



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 573**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/30** (2006.01)

**A23L 1/308** (2006.01)

**A61K 31/7024** (2006.01)

**A61K 31/715** (2006.01)

**A61K 35/74** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08766875 .2**

96 Fecha de presentación : **04.07.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2173196**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.04.2010**

54 Título: **Uso de probióticos y fibras para la diarrea.**

30 Prioridad: **06.07.2007 EP 07111951**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**07.06.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**07.06.2011**

73 Titular/es: **N.V. NUTRICIA  
Eerste Stationsstraat 186  
2712 HM Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es: **Bindels, Jacques y  
Goedhart, Anna Christina**

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

**ES 2 360 573 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

Uso de probióticos y fibras para la diarrea

## CAMPO DE LA INVENCION

- 5 [0001] La invención se refiere al campo de la nutrición de los bebés que comprende probióticos y fibras para la prevención y/o el tratamiento de la diarrea.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 [0002] La diarrea es un serio problema de salud, un significativo contribuidor de desnutrición, y a esto se asocia un cuarto de todas las muertes de niños que tienen menos de 5 años, especialmente bebés, en los países del tercer mundo. Cada año, la diarrea causa más de un billón de episodios de enfermedad, con un promedio global de 3 episodios por cada niño y casi 5 millones de muertos a nivel mundial.

- 15 [0003] Las recomendaciones actuales exponen que el tratamiento de la diarrea aguda incluye la sustitución del fluido y de los electrolitos que se han perdido con un soporte nutritivo, especialmente en los bebés. Sin embargo este tratamiento no acorta la duración de la diarrea. Los métodos para acortar la duración de la diarrea incluyen el uso de antibióticos, fármacos anti-motilidad y anti-secretorios. Pero estos no son siempre eficaces y están frecuentemente seguidos por efectos secundarios serios. Hay un consenso general en que los agentes farmacológicos son inútiles en el tratamiento de gastroenteritis aguda en los bebés.

[0004] Probióticos, especialmente las especies de *Lactobacillus*, han sido utilizados como profilaxis así como una terapia para acelerar la cura de la diarrea.

- 20 [0005] EP 0904784 se refiere a una preparación nutritiva para la prevención y el tratamiento de los trastornos del tracto gastrointestinal, que comprende una bifidobacteria, *Enterococcus faecium* y una cepa de *Lactobacillus*, y que contengan preferiblemente compuestos prebióticos. La preparación puede ser bajo forma de un suplemento de alimentos, una composición de alimentos listos, una fórmula para bebés o una alimentación por sonda, que puede comprender también fibras.

- 25 [0006] WO 2006/046871 se refiere a composiciones que comprenden *L. rhamnosus* y opcionalmente fibras para el tratamiento y/o la prevención de sepsis, bacteremia y/o endotoxaemia. US 6,241,983 se refiere a las composiciones para fomentar la salud gastrointestinal que contienen probióticos y fibras dietéticas. Los microorganismos intestinales humanos benéficos incluyen lactobacilos y bifidobacterias.

- 30 [0007] WO 2006/110406 se refiere a composiciones que comprenden un componente probiótico y un componente dulcificante.

[0008] WO 2005/039319 se refiere a composiciones que comprenden mezclas de oligosacáridos no digeribles y *Bifidobacterium breve*.

[0009] WO 2006/091103 se refiere a composiciones que comprenden *Bifidobacterium breve*, dos oligosacáridos no digeribles y opcionalmente *Lactobacillus paracasei*.

## 35 RESUMEN DE LA INVENCION

- 40 [0010] Los inventores han descubierto que una composición que comprende *L. rhamnosus* en combinación con la inulina y los polisacáridos de soja (PS de soja) tiene un efecto provechoso en la disminución de la duración de la diarrea por lo menos similar a aquella conseguida por *L. rhamnosus* solo, mientras en el mismo tiempo se restablece la microbiota ofreciendo sustratos fermentables al colon y se restablece la atrofia mucosa provocada por la diarrea y al final se restablecen también los déficits nutritivos. La combinación de tanto *L. rhamnosus* e inulina y PS de soja dará más ventajas en la reducción de la diarrea en los bebés y mejorará la supervivencia de bacterias vivas en los productos alimenticios. Todo eso tiene como consecuencia un tiempo de conservación prolongado y un número aumentado de bacterias ingeridas que alcanzan el colon en una forma viable, una estimulación en el colon en el crecimiento y en la implantación de las dos bacterias endógenas y exógenas y la activación del metabolismo de estas bacterias y ejerciendo una acción a lo largo del intestino delgado y el colon.

- 45 [0011] La presencia de los polisacáridos de soja insolubles absorbe ventajosamente el agua de las heces líquidas. Una composición que comprende una combinación de *L. rhamnosus*, inulina y polisacáridos de soja combina ventajosamente la disminución de los efectos de la diarrea, como la estimulación del sistema inmunológico, y la supervivencia de la cepa probiótica y la microbiota mejorada, efectos anti-patógenos, la retención de minerales mejorada, retención de agua mejorada, reparación de las paredes intestinales mejorada y/o la restauración de los déficits nutritivos. Los efectos sobrepasan los efectos de los componentes únicos.

## DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

- 55 [0012] La presente invención se refiere a un método para el tratamiento y/o la prevención de la diarrea en un sujeto humano, en particular de la diarrea aguda. Este método comprende la administración de una composición que comprende *Lactobacillus rhamnosus*, inulina y polisacáridos de soja a este sujeto humano. En otras palabras la

presente invención se refiere al uso de una composición que comprende *Lactobacillus rhamnosus*, inulina y polisacáridos de soja para la producción de una composición nutritiva para el tratamiento y/o la prevención de la diarrea en un sujeto humano. La presente invención puede también ser nombrada como una composición que comprende *Lactobacillus rhamnosus*, inulina y polisacáridos de soja para el tratamiento y/o la prevención de la diarrea, en particular de la diarrea aguda, en un sujeto humano.

#### *Lactobacillus rhamnosus*

[0013] La presente composición comprende *Lactobacillus rhamnosus*. Entre las especies de lactobacilos presentes en los intestinos humanos esta especie es una de las más abundantes y las cepas que pertenecen a esta especie se han revelado eficaces en la prevención y/o el tratamiento de la diarrea, incluyendo la diarrea aguda en los bebés. El mecanismo de prevención o de tratamiento de la diarrea se afirma para implicar la estimulación del sistema inmunológico y mejorar la microbiota y/o los efectos directos anti-patógenos. Preferiblemente este *Lactobacillus rhamnosus* tiene por lo menos 95 y más preferiblemente al menos 97 e incluso más preferiblemente al menos 99 % de la identidad de la secuencia de ARNr 16S cuando se compara con la cepa de tipo de *L. rhamnosus* ATCC 7469 (Stackebrandt & Goebel; 1994, Int. J. Syst. Bacteriol. 44:846-849). *L. rhamnosus* ejerce su efecto anti-diarroico en el intestino delgado al igual que en el colon. *L. rhamnosus* es el preferido sobre el uso de bifidobacterias, pues este ejerce su acción también en el intestino delgado, la ubicación donde se desarrollan más frecuentemente las infecciones que son la causa de la diarrea, mientras que las bifidobacterias son activas sólo en el intestino grueso. Así, utilizando *L. rhamnosus* en lugar de las bifidobacterias hay la ventaja que la diarrea es combinada también en el intestino delgado. Entre las especies de lactobacilos *L. rhamnosus* es el preferido, pues las cepas de estas especies son las más abundantes en el intestino, las más robustas y las más eficaces contra la diarrea.

[0014] Las cepas preferidas de *L. rhamnosus* son aquellas aisladas de las heces de los bebés alimentados por leche humana saludables. Diferentes cepas de *L. rhamnosus* son disponibles comercialmente por productores de bacterias del ácido láctico, pero ellas pueden también ser directamente aisladas de heces, identificadas, caracterizadas y producidas. Según una forma de realización preferida, la presente composición contiene por lo menos una *L. rhamnosus* seleccionada del grupo que consiste en *L. rhamnosus* LCS-742 (Morinaga), *L. rhamnosus* LR-35 (Chr. Hansen), *L. rhamnosus* GG (Valio), *L. rhamnosus* HN001 (Howaru), *L. rhamnosus* R1039; R0011; R0049 (Lallemand), *L. rhamnosus* LBA 12.5U, LR-32 (Rhodia), *L. rhamnosus* 271 231 (Probi AB), *L. rhamnosus* KC1 (DSM), *L. rhamnosus* LMG P-22799. Más preferiblemente, *L. rhamnosus* es la cepa *Lactobacillus* GG (ATCC 53103). Más preferiblemente *L. rhamnosus* es la cepa LMG P-22799. La cepa LMG P-22799 de *L. rhamnosus* es una cepa que muestra buenas propiedades tecnológicas y no resistencias antibióticas indeseadas y una alta supervivencia en el tracto gastro-intestinal y una buena adherencia bueno a las células intestinales y una buena prevención de adhesión de patógenos intestinales a células intestinales.

[0015] La presente composición comprende preferiblemente de  $10^2$  a  $10^{12}$  unidades formadoras de colonias (cfu) de *L. rhamnosus* por gramo de peso en seco de la presente composición, preferiblemente  $10^4$  a  $10^{11}$  y más preferiblemente  $10^5$  a  $10^{10}$  y de la forma más preferible de  $10^5$  a  $5 \times 10^9$ . Por 100 ml de composición lista para el uso la presente composición comprende preferiblemente  $10^3$  a  $10^{13}$  cfu del *L. rhamnosus*, preferiblemente  $10^4$  a  $10^{12}$  y más preferiblemente  $10^5$  a  $10^{11}$  y de la forma más preferible de  $10^6$  a  $5 \times 10^{10}$  cfu. La dosis de *L. rhamnosus* según la presente invención es preferiblemente administrada a una dosis diaria de  $10^2$  a  $10^{13}$  y más preferiblemente de  $10^5$  a  $10^{11}$  y de la forma más preferible de  $10^7$  a  $5 \times 10^{10}$  cfu.

