

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 824**

51 Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A23L 1/302 (2006.01)

A23L 1/308 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06846849 .5**

96 Fecha de presentación: **29.12.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1978821**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.10.2008**

54 Título: **Método para modificar la flora intestinal en animales**

30 Prioridad:
29.12.2005 US 754807 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.05.2012

73 Titular/es:
**HILL'S PET NUTRITION, INC.
400 SOUTHWEST 8TH AVENUE
TOPEKA, KS 66605, US**

72 Inventor/es:
KHOO, Christina

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

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 2 379 824 T3

DESCRIPCIÓN

Método para modificar la flora intestinal en animales

Campo de la invención.

5 La presente invención se refiere a métodos para modificación de la flora bacteriana del tracto gastrointestinal (tubo digestivo), y en algunos casos reducción de la inflamación gastrointestinal, en animales, más particularmente animales que sufren enfermedad intestinal inflamatoria (IBD) o que se encuentran en riesgo de sufrir IBD. En ciertas realizaciones, los métodos implican intervención dietética; de acuerdo con ello, la invención se refiere adicionalmente a composiciones alimenticias útiles para la práctica de tales métodos. La invención se refiere adicionalmente a kits y medios de comunicación útiles en la práctica de la invención.

10 Descripción de la Técnica Afín

La IBD ha sido asociada con cambios en la flora intestinal; sin embargo, con arreglo a las conclusiones de un artículo de revisión por Marteau et al (2004), Aliment. Pharmacol. Ther. 20 (Supl. 4): 18-23, ésta es una cuestión difícil y es necesaria más investigación. Diversos estudios revisados en el artículo de Marteau han indicado efectos sobre la IBD de la modificación de la flora bacteriana por administración de probióticos.

15 Kruis (2004), Aliment. Pharmacol. Ther. 20 (Supl. 4): 75-78 revisó estudios clínicos de los efectos terapéuticos de los probióticos en la IBD. Se informó que algunos estudios demostraban beneficio terapéutico convincente, mientras que otros no lo hacían.

20 En otro artículo de revisión por Jergens (1999), Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 29 (2): 501-521, se afirmaba que "evidence of a role for bacterial microflora in canine/feline IBD is presently lacking." Jergens documentó la terapia dietética para la IBD, centrando su atención en dietas hipoalergénicas, ratio ajustada de ácidos grasos omega-6 a omega-3 y suplemento de fibra.

Fernandez-Banares et al. (1989), Amer. J. Gastroenterol. 84 (7):744-748 informaron que pacientes humanos con IBD tenían niveles más bajos de ciertas vitaminas en el plasma sanguíneo, con inclusión de vitamina C y β -caroteno, pero no de vitamina E, que los controles sanos.

25 Buffinton & Doe (1995), Free Radical Biology & Medicine 19 (6):911-918 comunicaron defensas antioxidantes disminuidas en pacientes con IBD y observaron que el fármaco anti-inflamatorio ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), utilizado extensamente en terapia del IBD, por ejemplo en la forma de su profármaco sulfasalazina, tiene una potente capacidad antioxidante. Se citaban pruebas preliminares de terapia antioxidante y se decía que "estimulan la exploración ulterior de estrategias antioxidantes para el tratamiento de la IBD".

30 Lih-Brody et al. (1996), Digestive Diseases & Sciences 41 (10):2078-2086 publicaron un estudio de compuestos intermedios oxigenados reactivos (ROIs) en la mucosa colónica de pacientes de IBD, y afirmaron que un desbalance en la formación de ROIs y micronutrientes antioxidantes "puede proporcionar una base racional para la modulación terapéutica con antioxidantes".

35 D'Odorico et al. (2001), Scand. J. Gastroenterol. 36 (12):1289-1294 informaron de una concentración reducida de antioxidantes (con inclusión de vitamina E y β -caroteno) en el plasma de pacientes de IBD en comparación con los controles y llegaron a la conclusión de que el empobrecimiento en antioxidantes tiene probablemente importancia en la patofisiología de la IBD.

González et al. (2001), Int. J. Vitamin. Nutr. Res. 71 (4):243-250 informaron que el suplemento de vitamina E en un modelo de rata protegía el colon contra el estrés oxidante asociado con inflamación.

40 Persiste la necesidad en la técnica de nuevos métodos de modificación de la flora intestinal, especialmente el ajuste del balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales (v.g., patógenas) en el intestino a favor de especies beneficiosas, en animales que sufren IBD o que se encuentran en riesgo de sufrir IBD.

SUMARIO DE LA INVENCION

45 Se proporciona ahora un método para mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, que comprende administrar al animal una composición que comprende al menos un antioxidante, por ejemplo vitamina E, vitamina C y/o un carotenoide.

En algunas realizaciones, la mejora atribuible al método está asociada con la reducción de la inflamación.

