

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 052**

51 Int. Cl.:

**A23C 9/12** (2006.01)

**A61K 35/74** (2006.01)

**A61P 31/16** (2006.01)

**A61P 37/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08775550 .0**

96 Fecha de presentación: **13.02.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2120590**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.11.2009**

54 Título: **Uso de Lactobacillus casei para incrementar la protección inducida por la vacunación contra la gripe**

30 Prioridad:  
**16.02.2007 FR 0701140**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**04.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**04.04.2012**

73 Titular/es:  
**COMPAGNIE GERVAIS DANONE  
17, BOULEVARD HAUSSMANN  
75009 PARIS, FR**

72 Inventor/es:  
**SAMSON-VILLEGER, Sandrine y  
BOURDET-SICARD, Raphaëlle**

74 Agente/Representante:  
**Pons Ariño, Ángel**

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).

ES 2 378 052 T3

## DESCRIPCIÓN

Uso de *Lactobacillus casei* para incrementar la protección inducida por la vacunación contra la gripe

- 5 La invención se refiere a la utilización de *Lactobacillus casei* para potenciar la respuesta humoral inducida por la vacunación contra la gripe en sujetos de edad avanzada y así incrementar la protección contra la gripe después de la vacunación.

El virus influenza (virus de la gripe) representa una causa importante de infecciones respiratorias.

10

Las epidemias invernales de gripe afectan del 1 al 5 % de la población, con tasas de infección muy importantes en niños y complicaciones fatales en ancianos. La vacunación anual contra la gripe está recomendada por las autoridades sanitarias (de acuerdo con la OMS) para sujetos mayores de 65 años, personas que viven en residencias para personas mayores dependientes o sujetos vulnerables por enfermedades graves. Incluso en los 15 casos en los que la vacunación no evita la enfermedad, permite disminuir su gravedad, duración, y riesgo de complicaciones (infección secundaria, hospitalización, muerte) asociadas a la gripe.

- Sin embargo, mientras que la vacunación contra la gripe confiere a la mayor parte de sujetos adultos (del 70 % a 90 %) un nivel de anticuerpos considerado como protector (tasa de anti-hemaglutinina superior o igual a 40; OMS 20 Weekly epidemiological record, N°33, p 283, 19 de agosto de 2005) no sucede lo mismo en ancianos, en los que este nivel de anticuerpos sólo se consigue en el 30 al 40 % de los sujetos (COX y col., Scand. J. Immunol., 59, 1-15, 2004). Esta respuesta subóptima de las personas ancianas a la vacuna contra la gripe se debe a fallos funcionales del sistema inmunitario relacionados con la edad y/o el estado fisiológico del sujeto (DENG y col., J. Immunol., 172, 3437-46, 2004; KANG y col., J. Immunol., 173, 673-81, 2004).

25

Una forma de incrementar la respuesta inmunitaria es administrar sustancias inmuno-estimulantes que desempeñan el papel de adyuvante. Así, comienzan a comercializarse en Francia nuevas vacunas que contienen adyuvantes (como el MF59 que consiste en gotículas estables de tamaño inferior a 250 nm, compuestas de escualeno, aceite metabolizable, y dos tensoactivos (monooleato de polioxietilensorbitán y trioleato de polioxietilensorbitán) en una 30 emulsión de aceite en agua) para incrementar la respuesta inmunitaria de personas ancianas (BALDO y col., Vaccine, 19, 3472-5, 2001). Además, la alimentación puede modular las respuestas inmunitarias. Se ha demostrado que la administración de suplementos de cinc, selenio, ciertas vitaminas y oligoelementos durante 2 a 6 meses podría ayudar a incrementar las respuestas inmunitarias de cara a la vacunación de personas ancianas en instituciones (ALLSUP y col., J. Am. Geriatr. Soc., 52, 20-4, 2004; BUNOUT y col., JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr., 35 28, 348-54, 2004; BUNOUT y col., JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr., 26, 372-6, 2002; CHANDRA, Lancet, 340, 1124-7, 1992; GIRODON y col., Arch. Intern. Med., 159, 748-54, 1999; LANGKAMP-HENKEN y col., J. Am. Geriatr. Soc., 52, 3-12, 2004; PROVINCIALI y col., Age Ageing, 27, 715-22, 1998). Se ha informado de que ciertos probióticos también pueden modular la respuesta a vacunas como las de la poliomielitis (DE VRESE y col., Eur. J. Nutr., 44, 406-13, 2005).

40

Anteriormente se ha observado (Solicitud PCT WO 2001/089541) que la administración de *Lactobacillus casei* podría incrementar la respuesta inmunitaria celular (mediada por los linfocitos T) frente a diversos microorganismos patógenos, incluyendo el virus de la gripe. Sin embargo, siguen sin estar claros los posibles efectos de *Lactobacillus casei* sobre la inmunidad humoral, que está implicada en la protección conferida por la vacuna de la gripe.

45

Los inventores han decidido estudiar los efectos de la ingestión de *Lactobacillus casei* sobre la evolución de los niveles de anticuerpos séricos específicos inducidos por la vacunación contra la gripe en ancianos. Se constató un aumento de los niveles de anticuerpos, lo que conduce, en particular, a un aumento en la frecuencia de seroconversión y en la frecuencia de seroprotección.

50

Se define como "seroprotección" la presencia, en un individuo, de anticuerpos séricos dirigidos contra un virus de la gripe, en cantidades superiores o iguales a un umbral de protección. Este umbral de protección está definido como un título de anticuerpos séricos dirigidos contra hemaglutinina, medido en unidades de inhibición de hemaglutinación (IHA) superior o igual a 40. La "frecuencia de seroprotección" en una población corresponde a la proporción de 55 personas en las que se observa seroprotección. En general se acepta que niveles de anticuerpos medidos en IHA y superiores o iguales a 40 están relacionados con una protección contra la cepa involucrada y encontrada en la vacuna (COX N.J. y col., Lancet, 1999:354: 1277-82).

