana, el cual no contiene un emulsificante, y el reforzante en polvo de la presente invención para leche humana, el cual contiene un emulsificante (ver Experimentos III y IV).

Experimento II

Los informes de las UCIRN describieron un residuo que se adhería a las paredes del recipiente de reconstitución cuando se añadió a la leche humana el reforzante en polvo disponible comercialmente, y existió la preocupación de que los niños no estaban recibiendo realmente todos los nutrientes en la leche reforzada. Se examinó el residuo bajo el microscopio electrónico, y se descubrió que era proteína.

El objetivo del estudio fue cuantificar e identificar el residuo de proteína que quedaba en la pared de los recipientes de reconstitución del reforzante en polvo para leche humana conteniendo calcio soluble (CS), y del reforzante en polvo de la presente invención, para leche humana, conteniendo calcio insoluble (CI). La muestra de reforzante en polvo para leche humana conteniendo calcio soluble fue el Enfamil[®] Human Milk Fortifier, con la composición descrita en la Tabla 1. La muestra de reforzante en polvo para leche humana conteniendo calcio insoluble fue el reforzante en polvo de la presente invención producido como se describió en el Ejemplo de Fabricación A.

Se reconstituyeron muestras de cada reforzante en polvo para leche humana añadiendo 0.9 g del polvo apropiado a 25 ml de leche al 2% en una probeta de vidrio graduada. El control de leche al 2% contenía solamente 25 ml de leche pero, por lo demás, fue tratada de la misma manera. Después, se tapó cada probeta graduada, y se les dio 6 sacudidas vigorosas para facilitar la reconstitución del polvo. Luego, cada solución fue vertida en un vaso de precipitados etiquetado para el análisis de proteína. Después, cada probeta graduada fue invertida sobre una toalla de papel y dejada drenar durante 1 minuto, y luego puesta vertical. Se añadió 10.0 ml de Tampón de Ensayo Universal (PBS conteniendo 0.1% de Tween 20 y 0.05% de ovoalbúmina), y se tapó la probeta. Las paredes interiores de la probeta fueron aclaradas con agitación para quitar las macropartículas de las paredes laterales, y fuesen a la solución de tampón. Para facilitar la solubilización del residuo, cada probeta fue incubada después, durante 15 minutos, en un baño de agua a 37°C, dejada luego enfriar a temperatura ambiente antes de la dilución adicional en tampón.

Para evaluar el tipo de proteína en el residuo, se utilizó un análisis ELISA para cuantificar la caseína y la proteína de suero inmunológicamente activas. En el análisis ELISA de caseína y suero, las muestras fueron ensayadas sin diluir, y a diluciones posteriores de hasta 4 veces, e incluyendo una dilución de 1 a 262.144. El método utilizado para el ensayo inmunoabsorbente por unión enzimática (ELISA) está descrito en el artículo de Cordle y col. (Evaluation of the Immunogenicity of protein hydrolysate formulas using laboratory animal hyperimmunization. PEDIATRIC ALLERGY AND IMMUNOLOGY (5), págs. 14-19, 1994). El ensayo ELISA está diseñado para la detección y cuantificación de caseína o suero inmunológicamente activos, utilizando anticuerpo de conejo antisuero y anticuerpo de conejo anticaseína.

ES 2 243 252 T3

Este ensayo mide únicamente los componentes caseína y proteína de suero inmunológicamente activos en el residuo. En la Tabla 4, abajo, se muestran los resultados de los análisis ELISA para dos reconstituciones independientes (A y B) de cada reforzante en polvo para leche humana.

5

TABLA 4

Análisis ELISA del residuo para caseína y proteína de suero inmunológicamente activos

10

Muestra	Caseína total (mg)	Suero total (mg)
control de leche al 2%	1'31	0'31
CI-A	2'55 (1'24)	1'89 (1'58)
CI-B	3'49 (2'18)	2'32 (2'01)
CS-A	4'98 (3'67)	3'51 (3'20)
CS-B	5'77 (4'46)	4'94 (4'63)

15

20

CI - reforzante en polvo de la presente invención conteniendo calcio insoluble
CS - Enfamil® Human Milk Fortifier conteniendo calcio soluble
(valor) corregido por la contribución del control

25

30

Todas las muestras dejaron caseína y proteína de suero inmunológicamente activos en las paredes del recipiente de reconstitución. Sin embargo, el reforzante en polvo con CS dejó atrás un 137% más de caseína y un 118% más de proteína de suero, por término medio, que el reforzante en polvo con CI de la presente invención, cuando se corrigieron por la contribución del control.