Opcionalmente, el método comprende además administrar al animal al menos uno de un probiótico y un prebiótico.

50 La invención proporciona también el uso de al menos un antioxidante en la preparación de una composición para mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD.

Se proporciona también una composición alimenticia que comprende, basado en materia seca, al menos uno de:

- a. vitamina E en una cantidad de aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 µg/g;
- b. vitamina C en una cantidad de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 µg/g; y
- c. β-caroteno en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 µg/g; y que comprende además al menos uno de un probiótico y un prebiótico.

Se proporciona adicionalmente un kit que comprende (1) una composición que comprende al menos un antioxidante, y (2) al menos uno de:

- a. un probiótico;
- b. un prebiótico;
- c. un alimento base;
- d. un agente anti-IBD; y
- e. instrucciones para administrar la composición que contiene el antioxidante y opcionalmente otros componentes del kit a un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, para mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal.

Se proporciona todavía adicionalmente un medio para comunicar información acerca de y/o instrucciones para uno o más de:

- a. administrar una composición que comprende al menos un antioxidante, opcionalmente en conjunción con uno o más de (i) un probiótico, (ii) un prebiótico, y (iii) un agente anti-IBD, a un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, a fin de mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal del animal;
- b. añadir una composición que comprende al menos un antioxidante con uno o más de (i) un probiótico, (ii) un prebiótico, (iii) un agente anti-IBD y (iv) un alimento base, para proporcionar una combinación para administración a un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, a fin de mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal del animal; y
- c. utilizar un kit para mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD;

en donde el medio comprende uno o más de un artículo, un medio de almacenamiento digital, un medio de almacenamiento óptico, una presentación en audio y una presentación visual que contiene la información y/o las instrucciones.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Un método de la invención tiene por objeto mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD. El método comprende administrar al animal una composición que comprende al menos un antioxidante.

La flora intestinal, es decir, la sociedad de bacterias residentes en el tracto gastrointestinal, comprende a la vez tipos o especies bacterianas beneficiosos y perjudiciales. El que un miembro particular de la flora intestinal sea beneficioso, perjudicial o intrascendente para la salud del animal en circunstancias particulares, puede depender de diversos factores, pero para los propósitos de la presente invención ciertos tipos o especies de bacterias pueden considerarse beneficiosos y otros perjudiciales. Ejemplos de miembros beneficiosos de la flora intestinal incluyen las bifidobacterias (especies del género *Bifidobacterium*) y las bacterias de ácido láctico, más particularmente especies del género *Lactobacillus*. Las bacterias perjudiciales incluyen bacterias patógenas. Ejemplos de miembros perjudiciales de la flora intestinal incluyen *Clostridium* spp., *Desulfovibrio* spp. (que incluyen sin limitación *D. desulfuricans*, *D. intestinalis* y *D. vulgaris*), *Helicobacter* spp. (que incluyen sin limitación *Helicobacter bizzozeronii*, *H. felis*, *H. heilmannii*, *H. pylori* y *H. salomonis*) y formas patógenas de *Escherichia coli*.

La salud gastrointestinal depende típicamente del mantenimiento de un balance apropiado de bacterias beneficiosas y perjudiciales. Un aumento en la población de bacterias perjudiciales y/o una disminución en la población de bacterias beneficiosas pueden estar asociados con una disminución en la salud gastrointestinal. Inversamente, un aumento en la población de bacterias beneficiosas y/o una disminución en la población de bacterias perjudiciales pueden estar asociados con una mejora de la salud gastrointestinal, por ejemplo restablecimiento de la salud o remisión de los síntomas en un animal que padezca un trastorno gastrointestinal tal como IBD, o prevención de la aparición de enfermedad en un animal que se encuentra en riesgo de sufrir un trastorno de este tipo. El término "asociado con" en el presente contexto no implica necesariamente una relación causal; así pues, el balance de bacterias beneficio-

sas y perjudiciales puede estar implicado en la patogénesis o puede ser meramente sintomático de un trastorno gastrointestinal.

"Mejora" o "mejoramiento" del balance en esta memoria significa desplazamiento del balance a favor de las bacterias beneficiosas, y por consiguiente puede implicar un aumento de bacterias beneficiosas y/o una disminución de bacterias perjudiciales. En algunas realizaciones de la invención, la mejora del balance se debe a la vez a una reducción de las bacterias perjudiciales, v.g., patógenas y a un aumento de las bacterias beneficiosas.

Las poblaciones bacterianas en la flora intestinal pueden estimarse por cualquier procedimiento conocido en la técnica. Por ejemplo, pueden cultivarse muestras de heces utilizando metodologías tradicionales de cultivo en placas, o ilustrativamente por la técnica de hibridación in situ con fluorescencia (FISH).