En el presente documento se define "seroconversión" como el aumento, en un individuo, de la cantidad de

anticuerpos séricos dirigidos contra un virus de la gripe, después de la vacunación contra dicho virus, siendo el nivel de anticuerpos después de la vacunación al menos igual a 4 veces el nivel de anticuerpos medido antes de la vacunación. La "frecuencia de seroconversión" en una población corresponde a la proporción de personas en las que se observa seroprotección.

5 Los inventores también han constatado que los efectos positivos de la ingestión de *Lactobacillus casei* sobre la evolución de los niveles de anticuerpos séricos inducidos por la vacunación contra la gripe son particularmente pronunciados en ciertas categorías de personas mayores, es decir, aquellos que presentan un nivel de dependencia más bajo, y los pertenecientes al sexo femenino.

10 El nivel de dependencia se define utilizando la tabla de clasificación AGGIR (Autonomie Gérontologie Groupes Iso-Ressources); (VETEL y col., Soins Gerontol., 23-7, 1998). Los grupos 1, 2 y 3 de la tabla AGGIR incluyen a personas altamente dependientes; los grupos 4 y 5 incluyen a personas poco dependientes; y el grupo 6 incluye a personas no dependientes.

15 En consecuencia, la presente invención tiene por objeto la utilización de una cepa bacteriana de la especie *L. casei* para la preparación de una composición administrable por vía oral para incrementar la protección contra la gripe después de la vacunación. También ayuda a incrementar la inmunidad humoral conferida por una vacunación contra la gripe. En particular permite conseguir un nivel de anticuerpos protectores (seroprotección).

20 Según una forma de realización preferida de la presente invención, dicha composición está destinada para su administración a personas ancianas mayores de 65 años que hayan recibido una vacunación contra la gripe. Preferentemente, dichas personas tienen una edad de al menos 70 años.

25 De forma particularmente ventajosa, dicha composición está destinada para su administración a personas ancianas no dependientes, o que presentan un bajo nivel de dependencia y/o que pertenecen al sexo femenino.

Como parte de una forma de realización de la presente invención, dicha cepa de *L. casei* se puede utilizar sola, o junto con otras bacterias lácticas de la especie *L. casei* o de otras especies. De manera ventajosa, se puede utilizar 30 junto con fermentos del yogur, es decir, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Preferentemente, una composición preparada en el ámbito de utilización según la invención contiene al menos  $10^5$ , preferentemente al menos  $10^6$ , por lo general entre  $1 \times 10^8$  y  $1,5 \times 10^9$  células de *L. casei* por ml.

35 Cuando se utiliza *L. casei* junto con fermentos del yogur, dicha composición comprende adicionalmente de manera ventajosa al menos  $10^7$ , preferentemente entre el  $2 \times 10^8$  y  $1 \times 10^9$  células de *S. thermophilus* por ml, y al menos  $5 \times 10^5$  y preferentemente entre  $4 \times 10^6$  y  $2 \times 10^7$  células de *L. bulgaricus* por ml.

Una cepa de *L. casei* especialmente indicada para su uso en la presente invención es la cepa depositada el 30 de 40 diciembre de 1994, en la CNCM (Colección Nacional de Cultivos de Microorganismos, 25 rue du Docteur Roux, París), con el número I-1518.

Las composiciones preparadas de acuerdo con la invención se pueden administrar en forma de alimentos o 45 suplementos alimentarios. Pueden ser, por ejemplo, productos lácteos, en particular productos lácteos fermentados que contienen al menos dicha cepa de *L. casei*, eventualmente asociada, como se ha señalado anteriormente, a otras bacterias lácticas, como los fermentos del yogur.

Dicha cepa de *L. casei* se administra preferentemente durante al menos una semana, preferentemente durante al 50 menos 2 semanas, preferentemente durante al menos 3 semanas, y lo más preferentemente durante al menos 4 semanas antes de la vacunación contra la gripe. La administración de *L. casei* se puede continuar posteriormente tanto como se desee para mantener el fortalecimiento de la inmunidad inducida por la vacunación. La cantidad de *L. casei* administrada al día será preferentemente de al menos  $10^{10}$ , de manera ventajosa de al menos  $2 \times 10^{10}$  UFC de *L. casei*. Esta cantidad se puede administrar en una o varias dosis diarias.

55 La presente invención se entenderá mejor a partir de la descripción siguiente que se refiere a un ejemplo no limitante que ilustra las propiedades de una cepa de *Lactobacillus casei* para incrementar la inmunidad humoral inducida por una vacuna contra la gripe.

## EJEMPLOS

Se llevó a cabo un estudio para evaluar el efecto del consumo de un producto lácteo fermentado (Actimel®) que contiene *L. casei* CNCM I-1518, sobre los niveles de anticuerpos séricos específicos inducidos por la vacuna contra la gripe 3 semanas después de la vacunación (nivel máximo de respuesta entre 2 y 4 semanas después de la vacunación), y 3 y 5 meses después de la vacunación (para controlar la evolución de los niveles de anticuerpos séricos) al detener el consumo del producto.

### **Resumen del estudio**

Este estudio es un estudio piloto, multicéntrico, aleatorio, doble ciego, y controlado con placebo. Los 86 sujetos se dividieron en 2 grupos equilibrados de 43 sujetos, un grupo que recibe Actimel®, y el otro grupo que recibe el producto control (placebo).

El desarrollo de este estudio se muestra esquemáticamente en la Figura 1.

15 La duración total del estudio fue de 178 días.

El estudio incluyó una visita de selección (V1) para seleccionar a los ancianos. Esta visita tuvo lugar el mes anterior a la visita de inclusión (V2). La inclusión y la distribución aleatoria de los sujetos en V2 (D0) se realizaron en 2 semanas para todos los sujetos de todos los centros.