35

Para evaluar la cantidad de proteína perdida en el residuo, se tiene que determinar la cantidad de proteína total en cada muestra. En primer lugar, se determina la cantidad de proteína en solución. La solución que fue vertida de la probeta graduada, en la etapa de preparación anterior, fue analizada mediante el sistema para nitrógeno TECATOR KJELTEC AUTO 1030, para determinar la cantidad de proteína que no se adhirió al recipiente de reconstitución (la proteína en solución).

40

El sistema TECATOR KJELTEC AUTO 1030 (Perstorp Analytical Inc.) es un analizador de nitrógeno semiautomático integrado que utiliza una adaptación del clásico procedimiento de digestión/destilación de amoníaco descrito primero por Johann Kjeldahl en 1883. Para determinar la cantidad de nitrógeno en las muestras se siguieron los manuales de operación para el Sistema Kjelttec Auto 1030.

45

La cantidad de proteína en la muestra está calculada basada en la concentración de nitrógeno. Se saben las concentraciones de nitrógeno en diversas proteínas, y se utilizan factores de conversión determinados empíricamente para transformar el % de nitrógeno en % de proteína. Por ejemplo, las proteínas lácteas contienen, por término medio, 15'67% de nitrógeno; de este modo, para las proteínas lácteas,

50

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ de nitrógeno} \times (100\% \text{ de proteína} / 15'67\% \text{ de nitrógeno})$$

o

55

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ de nitrógeno} \times 6'38$$

60

Utilizando los datos del porcentaje de proteína, y el volumen de reconstitución conocido (25 ml), se puede calcular la proteína total que no se adhirió a las paredes del recipiente. En la Tabla 5, abajo, se muestra la cantidad de proteína que no se adhirió a las paredes del recipiente de reconstitución.

65

ES 2 243 252 T3

TABLA 5

Cantidad de proteína total que no se adhirió a las paredes del recipiente de reconstitución

Muestra	mg de proteína/ml	mg de proteína total
control de leche al 2%	34'2	855
CI-A	43'4 (9'2)	1.085 (230)
CI-B	43'4 (9'2)	1.085 (230)
CS-A	39'7 (5'5)	992'5 (137'5)
CS-B	39'6 (5'4)	990 (135)

CI - reforzante en polvo de la presente invención conteniendo calcio insoluble
 CS - Enfamil® Human Milk Fortifier conteniendo calcio soluble
 (valor) corregido por la contribución del control

Los mg de proteína total en solución para la muestra CS es 136'25 mg por término medio, y los mg de proteína total en solución para la muestra CI es 230 mg por término medio. Estas diferencias son esperadas ya que cada reforzante en polvo contribuye a los diferentes niveles de proteína para la solución de la leche. Estos valores son utilizados a continuación para calcular el porcentaje de proteína total perdido como residuo en las paredes del recipiente de reconstitución.

El residuo de proteína fue ensayado para el suero y la caseína inmunológicamente activos anteriores. Sin embargo, podría haber proteína adicional presente en el residuo que sería detectada. Así, la concentración de proteína total del residuo fue medida mediante el método de isoabsorbancia descrito en una publicación de Ehresmann y col. (Spectrophotometric determination of protein concentration in cell extracts containing tRNA's and rRNA's, ANALYTICAL BIOCHEMISTRY (54) págs. 454-463, 1973). Como se describió antes, se prepararon una única reconstitución de cada una de las fórmulas y la leche de control, excepto que el residuo fue disuelto en 10'0 ml de PBS. La isoabsorbancia mide toda la proteína presente, y no puede diferenciar entre los componentes proteicos. En la Tabla 6, abajo, se muestran los resultados.

TABLA 6

Cantidad de proteína total en el residuo del recipiente de reconstitución

Muestra	mg de proteína/ml	mg de proteína total
Leche al 2% de control	0'45	4'5
CI	0'9 (0'45)	9 (4'5)
CS	1'37 (0'92)	13'7 (9'2)

CI - reforzante en polvo de la presente invención conteniendo calcio insoluble
 CS - Enfamil® Human Milk Fortifier conteniendo calcio soluble
 (valor) corregido por la contribución del control

Mediante esta técnica, en el residuo se encontró la proteína adicional que no fue detectada por el método ELISA. La muestra con reforzante en polvo con CS dejó atrás un 104% más de proteína total que el reforzante en polvo con CI de la presente invención, cuando se corrigieron por la contribución del control.