El animal de que se trata de acuerdo con el método presente es uno "que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD". Un animal que sufre IBD es un animal en el cual ha sido diagnosticado profesionalmente uno cualquiera de un espectro de enfermedades y trastornos inflamatorios gastrointestinales reconocidos como una forma de IBD, o un animal que exhibe síntomas coherentes con dicho diagnóstico. Tales enfermedades y trastornos que incluyen sin limitación síndrome de intestino irritable (IBS), colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. Un animal que sufre IBD crónica pero en remisión en el momento de la aplicación del método se considera en esta memoria que es un animal "que sufre IBD". Un animal que se encuentra en riesgo de IBD es un animal que no presenta historia de IBD o exhibe síntomas de IBD pero que presenta uno o más factores de riesgo que indican una propensión al desarrollo de IBD. Tales factores de riesgo pueden incluir factores genéticos (v.g., una historia familiar de IBD) y factores fisiológicos (v.g., niveles elevados de uno o más biomarcadores pro-inflamatorios y/o niveles reducidos de uno o más biomarcadores anti-inflamatorios).

El animal puede ser humano o no humano, con inclusión de aves, bovinos, cánidos, equinos, felinos, caprinos, murinos, ovinos y porcinos. En algunas realizaciones, el animal es un animal de compañía tal como un cánido o un felino, particularmente un perro o un gato.

De acuerdo con el presente método, se administra al animal una composición que comprende al menos un antioxidante. La administración puede realizarse por cualquier ruta, con inclusión de las rutas oral o parenteral, pero típicamente es oral. En algunas realizaciones, la composición es un alimento que se administra por vía oral. Un alimento de este tipo que comprende al menos un antioxidante puede representar una parte sustancial de la dieta de un animal. Por ejemplo, al menos un antioxidante puede estar presente en un alimento o una gama de alimentos consumida diariamente por el animal y que proporciona una nutrición sustancialmente completa del animal. Alternativa o adicionalmente, puede administrarse al menos un antioxidante como un suplemento nutricional, o puede estar presente en un tentempié, una medicación o un juguete al menos parcialmente comestible proporcionado al animal por separado de su alimentación regular.

Puede utilizarse cualquier antioxidante nutricionalmente aceptable. En algunas realizaciones, se utiliza un antioxidante distinto de uno que tenga propiedades farmacológicas (como en el caso de fármacos tales como 5-ASA o profármacos del mismo). En algunas realizaciones, se utiliza un antioxidante distinto de un polifenol, aunque un antioxidante polifenólico tal como taxifolina puede estar presente opcionalmente además de un antioxidante no-polifenólico. Una diversidad de materiales que exhiben capacidad de extinción o absorción de radicales libres pueden utilizarse como antioxidantes (por ejemplo, frutas, hortalizas, ciertas vitaminas, y otros compuestos químicos). Ingredientes crudos con alto contenido de absorbentes de radicales oxígeno incluyen, por ejemplo, espinaca (v.g., bagazo de espinaca crudo), tomate (v.g., bagazo de tomate crudo), frutos cítricos (v.g. pulpa de cítricos cruda), uva (v.g. orujo de uva crudo), zanahoria (v.g. gránulos de zanahoria crudos), brécol crudo, té verde crudo, harina de gluten de maíz cruda, y salvado de arroz crudo. Alimentos o productos alimenticios que exhiben capacidad de extinción o absorción de radicales libres incluyen, por ejemplo, espinaca (v.g., bagazo de espinaca), tomate (v.g., bagazo de tomate), frutos cítricos (v.g. pulpa de cítricos), uva (v.g. orujo de uva), zanahoria (v.g. gránulos de zanahoria), brécol, harina de gluten de maíz, y salvado de arroz. Compuestos que exhiben capacidad de extinción o absorción de radicales libres incluyen, por ejemplo, vitamina E, vitamina C, carotenoides, coenzima Q₁₀ (ubiquinona), glutatión, L-carnitina, ácido α -lipoico, N-acetilcisteína, S-adenosilmetionina, isoflavonas de soja y taurina.

En algunas realizaciones, la composición a administrar comprende una o más de vitamina E, vitamina C y un carotenoide.

El término "vitamina E" en esta memoria incluye cualquier forma de vitamina E adecuada para consumo por un animal con inclusión, pero sin carácter limitante, de cualquier compuesto de tocoferol o tocotrienol, cualquier enantiómero o racemato de los mismos, y cualquier mezcla de tales compuestos que tenga actividad de vitamina E, v.g. α -tocopherol (5,7,8-trimetiltocol), β -tocopherol (5,8-dimetiltocol), γ -tocopherol (7,8-dimetiltocol), δ -tocopherol (8-metiltocol), α -tocotrienol (5,7,8-trimetiltocotrienol), β -tocotrienol (5,8-dimetiltocotrienol), γ -tocotrienol (7,8-dimetiltocotrienilo), δ -tocotrienol (8-metiltocotrienol). La vitamina E puede administrarse como uno cualquiera o una mezcla de los compuestos anteriores o en la forma de diversos derivados de los mismos tales como ésteres, que incluyen acetato, succinato, palmitato de vitamina E y análogos, que exhiben actividad de vitamina E después de ingestión por un animal. Típicamente, la vitamina E tal como se utiliza en el presente método comprende α -tocopherol o un éster del mismo. Las cantidades de vitamina E pueden expresarse en unidades internacionales (UI) en donde 1 UI es una