#### Inulina

[0016] La presente composición comprende inulina. Inulina es una fibra soluble en agua que se puede fermentar por la microbiota humana. Inulina es aquí definida como un oligosacárido no digerible que comprende una cadena de unidades de fructosa enlazadas en  $\beta$  con un grado de polimerización (DP) de 2 a 250, con más de 90% de las unidades de fructosa enlazadas con un enlace beta (2 $\rightarrow$ 1). La cadena de fructosa puede o no ser terminada por una unidad de glucosa. Inulina puede por lo tanto ser descrita como GF<sub>n</sub> o Fn donde G representa una unidad de glucosilo, F representa una unidad de fructosilo y n es el número de unidades de fructosilo enlazadas entre ellas, n es 2 o más. Preferiblemente, el promedio de DP de la inulina utilizada en la presente invención es 7 o más. El promedio de DP es preferiblemente por lo menos 10 y más preferiblemente por lo menos 20. Una inulina adecuada es por ejemplo aquella disponible comercialmente como Raftiline ST, RaftilineHP (Orafti) o Frutafit (Sensus). El uso de inulina con un promedio de DP encima de 7 y más preferiblemente 10 y a lo mejor 20 reduce la carga osmótica en el intestino en comparación con inulina con un promedio de DP más pequeño, así se previenen los efectos laxativos deletéreos, que son generalmente mal aceptados por quien sufre de diarrea.

[0017] La presencia de inulina estimula selectivamente el crecimiento y/o la actividad de las bacterias intestinales, especialmente de los lactobacilos. Esta estimulación ocurre especialmente en el colon. De esa manera se reduce ventajosamente el pH y se forman los ácidos orgánicos como el lactato y los ácidos grasos de cadena corta (incluyendo especialmente butirato) que tienen efectos antipatógenos (incluyendo patógenos que causan diarrea) y sirven como combustible para los enterocitos (que restauran así la pared intestinal), y que ayudan en la retención mineral que es especialmente ventajosa durante la diarrea. Además la inulina estimula el crecimiento, la supervivencia y/o la actividad metabólica de la cepa probiótica *L. rhamnosus* a lo largo del tracto intestinal. Esto incluye no sólo el intestino grueso, sino que también ventajosamente el intestino delgado.

[0018] La presente composición nutritiva comprende preferiblemente al menos 0.5 mg de inulina por g de peso en

seco de la composición, preferiblemente al menos 1.5 mg, más preferiblemente al menos 5 mg, incluso más preferiblemente al menos 10 mg. Preferiblemente, la presente composición no comprende más que 0.5 g de inulina por g peso en seco de la composición y más preferiblemente no más que 0.35 g, incluso más preferiblemente no más que 0.2 g y de la forma más preferible no más que 0.1 g. La presente composición nutritiva comprende preferiblemente al menos 5 mg de inulina por 100 ml de la presente composición líquida, preferiblemente al menos 15 mg y más preferiblemente al menos 50 mg por 100 ml, incluso más preferiblemente al menos 100 mg. Preferiblemente, la presente composición no comprende más que 10 g de inulina por 100 ml y más preferiblemente no más que 5 g por 100 ml, incluso más preferiblemente no más que 2 g por 100 ml y de la forma más preferible no más que 1 g por 100 ml. La presente inulina es preferiblemente administrada en una dosis diaria de 0.1 a 10 g, más preferiblemente de 0.2 a 5 g y más preferiblemente de 0.5 a 3 g.

#### Polisacáridos de soja

[0019] La presente composición comprende polisacáridos de soja. En la presente invención los términos polisacárido de soja (PS) y fibra de soja pueden ser utilizados de forma intercambiable y son definidos como los polisacáridos sin almidón muy insolubles aislados de la soja. Cuando se hace referencia a los polisacáridos de soja en la presente invención, los polisacáridos son definidos como sacáridos con un DP encima de 10 y más preferiblemente encima de 20 y todavía más preferiblemente encima de 50 y a lo mejor encima de 100. Una fuente adecuada para fibra de soja es Fibrim (Solae). Los polisacáridos de soja contienen fibras dietéticas tanto celulósicas como no celulósicas. Fuentes típicamente disponibles comercialmente de polisacáridos de soja adecuados para la presente invención comprenden, basados en el método oficial AOAC, 72-78% de la fibra dietética total y el componente de fibra consiste en aproximadamente 94-95 % de fibra insoluble en agua (celulosa y hemicelulosa) y aproximadamente 5-6 % de fibra soluble en agua (polisacáridos tipo arabinogalactano). La presencia de los polisacáridos de soja insolubles tiene la ventaja de apartar el agua de las heces líquidas. Además, la presencia de PS de soja ventajosamente resulta en la formación de butirato. El butirato es un combustible para enterocitos y ayuda a reparar el daño intestinal provocado por las reacciones inflamatorias contra los patógenos que causan diarrea.