Utilizando el cálculo de la proteína que no se adhirió a las paredes del recipiente de reconstitución anterior, y el valor para la proteína total medida en el residuo, para cada muestra se puede generar un porcentaje de proteína perdida. La Tabla 7 lista la proteína total perdida en el residuo que se adhiere al recipiente de reconstitución.

ES 2 243 252 T3

TABLA 7

Proteína total perdida en el recipiente de reconstitución

Muestra	Residuo/proteína total x 100	Proteína perdida en el residuo
control de leche al 2%	(4'5/855 + 4'5)100	0'52%
CI-A	(4'5/230 + 4'5)100	1'9%
CI-B	(4'5/230 + 4'5)100	1'9%
CS-A	(9'2/137'5 + 9'2)100	6'3%
CS-B	(9'2/135 + 9'2)100	6'4%

CI - reforzante en polvo de la presente invención conteniendo calcio insoluble

CS - Enfamil® Human Milk Fortifier conteniendo calcio soluble

(valor) corregido por la contribución del control

El reforzante en polvo con CS perdió el 6%, o el 234% más de proteína, en el residuo adhiriéndose a las paredes del recipiente, por término medio, que el reforzante en polvo con CI de la presente invención cuando se corrigieron por la contribución del control. Claramente, la presencia de calcio soluble desnaturaliza la proteína, causando que se adhiera a las paredes de los recipientes de mezcla, y afecte negativamente a la cantidad de proteína entregada al niño prematuro.

Como se discutió antes, la proteína es crucial para el crecimiento de los niños prematuros. La pérdida de proteína ayuda a explicar la diferencia en crecimiento observada en niños pretérmino complementados con el reforzante en polvo para leche humana disponible comercialmente, que contiene calcio soluble, y el reforzante en polvo de la presente invención, para leche humana, que contiene calcio insoluble (ver Experimentos III y IV).

Experimento III

El objetivo principal del estudio fue demostrar que el reforzante en polvo de la presente invención, añadido a leche humana (LH), respaldaría un crecimiento aceptable en niños pretérmino. Un segundo objetivo fue evaluar las bioquímicas del suero (esto es, situación de la proteína, calcio, fosfatasa alcalina), tolerancia, problemas clínicos, y morbilidad de los niños prematuros que consuman el módulo nutricional. Otro objetivo secundario fue comparar el polvo nutricional de la presente invención con un reforzante en polvo comercial que haya estado en uso durante algunos años.

Se condujo un estudio multicentro, doble ciego, aleatorio, prospectivo, por intención de tratar, para evaluar niños pretérmino recibiendo leche pretérmino complementada con un reforzante en polvo para leche humana, disponible comercialmente (Enfamil® Human Milk Fortifier, control), o con el reforzante en polvo de la invención actual (experimental) en cada alimentación. Los sujetos fueron inscritos y aleatorizados para cada reforzante en polvo, antes de los 21 días de vida. El Día 1 del estudio fue cuando hubo empezado el reforzamiento con el reforzante en polvo del estudio, y el sujeto alcanzó una ingesta de al menos 100 ml/kg/día. Se evaluaron los índices antropométricos, las bioquímicas del suero, la ingesta, la tolerancia, y los datos de morbilidad. Cada niño fue estudiado hasta que fue dado de alta del hospital; únicamente las variables antropométricas (peso, longitud, y circunferencia craneal) fueron recogidas después del Día 29 del estudio.

Los niños prematuros fueron alistados de unidades de cuidado intensivo neonatal que estuvieron de acuerdo en colaborar con los investigadores del estudio ubicados en Salt Lake City, UT; Houston, TX; Indianápolis, IN; Kansas, City, MO; Louisville, KY; y Omaha, NE.

Para participar fueron elegibles niños de partos sencillos, dobles, o triples, nacidos con ≤ 33 semanas de edad gestacional, con un adecuado peso para su edad gestacional, y pesando ≤ 1.600 g. Fueron aleatorizados ciento cuarenta y cuatro niños para control o experimental; 70 niños pretérmino fueron aleatorizados para el grupo de control y 74 niños pretérmino fueron aleatorizados para el grupo experimental. La aleatorización fue proporcional para el peso de nacimiento (< 1.100 g y ≤ 1.100 g) y género.