cantidad de vitamina E que tiene una actividad de vitamina E equivalente a 1 mg de acetato de DL- α -tocoferilo. Alternativamente, las cantidades de vitamina E pueden expresarse como tocoferol total.

El término "vitamina C" incluye en esta memoria cualquier forma de vitamina C adecuada para consumo por un animal incluyendo, pero sin carácter limitante, ácido ascórbico, ácido L-ascórbico, y diversos derivados del mismo tales como sal fosfato de calcio, sal de colestero, y ascorbato-2-monofosfato. Sales de vitamina C incluyen sal de sodio, sal de calcio, sal de cinc, y sal ferrosa. Los ésteres incluyen estearato, palmitato y derivados análogos. La vitamina C puede encontrarse en cualquier forma física tal como un líquido, un semisólido, un sólido, o una forma térmicamente estable que exhibe actividad de vitamina C después de ingestión por un paciente. Las cantidades de vitamina C se expresan en esta memoria como ácido ascórbico.

El término "carotenoide" incluye en esta memoria cualquier forma de un carotenoide adecuada para consumo por un animal con inclusión, pero sin carácter limitante, de carotenoides naturales y sintéticos derivados de pigmento amarillo-naranja en plantas, algas, hojas, raíces, vegetación, harina de tomate, aceite de palma rojo, polvo de tomate, y bagazo/pulpa de tomate. El carotenoide β -caroteno es un precursor de vitamina A que se encuentra naturalmente en las plantas. La actividad antioxidante de los carotenoides es por regla general independiente de cualquier actividad de vitamina A que puedan poseer los mismos como resultado del metabolismo a vitamina A por un animal. A este respecto, debe indicarse que los gatos en particular son generalmente incapaces de convertir β -caroteno en vitamina A. Otros carotenoides incluyen astaxantina, α -caroteno, criptoxantina, luteína, licopeno y zeaxantina.

Cantidades adecuadas de uno o más antioxidantes para administración en esta memoria pueden expresarse en relación con la cantidad de alimento (expresada típicamente basado en materia seca) consumida por el animal. Ilustrativamente, la composición que contiene antioxidantes puede administrarse en una cantidad que proporciona uno o más de:

a. vitamina E en una cantidad total de tocoferol de aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 μ g, por ejemplo aproximadamente 100 a aproximadamente 800 μ g, o aproximadamente 200 a aproximadamente 600 μ g;

b. vitamina C en una cantidad de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 μ g, por ejemplo aproximadamente 50 a aproximadamente 200 μ g, aproximadamente 75 a aproximadamente 150 μ g; y

c. carotenoide, v.g., β -caroteno, en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 μ g, por ejemplo aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2 μ g, o aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 μ g, por gramo de alimento consumido, basado en materia seca.

En los casos en que la composición a administrar de acuerdo con el presente método es un alimento que forma una parte sustancial de la dieta en un animal, el alimento debería comprender típicamente, basado en materia seca, uno o más de:

a. vitamina E en una cantidad total de tocoferol de aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 μ g/g, por ejemplo aproximadamente 100 a aproximadamente 800 μ g/g, o aproximadamente 200 a aproximadamente 600 μ g/g;

b. vitamina C en una cantidad de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 μ g/g, por ejemplo aproximadamente 50 a aproximadamente 200 μ g/g, o aproximadamente 75 a aproximadamente 150 μ g/g; y

c. carotenoide, v.g., β -caroteno, en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 μ g/g, por ejemplo aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2 μ g/g, o aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 μ g/g.

En una realización, están presentes los tres de vitamina E, vitamina C y carotenoide (v.g., β -caroteno), ilustrativamente en las cantidades arriba indicadas.

En el caso en que una composición que comprende vitamina E, vitamina C y/o un carotenoide es distinta de un alimento que forma una parte sustancial de la dieta de un animal, la misma debería administrarse típicamente en una cantidad coherente con la arriba indicada, en relación con la cantidad de alimento consumida por el animal. Típicamente, en el caso de un suplemento, un tentempié, una medicación o un juguete al menos parcialmente comestible, la composición contiene concentraciones mayores de antioxidante(s) que las arriba indicadas, dado que la cantidad total de tales composiciones consumida es sustancialmente menor que en el caso de un alimento que forme una parte sustancial de la dieta.