20 El consumo del producto en estudio (Actimel® o producto control según la asignación aleatoria) se inició para todos los sujetos en el D0 (V2) y tuvo una duración de 7 semanas (4 semanas antes de la vacunación y 3 semanas después).

25 Todos los sujetos fueron vacunados contra la gripe (mismo lote de la vacuna Vaxigrip) por inyección intramuscular en el músculo deltoides el D28 (V3) o 4 semanas después del inicio del consumo del producto en cuestión.

Los exámenes médicos se realizaron el D28 (V3), D49 (V4), D118 (V5) y D178 (V6).

### **30 Selección de los sujetos**

Los sujetos incluidos en el estudio son personas mayores que viven en residencias para personas mayores dependientes (EHPAD).

### **35 Criterios de inclusión**

- hombres o mujeres ancianos de al menos 70 años;

- sujetos con una puntuación AGGIR de entre 2 y 5 (inclusive);

40 - sujetos con un nivel de anticuerpos que inhiben la aglutinación de glóbulos rojos de conejillos de indias por una cepa relacionada con la variante A/California/7/2004 (prototipo de vacuna) inferior a 40 en el momento de la extracción de una muestra de sangre realizada en la selección (V1);

45 - sujetos con un índice de masa corporal (IMC) entre 16 y 27 kg/m<sup>2</sup> (inclusive);

- sujetos que hayan dado su consentimiento por escrito para participar en el estudio y capaces de entender la información proporcionada;

### **50 Criterios para la no inclusión**

- sujetos con una patología grave y progresiva para la cual la expectativa de vida es inferior a 6 meses;

- sujetos con diabetes de tipo I o II no equilibrada;

55 - sujetos con alergia o hipersensibilidad a las proteínas de la leche y/o los huevos;

- sujetos con intolerancia conocida a la lactosa;

- sujetos con inmunodepresión crónica o iatrogénica, en particular tratados con inmunosupresores o corticosteroides orales durante más de 2 semanas en el transcurso de los dos meses anteriores a la selección (V1);

### Distribución aleatoria

5 La asignación de los sujetos al grupo "Producto" o al grupo "Control" se ha definido por sorteo al azar, equilibrada entre los dos grupos que se han identificado como "A" o "B".

De acuerdo con el estado de autonomía de los pacientes se determinaron dos niveles de estratificación (que también reflejan el estado fisiológico de los sujetos): los sujetos con una puntuación AGGIR (Autonomie Gérontologie Groupes Iso-Ressources) igual a 2 ó 3 constituyen el primer estrato y los sujetos con una puntuación AGGIR de 4 ó 5 constituyen el segundo estrato.

### Productos objeto de estudio

15 El producto Actimel® es un producto comercial.

El producto control es un producto con las mismas cualidades organolépticas, la misma acidez, el mismo valor energético, y la misma textura que el producto Actimel®, pero desprovisto de fermentos lácticos. Los 2 productos se presentan en botellas anónimas de 100 ml, e identificadas por un código de letras (A o B).

Las características de estos dos productos se resumen en la Tabla I siguiente.

**Tabla I**

Producto	g de lípidos/100 g	g de glúcidos/100 g	g de proteína/100 g	Energía KJ/100g	Concentración de principios activos ( <i>L. casei</i> )
Actimel®	1,5 +/- 0,5	14,5 +/- 0,5	2,5 +/- 0,5	80 - 85	> 10 <sup>8</sup> ufc/ml
Control	1,5 +/- 0,5	14,5 +/- 0,5	2,5 +/- 0,5	80-85	< 1 ufc/ml

### Desarrollo del estudio

Después de la visita de selección, se seleccionaron los sujetos que cumplen con todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de no inclusión definidos anteriormente.

Se les pidió que se abstuviesen de consumir productos lácteos fermentados (yogur, queso blanco, *petit suisses* y yogurt de soja) los 7 días anteriores al inicio del estudio (D-7 y D0) y hasta la visita V4 (D49).

Se extrajo una muestra de sangre con el fin de determinar el nivel basal de anticuerpos contra la gripe.

El D0 se llevó a cabo la visita de inclusión y de distribución aleatoria (V2).

A partir del D0, los sujetos consumieron el producto en estudio (A o B) todos los días por asignación aleatoria a razón de una botella de 100 ml en el desayuno, y una botella de 100 ml en la cena durante 49 días consecutivos.

El D28 (V3), los sujetos se vacunaron contra la gripe por inyección intramuscular en el deltoides. La vacuna utilizada (Vaxigrip) es una vacuna inactivada de viriones fraccionados, donde cada dosis contiene 15 µg de hemaglutinina de cada una de las siguientes cepas: 2 cepas de tipo A (1 cepa H1N1 y 1 cepa H3N2) y una cepa de tipo B. 15 µg de hemaglutinina por dosis de cada una de las cepa descritas anteriormente. Esta vacuna no contiene adyuvante.

La cepa H1N1 es la cepa Nueva Caledonia/20/99; la cepa H3N2 es la cepa California/7/2004, y la cepa B es la cepa Shanghai/361/2002 (según las recomendaciones de la OMS para la vacunación en el hemisferio norte para la temporada 2005-2006).

En cada una de las visitas posteriores, realizadas el D49 (V4), D118 (V5) y D178 (V6), y se llevó a cabo una extracción de una muestra de sangre para determinar los anticuerpos séricos específicos para cada una de las cepas presentes en la vacuna, inducidos por la vacunación contra la gripe. También se llevó a cabo un examen clínico, y se observaron cada vez las patologías o las tomas de tratamiento producidas desde la visita anterior.