[0020] La presente composición nutritiva comprende preferiblemente al menos 0.8 mg de PS de soja por g de peso en seco de la composición y preferiblemente al menos 2.5 mg, más preferiblemente al menos 8 mg, incluso más preferiblemente al menos 15 mg por g de peso en seco. Preferiblemente, la presente composición no contiene más de 0.8 g PS de soja por g de peso en seco de la composición, más preferiblemente no más de 0.6 g, incluso más preferiblemente no más de 0.35 g, de la forma más preferible 0.15 g por g de peso en seco. La presente composición nutritiva comprende preferiblemente al menos 8 mg de PS de soja por 100 ml de la presente composición líquida y preferiblemente al menos 25 mg, más preferiblemente al menos 80 mg por 100 ml, incluso más preferiblemente al menos 150 mg por 100 ml. Preferiblemente, la presente composición no contiene más de 15 g de PS de soja por 100 ml, más preferiblemente no más de 8 g por 100 ml, incluso más preferiblemente no más de 3 g por 100 ml, de la forma más preferible no más de 1.5 g por 100 ml. El presente PS de soja es preferiblemente administrado en una dosis diaria de 0.15 a 15 g, más preferiblemente 0.3 a 8 g, más preferiblemente de 0.8 a 5 g.

[0021] Preferiblemente la proporción en peso de PS de soja: inulina es entre 5 : 0.2 y más preferiblemente entre 3 : 0.5, incluso más preferiblemente entre 2 : 1. Una proporción equilibrada entre inulina y PS de soja es ventajosa pues asegura una proporción apropiada de fibras insolubles y solubles y sus diferentes efectos beneficiosos en la diarrea. Para el interés de claridad se señala que "proporción en peso de PS de soja : inulina es entre 5 : 0.2" significa que el peso de PS de soja dividido por el peso de inulina da un número que se extiende entre 5 y 0.2.

Una composición que comprende una combinación de *L. rhamnosus*, inulina y polisacáridos de soja combina ventajosamente la disminución de los efectos de la diarrea, tal como la estimulación del sistema inmunológico y la supervivencia mejorada de la cepa probiótica y también la mejora de la microbiota y de los efectos anti-patógenos, mejor retención de minerales y del agua y mejor reparación de la pared intestinal y/o restauración de déficits nutritivos, a lo largo del tracto intestinal entero. Los efectos se asumen por exceder los efectos de los componentes únicos. Especialmente la combinación de *L. rhamnosus*, PS de soja e inulina resulta en una formación aumentada por ácidos grasos de la cadena corta, incluyendo butirato y lactato y una acción mejorada en el intestino delgado. Preferiblemente la composición comprende de  $10^4$  a  $10^{12}$  unidades formadoras de colonias (cfu) de *L. rhamnosus* por gramo de PS de soja más inulina, preferiblemente de  $10^6$  a  $10^{11}$ , más preferiblemente de  $10^7$  a  $10^{10}$ , de la forma más preferible de  $10^6$  a  $5 \times 10^9$  cfu.

#### Micronutrientes

[0022] La presente composición comprende preferiblemente zinc. La deficiencia de cinc es altamente predominante en los niños en los países del tercer mundo. Los suplementos de cinc dados durante la diarrea reducen la duración y la gravedad de los episodios tratados. Durante la diarrea ocurre generalmente una sobreproducción de óxido nítrico (NO), que induce la secreción y el daño celular como un radical libre. La adición de cinc podría contribuir en mejorar el estado fisiológico del intestino delgado y potencialmente reducir los riesgos de episodios recurrentes de diarrea. Preferiblemente la composición comprende por lo menos 35 µg de zinc por g de peso en seco de la composición y más preferiblemente al menos 60 µg. Preferiblemente la composición no comprende más que 250 µg de zinc por g de peso en seco de la composición.

La presente composición comprende preferiblemente hierro para reemplazar la pérdida de hierro. Además, el hierro reduce la duración de la diarrea. Preferiblemente la composición comprende al menos 40 µg por g de peso en seco y

más preferiblemente al menos 80 µg. Preferiblemente la composición no comprende más que 250 µg de hierro por g de peso en seco de la composición.

5 Preferiblemente la composición comprende tanto zinc como hierro, pues una suplementación simultánea de zinc y hierro fue descubierta eficaz para reducir el riesgo de la diarrea severa. Preferiblemente la proporción en peso de hierro a zinc es entre 0.8 y 1.3. Una proporción equilibrada de zinc y hierro asegura una absorción apropiada tanto de zinc como hierro.

#### Composición nutritiva

10 [0023] La presente composición es especialmente adecuada para el suministro de los requisitos diarios nutritivos a un bebé con edad menor de 36 meses y particularmente un bebé con edad menor de 24 meses y a lo mejor un bebé con edad menor de 12 meses. Por lo tanto, la presente composición comprende preferiblemente un lípido, proteína y componente de carbohidrato digerible donde el componente lípido proporciona de 20 a 55% de las calorías totales y el componente de proteína proporciona de 5 a 15% de las calorías totales y el componente de carbohidrato digerible proporciona de 30 a 75% de las calorías totales. Preferiblemente la presente composición comprende un componente lípido que proporciona de 25 a 50 % de las calorías totales y un componente de proteína que  
15 proporciona de 6 a 13% de las calorías totales y un componente de carbohidrato digerible que proporciona de 40 a 65% de las calorías totales.