De acuerdo con la invención, se ha encontrado sorprendentemente que la administración de un alimento enriquecido en vitamina E, vitamina C y β -caroteno puede mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en la flora intestinal de un animal en comparación con un alimento comparativo que tenga niveles inferiores de estos antioxidantes. En algunos casos, la mejora implica a la vez un aumento en la población de bacterias beneficiosas y una disminución en la población de bacterias perjudiciales.

En algunas realizaciones de la invención, la mejora del balance de la flora intestinal atribuible a la práctica del método está asociada con reducción de la inflamación, más particularmente reducción de la inflamación gastrointestinal,

tal como inflamación de la mucosa colónica. La reducción de la inflamación puede observarse directamente, por ejemplo, por colonoscopia, o puede evidenciarse por una disminución en uno o más biomarcadores pro-inflamatorios y/o un aumento en uno o más biomarcadores anti-inflamatorios en un fluido biológico o tejido del animal. Ejemplos de biomarcadores pro-inflamatorios que pueden estar reducidos en el suero sanguíneo incluyen la proteína C reactiva (CRP), glutatión oxidado (GSSG), alquenes, amiloide A del suero (SAA) y factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α , una citoquina pro-inflamatoria). Ejemplos de biomarcadores anti-inflamatorios que pueden estar incrementados en el suero sanguíneo incluyen glutatión reducido (GSH), capacidad absorbente de radicales oxígeno (ORAC), y las citoquinas anti-inflamatorias factor del crecimiento transformante beta (TGF- β) e interleuquina 10 (IL-10).

Opcionalmente, un método de la invención comprende, además de la administración de una composición que comprende un antioxidante, administración de uno o más de un probiótico y un prebiótico.

Un probiótico es una preparación o composición que comprende microbios viables, por ejemplo bacterias, mohos o levaduras. Probióticos de interés en esta invención comprenden al menos una clase de bacterias beneficiosas, por ejemplo bifidobacterias y/o bacterias de ácido láctico. En una realización, un probiótico útil en esta invención comprende bacterias beneficiosas que comprenden una o más de *Bifidobacterium* spp, y *Lactobacillus* spp. Especies adecuadas incluyen, sin limitación, *Bifidobacterium animalis* (con inclusión de *B. animalis* subesp. *lactis*, a la que se hace referencia a veces como *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* (con inclusión de *B. infantis*), *Bifidobacterium thermophilum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus animalis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, y *Lactobacillus rhamnosus*.

Puede incluirse un probiótico en la misma composición que el antioxidante, por ejemplo en una composición alimenticia, o el mismo puede administrarse por separado. Una cantidad adecuada de un probiótico es por regla general aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{12} cfu (unidades formadoras de colonias) por gramo de alimento basado en materia seca consumida por el animal.

En combinación con el antioxidante, un probiótico puede mejorar el balance de la flora intestinal simplemente por actuar como un inóculo para una población incrementada de bacterias beneficiosas, y/o por antagonizar el crecimiento de bacterias perjudiciales. En algunas situaciones, puede tener lugar co-acción del antioxidante y un probiótico, y esto puede conducir en ciertas circunstancias a una interacción sinérgica del antioxidante y el probiótico, aunque dicha sinergia no es un requisito en esta memoria.

Un prebiótico es una sustancia no digerible que estimula preferentemente el crecimiento de bacterias beneficiosas. La mayoría de los prebióticos son carbohidratos fermentables; ejemplos incluyen oligosacáridos, galactanos y β -glucanos, que pueden obtenerse de diversas fuentes vegetales y microbianas. Ejemplos específicos incluyen arabinogalactano, fructooligosacárido (FOS) e inulina, un polisacárido que produce FOS. El prebiótico puede administrarse por separado o en la misma composición, v.g. una composición alimentaria, que el antioxidante.

En otra realización adicional, un método de la invención comprende administrar un agente anti-IBD, además de una composición que comprende un antioxidante, y opcionalmente un probiótico y/o un prebiótico. Un "agente anti-IBD" en esta memoria es un agente farmacológico, típicamente un fármaco o una preparación herbal, que proporciona beneficio terapéutico a un paciente de IBD, por ejemplo en reducción de la inflamación, alivio de síntomas tales como dolor y/o diarrea, etc. Ejemplos adecuados incluyen, sin limitación, esteroides tales como beclometasona, budesonida, prednisona, prednisona y tixocortol; preparaciones liberadoras de 5-ASA tales como mesalamina, olsalazina y sulfasalazina; metronidazol; azatioprina; etc. El agente anti-IBD puede administrarse por cualquier ruta adecuada, con inclusión de las rutas oral, parenteral, transdérmica y rectal. Si se desea, puede incluirse un agente anti-IBD adecuado para administración oral en la misma composición que el antioxidante.