### Determinación de los anticuerpos

Se tomaron muestras de sangre (1 tubo de 7 ml) de una vena del antebrazo de todos los sujetos en las visitas V1, V4 y V5. Las muestras se extrajeron en tubos secos y se centrifugaron para separar el suero. Cada suero se separó en alícuotas dentro de criotubos (500 µl por tubo) para ser almacenadas a -20 °C y -80 °C hasta el momento de las determinaciones. Estas determinaciones fueron llevadas a cabo por el Centro Nacional de Referencia del virus de la gripe (CNR), Instituto Pasteur, París, Francia.

La prueba utilizada es la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IHA), realizada según las recomendaciones de la OMS (Manual de la OMS sobre diagnóstico y vigilancia del virus de la gripe en animales: WHO/CDS/CSR/NCS/2002-5). Esta prueba se basa en la capacidad de los anticuerpos dirigidos contra hemaglutinina específicos de cada cepa del virus que se encuentran en el suero sometido a ensayo para fijarse a la hemaglutinina expresada en la superficie del virus e impedir así la unión de estos virus a los glóbulos rojos. En ausencia de anticuerpos específicos, se observa la formación de una red entre los glóbulos rojos y el virus (pocillos de cultivo rojos de manera uniforme). Sin embargo, en presencia de anticuerpos específicos, se observa una sedimentación de los glóbulos rojos en el fondo del pocillo.

Cada suero se trató por incubación con RDE (enzima destructora de receptores) y a continuación se absorbió sobre los glóbulos rojos de gallo con el fin de eliminar la aglutinación no específica debida al suero y no al virus de la gripe. Cada suero se diluyó 2 a 2, se distribuyeron en placas de cultivo y se incubaron con una suspensión viral estandarizada (4 unidades de hemaglutinación por cada 50 µl). A continuación se añadieron glóbulos rojos de conejillo de indias para revelar la presencia de hemaglutinina viral no neutralizada por los anticuerpos.

Cada prueba ha sido validada por la determinación simultánea de controles positivos y negativos procedentes del CNR para la prueba de inhibición de la hemaglutinación.

Los títulos de anticuerpos se expresan como la inversa de la dilución más alta que todavía produce una inhibición de la hemaglutinación.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se llevó a cabo el análisis de los datos en las poblaciones y subpoblaciones siguientes:

- Población "Intención de tratar" (ITT) que comprende todos los sujetos incluidos en el estudio, distribuidos aleatoriamente y que recibieron al menos uno de los productos del estudio;

- Subpoblaciones, de acuerdo con el estrato AGGIR y según el género.

Los ensayos se llevaron a cabo a un nivel de significación bilateral del 5 %. Un nivel de significación entre el 5 y el 10 % se considera indicativo de una tendencia.

El diseño experimental es el de un grupo paralelo con 2 grupos; "Producto" frente a "Control".

Teniendo en cuenta los objetivos del estudio, el objeto principal de este estudio es el grupo "Producto".

También se estudiaron los efectos de la "puntuación AGGIR", el IMC, la edad y el nivel basal de anticuerpos.

Para el nivel de anticuerpos se sabe que este parámetro se distribuye según una distribución log-normal. Para realizar un análisis paramétrico, es necesario hacer una transformación logarítmica de los niveles de anticuerpos y así se ha verificado y discutido la normalidad logarítmica de los niveles de anticuerpos.

El análisis paramétrico es un modelo gaussiano convencional de análisis de la varianza y/o la covarianza según la naturaleza de las covariables.

El análisis de la varianza/covarianza no paramétrica (test de Friedman) se lleva a cabo de manera simultánea.

En los análisis se tuvieron en cuenta las siguientes covariables: "puntuación de AGGIR", IMC, edad y nivel basal de anticuerpos.

La comparación de los datos entre los productos se llevó a cabo mediante una prueba de Chi-2 o por una prueba

exacta de Fisher en caso de no respetar las condiciones de utilización de la prueba de Chi-2. También se realizó un modelo de regresión logística para considerar los diferentes efectos ("puntuación AGGIR", IMC, edad y nivel basal de anticuerpos).

5 Además se llevó a cabo este mismo análisis para cada clase de la variable de estratificación ("Puntuación AGGIR").

### **Criterios de evaluación**

#### **Criterio principal del efecto del producto estudiado**

10

El criterio principal utilizado es el nivel de anticuerpos de la gripe en la visita 4 (D49) para las 3 cepas virales.

La expresión principal de este criterio es la variación de los niveles de anticuerpos en la visita 4 con respecto al valor basal.

15

#### **Criterios secundarios del efecto del producto estudiado**

Los criterios secundarios utilizados son, para cada una de las 3 cepas virales:

20 - La seroconversión (el sujeto presenta un aumento de al menos 4 veces los niveles de anticuerpos con respecto al valor basal) en la visita 4 (D49).

- La seroprotección (el sujeto presenta unos niveles de anticuerpos  $\geq 40$ ) en la visita 4 (D49).

### **25 RESULTADOS**

#### **En la población ITT**

##### **Niveles de anticuerpos**

30

Los resultados se ilustran en la Figura 2. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación contra cada una de las cepas de la gripe, un nivel de anticuerpos superior al observado en el caso de consumo de placebo.

##### **35 Seroconversión**

Los resultados se ilustran en la Figura 3. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación, una mayor frecuencia de seroconversión con respecto a cada una de las cepas de la gripe que la que se observa en el caso de consumo de placebo.

40

##### **Seroprotección**

Los resultados se ilustran en la Figura 4. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación contra cada una de las cepas de la gripe, un aumento en el porcentaje de personas protegidas, en comparación con lo observado en el caso de consumo de placebo. Este efecto muestra una tendencia estadística en el caso de la cepa de serotipo H1N1.

45

#### **En las subpoblaciones**

##### **50 Subpoblación AGGIR 4-5**

###### **Niveles de anticuerpos**

Los resultados se ilustran en la Figura 5. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación contra cada una de las cepas de la gripe, unos niveles de anticuerpos superiores a los observados en el caso de consumo de placebo.