20 [0024] Cuando se encuentra en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para usar, la composición comprende preferiblemente de 1.0 a 6.5 g de grasa por 100 ml y más preferiblemente de 1.8 a 4.0 g por 100 ml. Basado en peso en seco, la presente composición comprende preferiblemente de 8 a 40 % de grasas en peso y más preferiblemente de 12 a 30 % en peso. La cantidad de ácidos saturados grasos es preferiblemente menor de 58 % en peso basado en ácidos grasos totales y más preferiblemente menor de 45 % en peso. La concentración de ácidos grasos monoinsaturados varía preferiblemente de 17 a 60% basado en peso de ácidos grasos totales. La concentración de ácidos grasos poliinsaturados varía preferiblemente de 20 a 60% basado en peso de ácidos grasos totales. Preferiblemente la composición comprende el ácido linoleico (LA) de ácido graso poliinsaturado n-6 y el ácido α-linolénico (ALA) de ácido graso poliinsaturado n-3. Preferiblemente la proporción en peso LA/ALA es entre 4  
25 y 10 y más preferiblemente entre 5 y 7.

30 Preferiblemente la composición comprende una cadena larga de ácidos grasos poliinsaturados, tal como ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico y/o ácido eicosapentanoico. Preferiblemente n-3 LC-PUFA están presentes, tal como EPA y/o DHA. n3- LC-PUFA reducen las respuestas inflamatorias intestinales, que es especialmente ventajoso en bebés que sufren de diarrea.

35 [0025] Cuando está en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para usar, la composición comprende preferiblemente de 0.5 a 4 g de proteínas por 100 ml y más preferiblemente de 1.0 a 3.0 g por 100 ml. Basado en peso en seco la presente composición comprende preferiblemente de 5 a 30 % en peso de proteína y más preferiblemente de 10 a 20 % en peso. La presente composición comprende preferiblemente al menos 50% en peso de proteína derivada de leche no humana basada en proteína, más preferiblemente al menos 90 % en peso. Preferiblemente la presente composición comprende al menos 50% en peso de proteínas derivadas por leche de vaca basada en el total de las proteínas y más preferiblemente al menos 90 % en peso. La presente composición comprende preferiblemente caseína y/o proteínas de lactosuero. Preferiblemente la proporción en peso caseína:suero de proteína es 0: 100 a 100:0, más preferiblemente 10:90 a 90:10, más preferiblemente 20:80 a  
40 80:20. El término proteína como es utilizado en la presente invención se refiere a la suma de proteínas, péptidos y aminoácidos libres. La composición puede opcionalmente comprender proteínas hidrolizadas y/o aminoácidos libres. Preferiblemente la composición no comprende proteínas hidrolizadas y/o aminoácidos libres, puesto que esto aumenta la carga osmótica de la composición que es indeseable para sujetos humanos que sufren de diarrea.

45 [0026] Cuando está en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para usar, la composición comprende preferiblemente de 2 a 30 g de carbohidratos digeribles por 100 ml, y más preferiblemente de 5 a 15 g por 100 ml. Basado en peso en seco, la presente composición comprende preferiblemente de 40 a 80 % en peso de carbohidrato digerible y más preferiblemente de 50 a 70 % en peso. Preferiblemente la composición comprende por lo menos un carbohidrato digerible seleccionado del grupo que consiste en lactosa, maltodextrina, almidón, sacarosa, glucosa y maltosa. Preferiblemente la presente composición comprende maltodextrina y/o almidón.  
50 Utilizando carbohidratos digeribles con un grado de polimerización más alto en lugar de mono- y disacáridos, se reduce la carga osmótica, que es ventajoso para sujetos humanos que sufren de diarrea.

55 La presente composición comprende preferiblemente almidón de arroz. Soluciones de rehidratación oral (ORS) basadas en el arroz son conocidas por ser más eficaces en disminuir las evacuaciones y la duración de la diarrea y mejorar la absorción intestinal de fluido y electrolitos en niños con diarrea aguda infecciosa comparado con ORS basadas en glucosa. Los beneficios de ORS basadas en el arroz han sido previamente atribuidos a su carga osmótica inferior y a una absorción más rápida y al contenido más alto de carbohidratos. Otra explicación para la reducción de las evacuaciones y la mejoría en la absorción con ORS basadas en el arroz puede ser la capacidad del arroz para inhibir la excreción intestinal.

60 La presente composición comprende preferiblemente pectina o productos con degradación de pectina. Pectina y/o sus productos de degradación inhiben ventajosamente la adhesión de los microorganismos patógenos que causan

diarrea a la pared intestinal, de esa manera reduciendo la diarrea.

Preferiblemente la composición comprende galacto-oligosacáridos (GOS), más preferiblemente GOS enlazados en  $\beta$ . Estos GOS enlazados en  $\beta$  reducen beneficiosamente la adherencia de la diarrea que causa bacterias a las células intestinales. Preferiblemente la composición comprende de 10 a 200 mg de GOS enlazados en  $\beta$  por g de peso en seco y más preferiblemente de 20 a 90 mg. Una fuente adecuada de GOS enlazados en  $\beta$  es Vivinal (Borculo).