Es también un aspecto de la invención el uso de al menos un antioxidante en la preparación de una composición para mejora del balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD. Todas las realizaciones descritas o enumeradas anteriormente por el método de la invención son igualmente aplicables para dicho uso.

En otra realización adicional, la invención proporciona una composición alimenticia, útil por ejemplo en la práctica de un método como se describe en esta memoria. Una composición alimenticia de la presente realización tiene típicamente un contenido de energía y nutrientes metabolizables que la hacen adecuada como una parte sustancial de la dieta de un animal. La composición comprende, basado en materia seca, (1) al menos uno de:

a. vitamina E en una cantidad total de tocoferol de aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 $\mu\text{g/g}$, por ejemplo aproximadamente 100 a aproximadamente 800 $\mu\text{g/g}$, o aproximadamente 200 a aproximadamente 600 $\mu\text{g/g}$;

b. vitamina C en una cantidad de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 $\mu\text{g/g}$, por ejemplo aproximadamente 50 a aproximadamente 200 $\mu\text{g/g}$, o aproximadamente 75 a aproximadamente 150 $\mu\text{g/g}$; y

c. carotenoide, v.g., β -caroteno, en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 $\mu\text{g/g}$, por ejemplo aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2 $\mu\text{g/g}$, o aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 $\mu\text{g/g}$;

y (2) al menos uno de un probiótico y un prebiótico.

En una realización ilustrativa, la composición comprende un probiótico que comprende bacterias beneficiosas de una o más de *Bifidobacterium* spp, y *Lactobacillus* spp. Una cantidad adecuada de probiótico es como valor típico aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{12} cfu/g/g, basada en materia seca.

- 5 En otra realización ilustrativa, la composición comprende un prebiótico que comprende uno o más de un oligosacárido, un galactano o un β -glucano.

La composición alimenticia contiene generalmente cantidades y un balance de nutrientes apropiado para el animal al que está destinada. En una realización, la composición es un alimento para mascotas, por ejemplo un alimento nutricional y/o organolépticamente adaptado para alimentar a un animal de compañía tal como un cánido o un felino.

- 10 Un kit de la invención comprende (1) una composición que comprende al menos un antioxidante, y (2) al menos uno de:

a. un probiótico;

b. un prebiótico;

c. un alimento base;

- 15 d. un agente anti-IBD; y

e. instrucciones para administrar la composición que contiene el antioxidante y opcionalmente otros componentes del kit a un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, a fin de mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal.

- 20 Los componentes del kit pueden empaquetarse juntos, por ejemplo proporcionados en envases separados dentro de un paquete exterior único o empaquetarse juntos de otro modo. Alternativamente, los componentes del kit pueden empaquetarse por separado pero hacerse disponibles (v.g. venderse, ofrecerse para venta o comercializarse) de tal modo que un consumidor puede obtener todos los componentes necesarios. Esto puede realizarse mediante, por ejemplo, "empaquetamiento virtual", en el cual las instrucciones en un medio separado de los componentes físicos del kit se refieren al uso de los componentes físicos del kit. El medio para las instrucciones puede ser, pero sin carácter limitante, un impreso, una emisión por radio o televisión, una página de Internet, o una presentación visual, por ejemplo en un punto de venta.

- 25 En una realización, el kit comprende un alimento base, una composición que comprende al menos un antioxidante, y uno o más de un probiótico y un prebiótico. El alimento base contiene cantidades y un balance de nutrientes apropiado para el animal al que se destina, pero contiene un bajo nivel de antioxidantes, generalmente insuficiente para proporcionar mejora del balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal. La composición que contiene el antioxidante actúa como suplemento, para adición a o mezcla con el alimento base, a fin de proporcionar un alimento enriquecido en antioxidantes capaz de proporcionar la mejora deseada. Un probiótico y/o un prebiótico, si se incluyen en el kit, pueden estar presentes en el suplemento, o en el alimento base, o en un envase separado. El kit de esta realización comprende además opcionalmente instrucciones para adición o mezcla del suplemento con el alimento base y/o información acerca de los beneficios de dicha adición o mezcla.

En otra realización adicional, se proporciona un medio para ofrecer información acerca y/o instrucciones para uno o más de:

- 40 a. administrar una composición que comprende al menos un antioxidante, opcionalmente en asociación con uno o más de (i) un probiótico, (ii) un prebiótico, y (iii) un agente anti-IBD, a un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, para mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal del animal;

- 45 b. añadir una composición que comprende al menos un antioxidante con uno o más de (i) un probiótico, (ii) un prebiótico, (iii) un agente anti-IBD y (iv) un alimento base, a fin de proporcionar una combinación para administración a un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, a fin de mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal del animal; y

c. utilizar un kit de la presente invención para mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD;

- 50 en donde el medio comprende uno o más de un artículo, un medio de almacenamiento digital, un medio de almacenamiento óptico, una presentación en audio y una presentación visual que contiene la información y/o las instrucciones. Ilustrativamente, el medio puede comprender una página expuesta en Internet, un folleto, una etiqueta de producto, un prospecto en el paquete, un anuncio o una presentación visual.