55

###### **Seroconversión**

Los resultados se ilustran en la Figura 6. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación, una mayor frecuencia de seroconversión con respecto a cada una de las cepas de la gripe que la que se observa en el caso de consumo de placebo. Este efecto es estadísticamente significativo para la cepa de serotipo H3N2.

5

#### **Seroprotección**

Los resultados se ilustran en la Figura 7. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación contra cada una de las cepas de la gripe, un aumento en el porcentaje de personas protegidas, en comparación con lo observado en el caso de consumo de placebo. Este efecto es estadísticamente significativo para la cepa de serotipo H3N2.

10

#### **Subpoblación de mujeres**

#### **15 Niveles de anticuerpos**

Los resultados se ilustran en la Figura 8. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación contra cada una de las cepas de la gripe, unos niveles de anticuerpos superiores a los observados en el caso de consumo de placebo.

20

#### **Seroconversión**

Los resultados se ilustran en la Figura 9. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación, una mayor frecuencia de seroconversión con respecto a cada una de las cepas de la gripe que la que se observa en el caso de consumo de placebo. Este efecto es estadísticamente significativo para la cepa de serotipo H1N1.

25

#### **Seroprotección**

Los resultados se ilustran en la Figura 10. Estos resultados muestran que el consumo de Actimel indujo, 3 semanas después de la vacunación contra cada una de las cepas de la gripe, un aumento en el porcentaje de personas protegidas, en comparación con lo observado en el caso de consumo de placebo. Este efecto es más pronunciado en el caso de las cepas del grupo A (tendencia estadística para la cepa H3N2), y más particularmente para la cepa de serotipo H1N1 (diferencia estadísticamente significativa).

30

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de una cepa bacteriana de la especie L. casei para la preparación de una composición que se puede administrar por vía oral con el fin de fortalecer la inmunidad humoral conferida por una vacunación contra la gripe, siendo dicha cepa administrada durante al menos 1 semana antes de dicha vacunación contra la gripe.
2. Uso según la reivindicación 1, **caracterizado porque** dicha cepa se administra durante al menos 4 semanas antes de dicha vacunación contra la gripe.
- 10 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, **caracterizado porque** dicha composición está destinada para su administración a personas mayores de 65 años.
4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** dicha cepa de L. casei es la cepa CNCM I-1518.
- 15 5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** dicha composición está en forma de producto alimenticio o suplemento alimentario.
6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** dicha composición está en forma de producto lácteo fermentado.
- 20 7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** dicha cepa se administra a diario en una cantidad de al menos  $10^{10}$  UFC de L. casei.
- 25 8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** dicha composición contiene al menos  $10^5$ , preferentemente al menos  $10^6$ , más preferentemente entre  $1 \times 10^8$  y  $1,5 \times 10^9$  células de L. casei por ml.