Preferiblemente la composición comprende nucleótidos. Los nucleótidos dietéticos mejoran ventajosamente la reparación de las células intestinales, dañadas por los patógenos que causan diarrea.

[0027] La presente composición es administrada preferiblemente en forma líquida. Para reunir los requisitos calóricos del bebé, la composición comprende preferiblemente de 50 a 200 kcal/100 ml de líquido y más preferiblemente de 60 a 90 kcal/100 ml de líquido, más preferiblemente de 60 a 75 kcal/100 ml de líquido. Esta densidad calórica asegura una proporción óptima entre consumo de agua y de calorías. La osmolaridad de la presente composición es preferiblemente entre 150 y 420 mOsmol/l, y más preferiblemente de 260 a 320 mOsmol/l. Esta osmolaridad es de máxima importancia para bebés que sufren de diarrea y ayuda a reducir la tensión gastrointestinal y a reducir la diarrea.

[0028] La composición es preferiblemente de forma líquida, con una viscosidad menor de 35 cps como medido en un viscosímetro Brookfield a 20 °C a una velocidad de cizallamiento de 100 s<sup>-1</sup>. Adecuadamente, la composición es en forma de polvo, que se puede reconstituir con agua para formar un líquido, o en un concentrado de forma líquida, que debería ser diluido con agua. Cuando la composición es de forma líquida, el volumen preferido administrado en una base diaria es en la gama de aproximadamente 80 a 2500 ml y más preferiblemente aproximadamente de 450 a 1000 ml al día. Adecuadamente la composición se reconstituye con agua para formar una composición semi-líquida y esponjosa.

[0029] En una forma de realización más preferida, la composición es una solución de rehidratación que comprende *L. rhamnosus*, inulina, PS de soja, glucosa y sodio, potasio y cloruro con una osmolaridad entre 200 y 320 mOsmol/l y más preferiblemente entre 230 y 285 mOsmol/l, de la forma más preferible entre 235 y 245 mOsmol/l.

#### Aplicación

[0030] Según la presente invención la composición ha sido encontrada para ser particularmente útil como nutrición para bebés, en particular para bebés nacidos prematuramente, bebés nacidos en término, a igual que bebés que están en el periodo de destete a alimentos sólidos. Por lo tanto la presente invención provee un método para suministrar la nutrición a un bebé y este método comprende administración de la presente composición al bebé. El bebé tiene preferiblemente una edad entre 0 y 36 meses e incluso más preferiblemente entre 0 y 18 meses y a lo mejor entre 0 y 12 meses. La presente composición puede ser ventajosamente utilizada en la producción de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de la diarrea y en particular de la diarrea infecciosa y más particular del rotavirus de la diarrea. Preferiblemente la composición que comprende *L. rhamnosus*, inulina y PS de soja se utiliza para tratar la diarrea aguda.

[0031] De una forma de realización preferida la combinación de *L. rhamnosus*, inulina y PS de soja está presente en una solución de rehidratación oral que comprende además glucosa y electrolitos en un primer paso de rehidratación para devolver agua y equilibrio de electrolito, mientras en el mismo tiempo se establece inmediatamente la presencia de *L. rhamnosus*, inulina y PS de soja en el tracto gastro-intestinal.

[0032] La presente composición es preferiblemente utilizada después de un primer paso de rehidratación con una mezcla de electrolitos de glucosa de aproximadamente 3 a 4 h para devolver el equilibrio del agua y de electrolitos. La combinación de *L. rhamnosus*, inulina y PS de soja juntos con un componente lípido, un componente de carbohidrato digerible y un componente de proteína reintegra rápidamente la normal evacuación de las heces con constancia, mientras al mismo tiempo suministra la nutrición para el crecimiento y especialmente la restauración de la pequeña pared intestinal. Preferiblemente la presente composición se utiliza durante 2-10, más preferiblemente durante 2-5 días hasta que la diarrea se haya resuelto.

[0033] En este documento y en sus reivindicaciones, el verbo "comprender" y sus conjugaciones se utilizan en su sentido no limitativo para significar que las unidades que siguen a la palabra están incluidas, pero las unidades que no están específicamente mencionadas no están excluidas. Además, la referencia a un elemento por los artículos indefinidos "un" o "una" no excluye la posibilidad de que más de un elemento esté presente, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y sólo uno de los elementos. Los artículos indefinido "un" o "una" así normalmente significan "por lo meno uno".

#### **EJEMPLOS**

Ejemplo 1: Suplementación nutritiva con una mezcla de *L. rhamnosus*, inulina y polisacáridos de soja y micronutrientes para reducir la duración de la diarrea aguda infantil.