La invención no se limita a la metodología, protocolos y reactivos particulares descritos en esta memoria, dado que los mismos pueden variar. Adicionalmente, la terminología utilizada en esta memoria tiene por objeto describir únicamente realizaciones particulares y no pretende limitar el alcance de la presente invención. Como se utiliza en esta memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un(a)", "uno(a)" o "el(la)" incluyen la referencia plural a no ser que el contexto dicte claramente otra cosa. Análogamente, los términos "comprenden", "comprende" y "que comprende(n)" deben interpretarse de manera inclusiva y no exclusiva.

A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos y cualesquiera acrónimos utilizados en esta memoria tienen los mismos significados que son entendidos comúnmente por una persona con experiencia ordinaria en la técnica del campo de la invención. Aunque en la práctica de la presente invención pueden utilizarse cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en esta memoria, se describen aquí los métodos, dispositivos, y materiales preferidos.

Todas las patentes, solicitudes de patente, y publicaciones mencionados en esta memoria se incorporan por la presente por referencia en la extensión permitida por la ley para el propósito de describir y exponer los compuestos, procesos, técnicas, procedimientos, tecnología, artículos, y otras composiciones y métodos descritos en dichos lugares que podrían utilizarse con la presente invención. Sin embargo, nada de lo contenido en esta memoria debe interpretarse como admisión de que la invención no tenga derecho a preceder a dicha descripción en virtud de invención anterior.

Ejemplos

La invención puede ilustrarse adicionalmente por los ejemplos siguientes de realizaciones preferidas de la misma, aunque se comprenderá que estos ejemplos se incluyen meramente para propósitos de ilustración y no tienen por objeto limitar el alcance de la invención a no ser que se indique específicamente otra cosa.

Ejemplo 1

Se realiza un estudio con 11 gatos sanos (que no sufren IBD) y 11 gatos diagnosticados con IBD. Se proporciona a los gatos una comida estándar envasada para mascotas felinas con o sin enriquecimiento de antioxidantes (véase análisis en la Tabla 1) durante 2 semanas, seguido por paso a la otra comida, que se proporciona durante dos semanas más.

Tabla 1

Análisis de Comidas No enriquecidas (control) y Enriquecidas (test) (DM = Materia Seca)		
	Comida de Control	Comida de Test
Humedad (%)	75	74
Proteína (%)	9	9
Grasa (%)	8	8
Carbohidrato (%)	6	7
Fibra Cruda (%)	0,2	0,2
Tocoferol Total (µg/g DM)	79	221
Vitamina C (µg/g DM)	34	87
B-Caroteno (µg/g DM)	0,05	0,92

Al final de cada periodo de alimentación de dos semanas, se toman muestras de sangre de cada gato. Se miden los niveles en suero de glutatión reducido y oxidado (GSH y GSSG respectivamente) como biomarcadores de antioxidantes. Los niveles medios se muestran en la Tabla 2. Se miden asimismo los niveles de proliferación de linfocitos T en respuesta a los mitógenos inespecíficos concanavalina A (ConA) y mitógeno de fitolaca (PWM) como biomarcadores de respuesta inflamatoria. Los niveles de respuesta medios se muestran en la Tabla 3.

Tabla 2

Niveles de GSH y GSSG en el Suero de los Gatos con las Comidas de Control y de Test				
	GSH (pmol/g proteína)		GSSG (pmol/g proteína)	
	Control	Test	Control	Test
Gatos Sanos	9,1	9,7	0,2	0,2
Gatos con IBD	8,5	9,1	0,2	0,2

Tabla 3

Respuesta de Proliferación de Linfocitos T a los Mitógenos ConA y PWM				
	ConA		PWM	
	Control	Test	Control	Test
Gatos Sanos	1,1	1,1	0,6	0,6
Gatos con IBD	1,4	1,3	0,9	0,8

Como se muestra en la Tabla 2, la alimentación con la comida enriquecida con antioxidantes da como resultado niveles mayores de GSH tanto en los gatos sanos como en los gatos con IBD. Cuando se aporta la comida de control (no enriquecida), el nivel de GSH en los gatos con IBD es menor que en los gatos sanos; la alimentación con la comida enriquecida en antioxidantes eleva el nivel de GSH en los gatos con IBD a un nivel comparable al de los gatos sanos con la comida de control.

Como se muestra en la Tabla 3, la alimentación con la comida enriquecida en antioxidantes a gatos con IBD lleva la respuesta de proliferación de linfocitos T a un nivel más próximo al observado en los gatos sanos. Sin embargo, esta respuesta no está totalmente normalizada (no llegaba a ser igual a la de los gatos sanos).