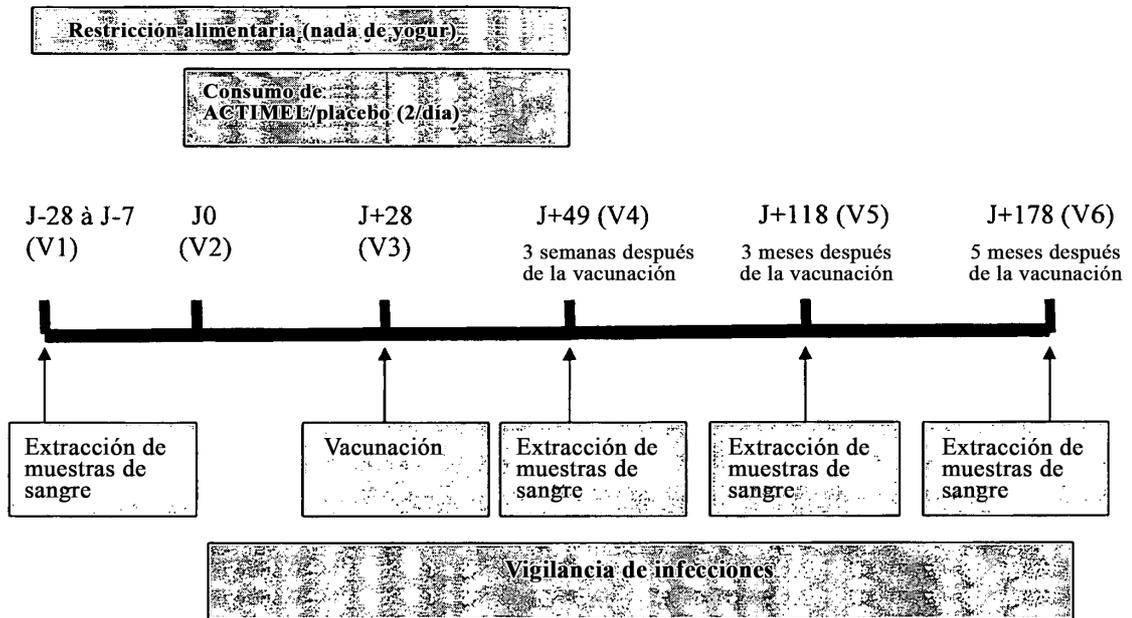


Figura 1

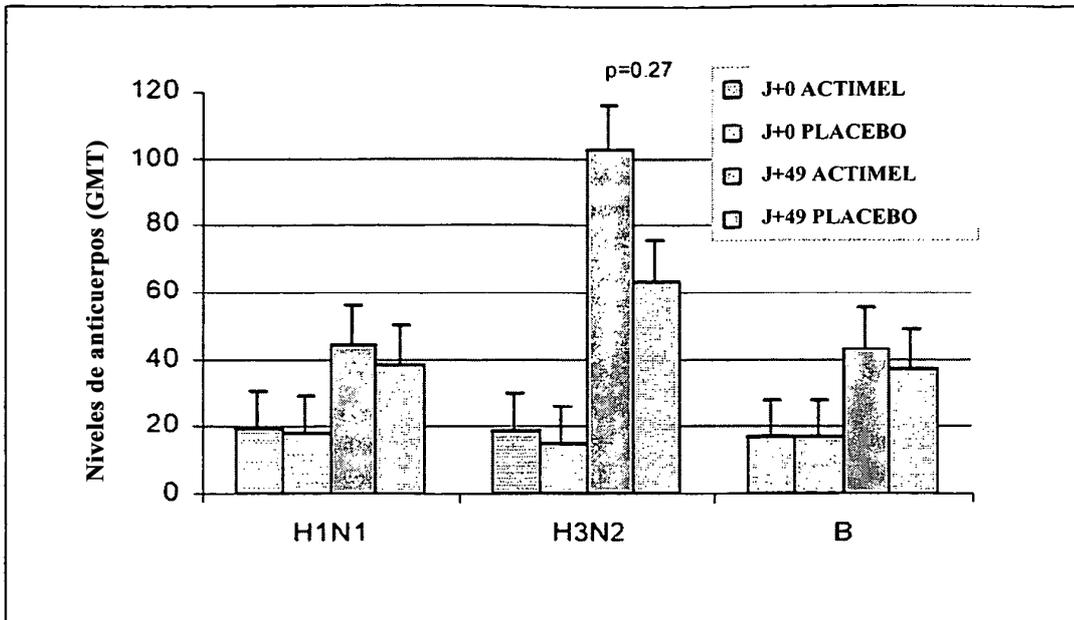


Figura 2

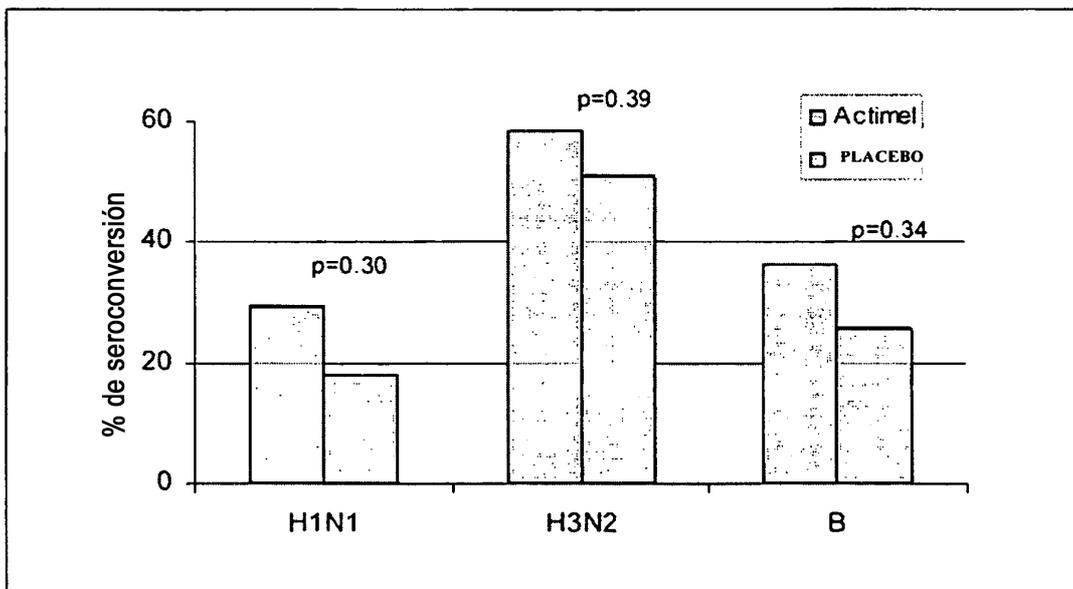


Figura 3