Métodos:

[0034] Un experimento clínico aleatorizado y doble ciego fue conducido para evaluar la eficacia de una fórmula para

bebés que contiene *Lactobacillus rhamnosus* (probiótico) y fibra dietética (inulina y polisacáridos de soja) para la gestión de 58 bebés varones indonesios y bien nutridos de edad entre 3-12 meses que sufrían de diarrea aguda con deshidratación moderada. Después de una rehidratación oral adecuada, los pacientes fueron de forma aleatoria asignados para recibir o una fórmula baja en lactosa para bebés que contenía una combinación de *Lactobacillus rhamnosus* ( $5 \times 10^8$  por 100 ml), fibra dietética (0.15 g inulina/100 ml y 0.25 g de polisacáridos/100 ml de soja) y concentración mejorada de varios micronutrientes particulares (1.1 mg de hierro/100 ml, 0.9 mg de zinc/100ml, 0.05 mg de cobre/100 ml, 7 µg de manganeso/100 ml, 1.0 µg de selenio/100 ml, 1.9 mg de vitamina D3/100ml y 1.1 µg de vitamina E/100 ml) (grupo de estudio) o una fórmula baja en lactosa para bebés sin *Lactobacillus rhamnosus* o fibra dietética (grupo de control) y con concentraciones de micronutrientes estándares (0.5 mg de hierro/100 ml, 0.5 mg de zinc/100ml, 0.04 mg de cobre/100 ml, 1.4 mg de vitamina D3/100ml y 0.8 µg de vitamina E/100 ml) (grupo de control). Los siguientes datos fueron registrados diariamente para cada bebé: volumen de heces, frecuencia y consistencia de heces y precisa medición de la masa corporal. La duración de la diarrea fue definida como el número de horas después de la admisión hasta la excreción del último líquido o heces semilíquidas que no están seguidas por otras heces anormales dentro de 24 horas.

15 Resultados:

[0035] Los pacientes en los dos grupos fueron comparables en admisión con referencia a la edad, a los indicadores antropométricos y al estado nutritivo, las características clínicas, la historia de medicación y los valores de laboratorio que podrían ser asociados a morbilidad diarroica. La edad media (SD) fue 8.1 (2.6) meses en el grupo de estudio y 8.0 (2.7) meses en el grupo de control. En admisión, los pacientes tenían un estado moderado de deshidratación. Ningunas diferencias fueron detectadas entre grupos de estudio y de control en el aislamiento de los patógenos. Rotavirus fue el factor etiológico más predominante en el 76% de los casos, y se descubrió igualmente en el estudio y en los grupos de control.

La duración de la diarrea fue significativamente más corta en el grupo de estudio que en el grupo de control (1.63 contra 2.45 días;  $p < 0.05$ ; respectivamente para el estudio y grupo de control) y esto se volvió obvio después del primer día de tratamiento. El presente estudio soporta la evidencia que un fórmula anti-diarroica que contiene probióticos, prebióticos y micronutrientes después de la rehidratación oral tiene un efecto provechoso para reducir la duración de la diarrea infantil en los países del tercer mundo. Había una tendencia hacia una disminución del peso de las heces en el grupo de estudio en comparación con el grupo de control. El grupo de estudio tendía a tener una evacuación de heces inferior (en gramos por cada kilogramo de masa corporal al día) después del tratamiento dietético en comparación con el grupo de control, ya durante el primer y el segundo día después de la rehidratación en el hospital.

Ejemplo 2: efecto sinérgico de PS de soja, inulina y *Lactobacillus rhamnosus*.

Materiales:

[0036] Un sistema de fermentación discontinua semi-dinámica *in vitro* fue utilizado utilizando heces de niño. Una fuente de PS de soja Fibrim (The Solae Company) fue utilizado. Como fuente de inulina RaftilinST (Orafti) fue utilizada. Como fuente de *L. rhamnosus* L GG (Valio) fue utilizado.

Se han obtenido heces frescas de niños saludables con una edad de 2 años.

El medio experimental fue medio McBain & MacFarlane (agua de peptona tamponada 3.0 g/l, extracto de levadura 2.5 g/l, triptona 3.0 g/l, L-cisteína-HCl 0.4 g/l, sales de bilis 0.05 g/l,  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  2.6 g/l,  $NaHCO_3$  0.2 g/l, NaCl 4.5 g/l,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5 g/l,  $CaCl_2$  0.228 g/l,  $FeSO_4$  0.005 g/l)

Métodos:

[0037] Material fresco fecal fue mezclado con medio McBain & MacFarlane, que es representativo para el entorno intestinal, en una proporción en peso de 1:5.

A  $t = 0$ , 6 ml de la suspensión fecal fue mezclada con fibras y/o L GG y transferidas en un tubo de diálisis en una botella de 100 ml con un medio de diálisis tamponado ( $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  2.6 g/l,  $NaHCO_3$  0.2 g/l, NaCl 4.5 g/l,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5 g/l,  $CaCl_2$  0.228 g/l,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0.005 g/l, pH 6.3). La botella fue cerrada e incubada a 37 °C. Las mezclas de fibras y L GG fueron de la siguiente manera:

Mezcla:	1	2	3	4	5	6
PS de soja	0	192mg	0	0	120mg	120mg
Inulina	0	0	192mg	0	72mg	72mg
L GG	0	0	0	$1.2 \times 10^9$ cfu	0	$1.2 \times 10^9$ cfu

[0038] Muestras de 0.5 ml fueron tomadas del tubo de diálisis y del tampón de diálisis con una jeringa hipodérmica

después de 48 h y almacenadas a -18 °C. Fueron realizados experimentos por duplicado y todas las manipulaciones fueron realizadas en un armario anaeróbico.