En la Tabla 8 está listado el contenido en nutrientes de los dos reforzantes en polvo añadidos a la leche humana.

TABLA 8

Contenido de nutrientes de la leche humana, control y reforzantes experimentales

Nutrientes	Leche Pretérmino-Madura* (por 100 ml)	Control** (por 3'8 g)	Experimental*** (por 3'6 g)	
			Lote 1	Lote 2
Energía, kcal/ml	67	14	13'8	14
Proteína, g fuente	1'4 leche humana madura	0'7 concentrado de proteína de suero/caseinato sódico	1'0 concentrado de proteína de suero/leche descremada en polvo	1'0 concentrado de proteína de suero/leche descremada en polvo
Grasa, g fuente	3'9 leche humana madura	< 0'1 ninguna añadida	0'41 aceite TCM	0'37 aceite TCM
Carbohidrato, g fuente	6'6 lactosa	2'7 sólidos de jarabe de maíz	1'6 sólidos de jarabe de maíz	1'7 sólidos de jarabe de maíz
Vitaminas				
A, UI	389	950	640	763
D, UI	2'0	210	134	145
E, UI	1'0	4'6	3'4	3'5
K, mcg	0'21 ^a	4'40	8'50	8'80
Tiamina (B-1), mg	0'021 ^a	0'151	0'270	0'300
Riboflavina (B-2), mg	0'048	0'210	0'460	0'500
B-6, mg	0'015	0'114	0'230	0'240
B-12, mcg	0'05 ^a	0'18	0'85	0'83
Niacina, mg	0'15 ^a	3'0	0'40	0'42
Ácido fólico, mcg	3'3	25	30	27
Ácido pantoténico, mg	0'18 ^a	0'73	1'60	1'40
Biotina, mcg	0'4	2'7	30'0	33'0
C, mg	11	11'6	23'3	60'0
Minerales				
Calcio, mg	25	90	131	118
Fósforo, mg	13	45	68	67
Magnesio, mg	3'2	1'0	7'7	7'7
Zinc, mg	0'34	0'71	1'30	1'2
Manganeso, mcg	0'6	4'7	9'2	12'0
Cobre, mg	0'064	0'062	0'200	0'200
Sodio, mg	25'0	7'0	17'5	17'5
Potasio, mg	57	15'6	72'0	72'0
Cloruro, mg,	55'0	17'7	40'0	40'0
Hierro, mg	0'12	---	0'35	0'45
Selenio, µg	2'3	---	1'4	0'99
** Cantidades añadidas a cada 100 ml de leche humana (4 paquetes de reforzante en polvo). Los valores están declarados en la etiqueta.				
*** Cantidades añadidas a cada 100 ml de leche humana (4 paquetes de reforzante en polvo). Los valores son valores analizados.				
^a Se utilizaron los valores para la leche humana madura.				

Las variables independientes (tratamientos) fueron el reforzante en polvo de control y el reforzante en polvo experimental, los cuales fueron añadidos a LH. Ambos reforzantes fueron suministrados en pequeños paquetes en forma de polvo, y fueron añadidos a 25 ml de LH.

ES 2 243 252 T3

La variable principal de la consecuencia fue el aumento de peso (g/kg/día) a partir del día 1 del estudio hasta el día 29 del estudio o el alta, lo que primero llegase. Las variables secundarias de la consecuencia fueron el aumento de longitud (mm/día) y las bioquímicas del suero para evaluar la situación de la proteína, el estado de los electrolitos, la homeostasis mineral, y el estado de las vitaminas A y E. Las bioquímicas del suero también incluyeron los resultados de laboratorio no programados registrados en el diagrama médico. Las variables terciarias incluyeron el aumento de la circunferencia craneal (mm/día), historia clínica, ingesta, tolerancia, problemas clínicos/morbilidad, estado respiratorio, uso de antibióticos, y el número de transfusiones.