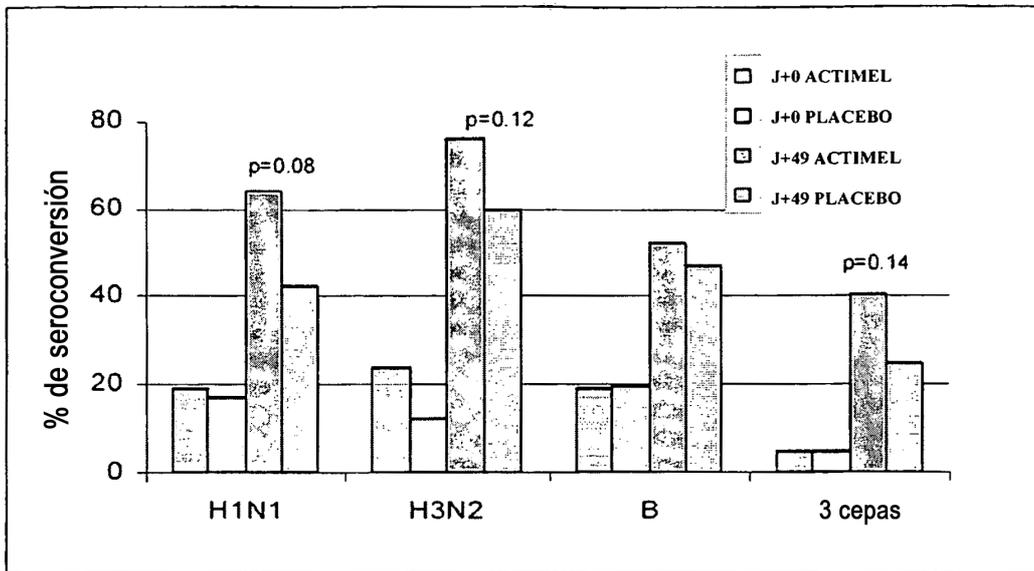


Figura 4

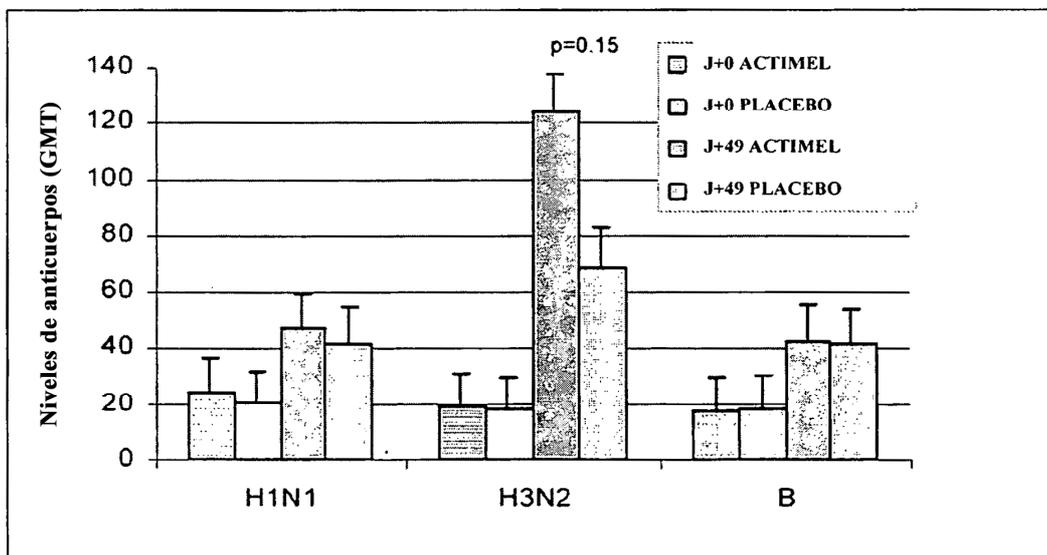


Figura 5

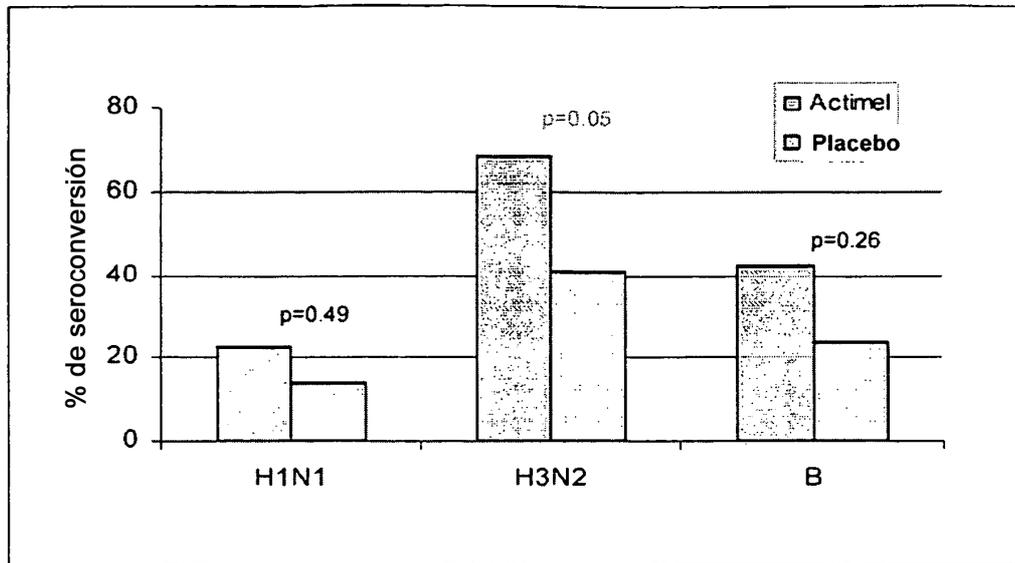


Figura 6

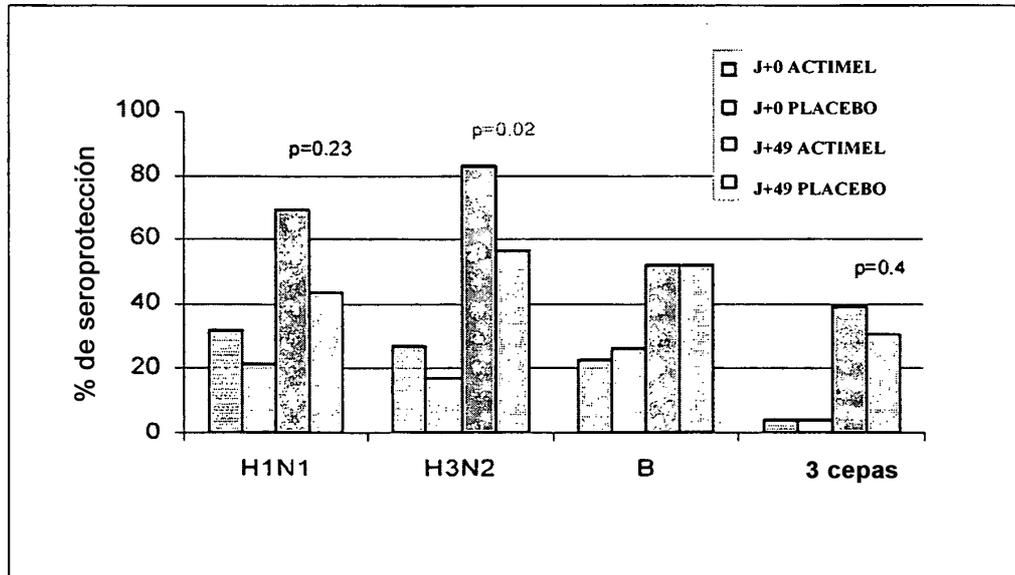