5 Lactato fue determinado enzimáticamente, utilizando un kit de detección de ácido láctico con D- y L-lactato-deshidrogenasa (Raisio Diagnostics Spa, Roma, Italia). Ácidos grasos de cadena corta fueron detectados con cromatografía gaseosa: SCFA fueron extraídos en MilliQ. 2-etil-butirato fue utilizado como un estándar interno. Muestras fueron analizadas en una columna capilar (Restek Stabilwax DA 15m x 0.53 x 1.0 µm; ZB-FFAB 15mx0.13x1.0µm) con detector FID. La fase móvil fue helio.

Resultados y conclusiones:

10 [0039] Los resultados son expresados como cantidades de mmol de lactato o SCFA formado por g de fibra y mostrados en la tabla 1.

Tabla 1 Ácidos orgánicos (en mmol/g de fibra) formados a través de la fermentación de diferentes mezclas de fibras.

Mezcla	1	2	3	4	5	6
Lactato	0.45	1.19	6.22	0.19	1.30	1.88
SCFA	7.11	19.09	25.42	7.01	21.80	23.53
Acetato	3.18	10.65	17.59	3.21	11.81	13.56
Propionato	1.22	2.62	0.62	1.10	2.89	2.84
Butirato	0.26	0.21	0.01	0.21	0.84	0.30

15 [0040] Estos resultados demuestran que *L. rhamnosus* sólo no mejora la fermentación intestinal. Una combinación de PS de soja con inulina muestra una mayor formación de lactato y SCFA que cuando se utiliza sólo PS de soja. La presencia de *L. rhamnosus* además realiza la formación de lactato y SCFA de la PS de soja y mezcla de inulina. Cuando se utiliza inulina sola, se observa una mayor formación de lactato y SCFA. Sin embargo, casi ningún butirato se ha formado. Teniendo la inulina presente en una mezcla junto con PS de soja o PS de soja y *L. rhamnosus* se mejora ventajosamente la formación de butirato. Por lo tanto una mezcla de PS de soja, inulina y *L. rhamnosus* muestra las mejores características de fermentación para bebés que sufren de diarrea.

20 Ejemplo 3: Nutrición de bebés

[0041] La nutrición de bebés comprende:

- un componente de grasa vegetal que provee el 27% de las calorías totales, con 40% de ácidos grasos poliinsaturados basados en los ácidos grasos totales y en una proporción en peso LA/ALA de 5.5.
- 25 - un componente de proteínas de leche de vaca provee el 12% de las calorías totales que consiste en el 20% en peso de las proteínas del lactosuero y 80% en peso de caseína, y
- un componente de carbohidratos digeribles que provee el 61% de las calorías totales y que comprende más del 80 % en peso de maltodextrina y almidón.
- *L. rhamnosus*:  $5 \times 10^8$  cfu por 100 ml.
- inulina: 0.15 g por 100 ml
- 30 - polisacáridos de soja 0.25 por 100 ml

[0042] La etiqueta del embalaje de esta nutrición para bebés indica que la nutrición va a ser utilizada en caso de diarrea.

Ejemplo 4:

[0043] Solución de rehidratación oral que por 100 ml comprende:

- 35 2.0 g de glucosa, 0.2 g de citrato, 138 mg de sodio, 78 mg de potasio, 177 mg de cloruro,  $1 \times 10^8$  cfu de *L. rhamnosus*, 0.05 g de inulina, 0.10 g de PS de soja.



**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de una composición que comprende *Lactobacillus rhamnosus*, inulina y polisacáridos de soja para la producción de una composición nutritiva para el tratamiento y/o la prevención de la diarrea en un sujeto humano.
2. Uso según la reivindicación 1 donde la proporción en peso de PS de soja: inulina es entre 5 a 0.2.
- 10 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la composición además comprende un componente de grasa que provee de 20 a 55% de las calorías totales, un componente de proteína que provee 5 a 15% de las calorías totales y un carbohidrato digerible que provee 30 a 75% de las calorías totales.
4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde el sujeto humano tiene una edad menor de 36 meses.
- 15 5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la composición comprende de  $10^4$  a  $10^{11}$  cfu de *L. rhamnosus* por g de peso en seco de la composición.
6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde *L. rhamnosus* es la cepa LMG P-22799 de *L. rhamnosus*.
7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la composición comprende de 1.5 a 350 mg de inulina por g de peso en seco de la composición.
- 20 8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la composición comprende de 2.5 a 600 mg de polisacáridos de soja por g de peso en seco de la composición.
9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la composición además comprende al menos 35 µg de zinc y/o 40 µg de hierro por g de peso en seco de la composición.
- 25 10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 3-9 donde el componente de carbohidrato digerible comprende maltodextrina y/o almidón y donde el componente de proteína comprende proteínas no hidrolizadas.
11. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes para el tratamiento de la diarrea aguda.
12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes para el tratamiento del rotavirus de la diarrea.