Las ingestas energéticas totales medias durante el periodo del estudio no fueron diferentes entre los dos grupos. Los niños alimentados con leche humana reforzada de control recibieron $118'0 \pm 2'2$ kcal/kg/día, mientras que los niños alimentados con leche humana reforzada experimental recibieron $118'0 \pm 1'6$ kcal/kg/día. Hubo diferencia en la ingesta proteica media entre los dos grupos. Los niños alimentados con leche humana reforzada de control recibieron $3'1 \pm 0'1$ g de proteína/kg/día, mientras que los niños alimentados con leche humana reforzada experimental recibieron $3'5 \pm 0'1$ g de proteína/kg/día, lo cual es coherente con el escasamente superior contenido de proteína del reforzante en polvo experimental.

Hubo diferencias coherentes entre los niños en los grupos de reforzantes en polvo con respecto al crecimiento (peso, longitud, circunferencia craneal), con el grupo de control siempre creciendo más lentamente. La diferencia significativa en el aumento de peso para los análisis primarios entre los grupos fue $2'6$ g/kg/día (experimental>control; $p<0'0005$). La diferencia significativa en el aumento de longitud para los análisis primarios entre los grupos fue $0'2$ mm/día (experimental>control; $p<0'05$). Aunque los análisis primarios para el aumento de circunferencia craneal no fueron diferentes entre los grupos, hubo una diferencia significativa en el aumento de circunferencia craneal de $0'15$ mm/día cuando se analizó a partir del día 1 del estudio hasta la última alimentación con reforzante en polvo. Además, las diferencias en aumentos de peso, longitud, y circunferencia craneal entre los grupos fueron incluso mayores en el grupo de niños evaluable que en el grupo por intención de tratar. Las diferencias significativas en los aumentos de peso, longitud, y circunferencia craneal ($p<0'0005$; $p<0'05$; y $p<0'001$, respectivamente) para los análisis primarios fueron $4'07$ g/kg/día, $0'23$ mm/día, y $0'30$ mm/día, respectivamente, con el grupo de control creciendo más lentamente.

Las diferencias en las bioquímicas del suero entre los grupos fueron también muy coherentes con los grupos por intención de tratar y evaluable. De la más importancia clínica fueron los valores medios de fosfatasa alcalina y de calcio. En el grupo por intención de tratar, los valores medios de fosfatasa alcalina entre los niños aleatorizados para el grupo experimental parecieron ser superiores comparados con los de los niños aleatorizados para el grupo de control (327 U/l frente a 272 U/l, respectivamente); sin embargo, los valores medios para ambos grupos disminuyeron hacia el día 29 del estudio. Además, la fosfatasa alcalina media estuvo en el intervalo normal para ambos grupos. Los resultados fueron similares en el grupo evaluable. Por contraste, en el grupo por intención de tratar, los valores medios de calcio en suero entre niños alimentados con el reforzante en polvo de control tendieron a ser superiores, en su totalidad, que entre los niños alimentados con el reforzante en polvo experimental ($p=0'069$). Como se esperaba, en el grupo evaluable las diferencias globales fueron mayores, con valores medios de calcio de $11'2$ mg/dl en el grupo de control y $10'3$ mg/dl en el grupo experimental ($p=0'016$). Un valor mayor de 11 mg/dl está considerado en el intervalo superior, y hace pensar en hipercalcemia.

No hubo diferencias significativas entre los grupos con respecto a los problemas clínicos de datos de morbilidad. La tolerancia en general fue excelente para ambos productos. La única diferencia estuvo en los episodios de vómito, con el grupo de control teniendo un mayor número (porcentaje) de días con episodios de vómito que el grupo experimental (18% frente al 11% ; $p<0'01$). El grupo de control también tuvo un número de niños estadísticamente mayor que abandonaron tempranamente el estudio por razones de residuos gástricos y/o distensión abdominal, del que lo tuvo el grupo experimental (6 frente a 0 ; $p=0'012$).

Los descubrimientos principales de este estudio sugieren que los incrementos en proteína, la adición de grasa y un emulsificante, y el uso de calcio insoluble en el reforzante en polvo de la presente invención producen drásticas mejoras en la acción de crecimiento de niños con bajo peso al nacer, incluso aunque no haya sido cambiada la densidad calórica.

55 Experimento IV

Los experimentos anteriores describen cada uno los beneficios positivos de utilizar calcio insoluble como la fuente de calcio de elección en el reforzante de la presente invención. Deja atrás menos proteína en los recipientes de mezcla, lo que demuestra los beneficios positivos en el crecimiento de niños prematuros. Sin embargo, la mineralización ósea es una preocupación con el empleo de calcio insoluble.