Figura 7

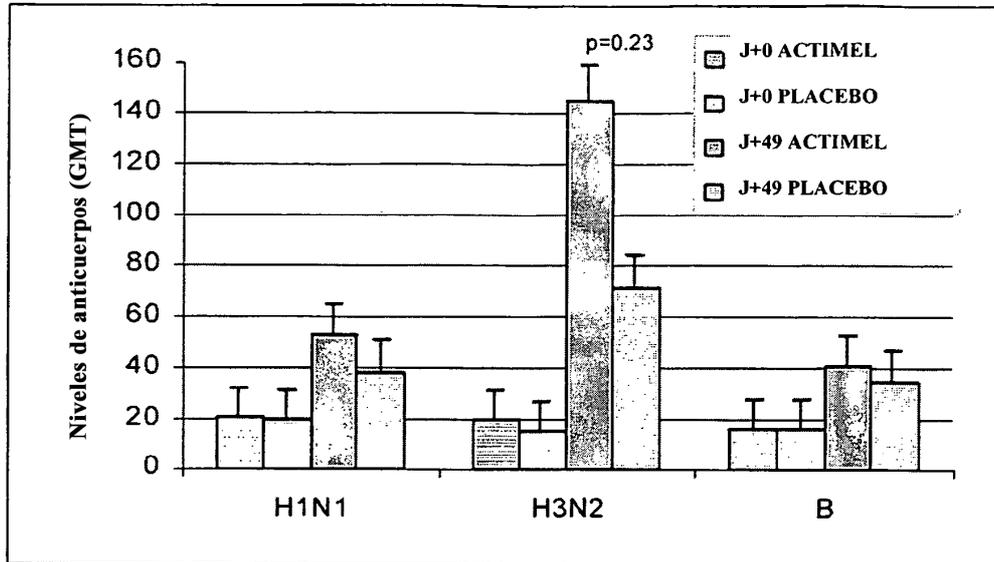


Figura 8

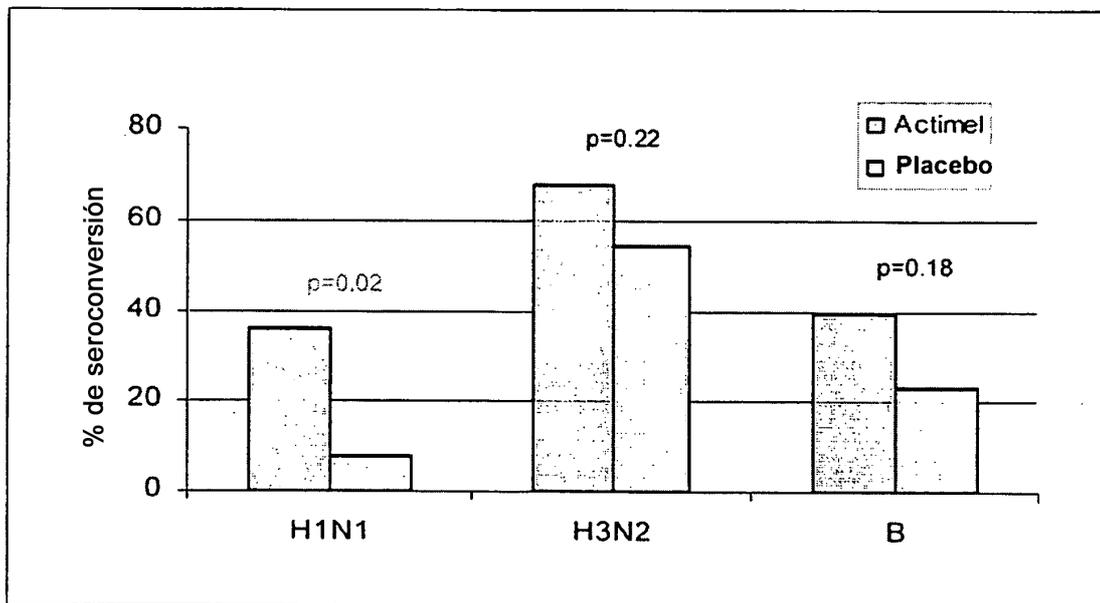


Figura 9

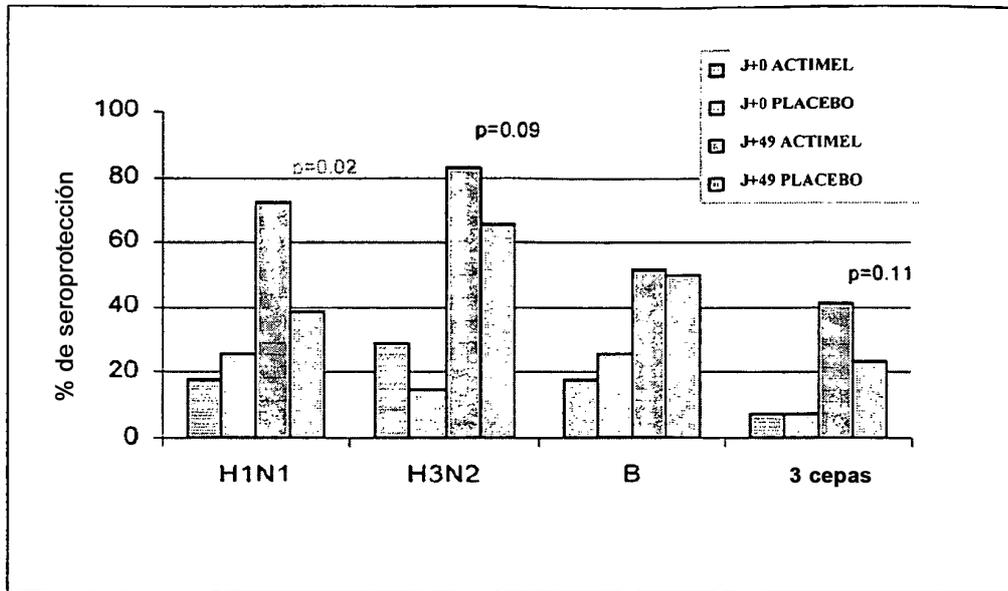


Figura 10