Los objetivos de este estudio fueron similares a los del Experimento III. Al protocolo se añadió una evaluación preliminar de la biodisponibilidad de minerales, específicamente calcio, del reforzante en polvo de la presente invención, mediante documentación de la densidad ósea del antebrazo de niños prematuros complementados con el reforzante en polvo de la presente invención, el cual contiene calcio insoluble. Estos valores de densidad ósea del antebrazo fueron comparados con los de niños prematuros complementados con un reforzante en polvo disponible comercialmente, que contiene calcio soluble.

ES 2 243 252 T3

5 El protocolo fue como se describió en el Experimento III. Se condujo un estudio doble ciego, aleatorio, prospectivo, para evaluar los niños pretérmino que reciben la leche de su propia madre complementada con un reforzante en polvo comercial para leche humana conteniendo calcio soluble (Enfamil® Human Milk Fortifier, control), o con el reforzante en polvo de la presente invención conteniendo calcio insoluble (experimental), en cada alimentación. Se evaluaron los índices antropométricos, las bioquímicas del suero, y la densidad ósea del antebrazo, se estudiaron la grasa y la masa magra en los días 1, 15 y 29. Se escaneó el antebrazo de los niños utilizando el método de absorción de rayos X de energía doble.

10 Para participar fueron elegibles niños de partos individuales, dobles, o triples nacidos con ≤ 33 semanas de edad gestacional, con un adecuado peso para su edad gestacional, y pesando ≤ 1.500 g. Fueron aleatorizados ciento cuarenta y tres niños para control o experimental.

15 En el día 1, entre los grupos de control y experimental no había diferencias en peso, longitud, circunferencia craneal o densidad ósea del antebrazo, grasa y masa magra.

20 Las ingestas energéticas totales medias durante el periodo del estudio fueron similares (110 ± 15 frente a 114 ± 9 kcal/dg/día). Sin embargo, hubo una diferencia significativa en aumento de peso entre los grupos, 18 ± 2 frente a 15 ± 3 g/kg/día (experimental>control; $p=0'0003$). No hubo diferencias en aumentos de longitud o circunferencia craneal entre los dos grupos, y las bioquímicas del suero fueron similares entre los grupos. Al día 15, el grupo experimental tenía una masa magra mayor que los controles, 16 ± 3 g frente a 14 ± 3 g ($p<0'05$).

25 El contenido en minerales de los huesos ($0'608 \pm 0'172$ frente a $0'631 \pm 0'175$ g/cm) y la masa grasa ($6'9 \pm 3'3$ frente a $7'5 \pm 3'7$ g) fueron similares durante el estudio.

30 Estos descubrimientos sugieren que el calcio insoluble del reforzante en polvo de la presente invención estaba tan disponible como el calcio soluble del reforzante en polvo de control. Adicionalmente, los descubrimientos de crecimiento de este estudio son coherentes con los resultados del estudio previo. Estos descubrimientos sugieren que el reforzante en polvo de la presente invención proporciona una ganancia superior de peso en niños pretérmino que un reforzante en polvo comercial, y sugieren que el aumento de peso puede ser a partir de la ganancia de masa magra.

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 243 252 T3

REIVINDICACIONES

1. Un reforzante en polvo para leche humana, constando de:

5 a. un componente proteico presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

10 b. un componente graso presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo para leche humana, en donde dicho componente graso comprende además un emulsificante presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 10% p/p de dicho componente graso, y

c. un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo para leche humana.

15 2. El reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 1, constando además de al menos un nutriente adicional seleccionado del grupo que se compone de vitamina A, vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina B₁₂, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina, m-inositol, calcio, fósforo, magnesio, zinc, manganeso, cobre, sodio, potasio, cloruro, hierro, selenio, cromo, molibdeno, carnitina y taurina.

20 3. El reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 2, en donde dicha fuente de calcio es insoluble.

4. Un reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 1, comprendiendo:

25 a. un componente proteico presente en una cantidad desde el 25% p/p hasta el 42% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

30 b. un componente graso presente en una cantidad desde el 5% p/p hasta el 20% p/p del reforzante en polvo para leche humana, en donde dicho componente graso comprende además un emulsificante presente en una cantidad desde el 1'5% p/p hasta el 5'0% p/p de dicho componente graso,

c. un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 38% p/p hasta el 70% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

35 d. al menos un nutriente adicional seleccionado del grupo que se compone de vitamina A, vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina B₁₂, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina, m- inositol, calcio, fósforo, magnesio, zinc, manganeso, cobre, sodio, potasio, cloruro, hierro, selenio, cromo, molibdeno, carnitina y taurina, y en donde dicha fuente de calcio es insoluble.

40 5. Una dosis unitaria de reforzante en polvo para leche humana, constando de:

a. un recipiente, y

45 b. un reforzante en polvo para leche humana comprendiendo:

i. un componente proteico presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

50 ii. un componente graso presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo para leche humana, en donde dicho componente graso comprende además un emulsificante presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 10% p/p de dicho componente graso, y

55 iii. un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo para leche humana.

60 6. La dosis unitaria de reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 5, en donde el reforzante en polvo para leche humana consta, además, de al menos un nutriente adicional seleccionado del grupo que se compone de vitamina A, vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina B₁₂, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina, m-inositol, calcio, fósforo, magnesio, zinc, manganeso, cobre, sodio, potasio, cloruro, hierro, selenio, cromo, molibdeno, carnitina y taurina.

7. La dosis unitaria de reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 6, en donde dicha fuente de calcio es insoluble.

65 8. La dosis unitaria de reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 5, en donde el reforzante en polvo para leche humana está presente en la cantidad desde 0'5 g hasta 10 g por dosis unitaria.

ES 2 243 252 T3

9. Una dosis unitaria de reforzante en polvo para leche humana, constando de:

a. un recipiente, y

5 b. el reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 4, presente en una cantidad desde 0'8 g hasta 5'0 g por dosis unitaria.

10. El uso de un reforzante en polvo, para leche humana, para la fabricación de una formulación para proporcionar nutrientes complementarios a niños pretérmino, añadiendo a leche humana el reforzante en polvo para leche humana, y mediante la administración de la leche humana reforzada a un niño prematuro, dicho reforzante en polvo para leche humana constando de:

15 a. un componente proteico presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

b. un componente graso presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo para leche humana, y

20 c. un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo para leche humana.

11. El uso según la Reivindicación 10, en donde dicho componente graso comprende además un emulsificante presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 10% p/p de dicho componente graso.

25 12. El uso según la Reivindicación 10, en donde se administra, por día, 0'5 g hasta 10 g de reforzante en polvo para leche humana.

13. El uso de leche humana reforzada constando de:

30 a. leche humana, y

b. un reforzante en polvo, para leche humana, para la fabricación de una formulación para favorecer el crecimiento de un niño prematuro mediante la administración de la leche humana reforzada a un niño prematuro, dicho reforzante en polvo para leche humana comprendiendo:

35 i. un componente proteico presente en una cantidad desde el 24% p/p hasta el 55% p/p del reforzante en polvo para leche humana,

40 ii. un componente graso presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 30% p/p del reforzante en polvo para leche humana, y

iii. un componente carbohidrato presente en una cantidad desde el 15% p/p hasta el 75% p/p del reforzante en polvo para leche humana.

45 14. El uso según la Reivindicación 13, en donde dicho reforzante en polvo para leche humana consta además de un emulsificante presente en una cantidad desde el 1% p/p hasta el 10% p/p de dicho componente graso.

50 15. El uso según la Reivindicación 10 ó 13, en donde dicho reforzante en polvo para leche humana consta, además, de al menos un nutriente adicional seleccionado del grupo que se compone de vitamina A, vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina B₁₂, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina, m-inositol, calcio, fósforo, magnesio, zinc, manganeso, cobre, sodio, potasio, cloruro, hierro, selenio, cromo, molibdeno, carnitina y taurina.

55 16. El uso según la Reivindicación 15, en donde dicha fuente de calcio es insoluble.

17. El uso de un reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 4, para la fabricación de una formulación para proporcionar nutrientes complementarios a niños pretérmino, añadiendo a leche humana el reforzante en polvo para leche humana, y mediante la administración de la leche humana reforzada a un niño prematuro.

60 18. El uso de una leche humana reforzada constando de:

a. leche humana, y

65 b. el reforzante en polvo para leche humana según la Reivindicación 4, para la fabricación de una formulación para favorecer el crecimiento de un niño prematuro mediante la administración de dicha leche humana reforzada a un niño prematuro.