Ejemplo 2

Se conduce un estudio con 11 gatos sanos y 11 gatos diagnosticados con IBD. Se alimentan los gatos durante 4 semanas con cada una de las mismas comidas de control (no enriquecida) y de test (enriquecida en antioxidantes) empleadas en el Ejemplo 1, seguido por paso a la otra comida, que se da durante 4 semanas más. Se recogen muestras de heces (fecales) al comienzo y al final de cada periodo de alimentación de 4 semanas, y se someten a cultivo bacteriano utilizando la metodología tradicional de cultivo en placas. Se obtienen recuentos para dos clases de bacterias perjudiciales (Clostridios y E. coli) y dos clases de bacterias beneficiosas (bacterias de ácido láctico y bifidobacterias). Los resultados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4

Log 10 cfu/g Heces por la Metodología Tradicional de Cultivo en Placas					
		Clostridios	E. Coli	Bacterias de Ácido Láctico	Bifidobacterias
Gatos Sanos	Control	7,51	6,43	8,73	9,33
	Test	6,32	5,77	8,30	10,21
Gatos con IBD	Control	7,67	9,41	8,69	9,91
	Test	7,60	8,48	8,95	10,42

Como se muestra en la Tabla 4, la población de E. coli es aproximadamente 3 unidades log (aproximadamente 1000 veces) mayores en las muestras de los gatos con IBD que en las muestras procedentes de gatos sanos. Los gatos alimentados con la comida enriquecida en antioxidantes exhiben una disminución de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1 unidad log en la población de E. coli por comparación con la comida de control. La comida enriquecida en antioxidantes tiende también a reducir las poblaciones de Clostridium, aunque este efecto es más acusado en los gatos sanos que en los gatos con IBD. Entretanto, las poblaciones de bacterias beneficiosas (tanto bacterias de ácido láctico como bifidobacterias) están incrementadas en los gatos con IBD alimentados con la comida enriquecida en antioxidantes por comparación con los alimentados con la comida de control. En los gatos sanos únicamente las bifidobacterias exhiben un aumento en respuesta a la comida enriquecida en antioxidantes en este estudio.

De este estudio puede deducirse que la administración de una dieta enriquecida en antioxidantes a animales con IBD puede mejorar el balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en la flora intestinal. Dicha mejora puede favorecerse adicionalmente, por ejemplo suplementándola con una comida enriquecida en antioxidantes con uno o más probióticos que comprenden bacterias beneficiosas tales como *Lactobacillus* spp, o *Bifidobacterium* spp.

- 5 En la memoria descriptiva, se han descrito realizaciones preferidas atípicas de la invención y, aunque se emplean términos específicos, los mismos se utilizan en un sentido genérico y descriptivo únicamente y no para propósitos de limitación, especificándose el alcance de la invención en las reivindicaciones. Obviamente, son posibles muchas modificaciones y variaciones de la invención a la vista de las enseñanzas anteriores. Por consiguiente, debe entenderse que dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas, la invención puede practicarse de modo distinto que
- 10 como se ha descrito específicamente.

REIVINDICACIONES

1. Uno o más antioxidantes para uso en la mejora del balance de bacterias beneficiosas y deletéreas en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir enfermedad intestinal inflamatoria (IBD).
- 5 2. El uno o más antioxidantes de la reivindicación 1 en donde la mejora comprende un aumento en el nivel de bacterias beneficiosas y una disminución en el nivel de bacterias perjudiciales.
3. El uno o más antioxidantes de la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde las bacterias beneficiosas comprenden una o más de *Lactobacillus* spp, y *Bifidobacterium* spp y/o las bacterias perjudiciales comprenden una o más de *Clostridium* spp, *Desulfovibrio* spp, *Helicobacter* spp, y formas patógenas de *Escherichia coli*.
- 10 4. El uno o más antioxidantes de cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde la mejora está asociada con reducción de inflamación, y en donde preferiblemente la reducción de inflamación se evidencia por una disminución en un biomarcador pro-inflamatorio y/o un aumento en un biomarcador anti-inflamatorio en un fluido biológico o tejido del animal.
- 15 5. El uno o más antioxidantes de la reivindicación 4 en donde al menos uno de CRP en el suero, glutatión oxidado, alquenoales, amiloide y TNF- α se reduce y/o al menos uno de glutatión reducido en el suero, ORACs, TGF- β e IL-10 se incrementa.
6. El uno o más antioxidantes de cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde el antioxidante comprende uno o más de vitamina E, vitamina C y un carotenoide.
- 20 7. El uno o más antioxidantes de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores que es un alimento, un suplemento, un tentempié, un tratamiento, o un juguete al menos parcialmente comestible, preferiblemente un alimento administrado por vía oral como una parte de la dieta del animal.
8. El uno o más antioxidantes de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en conjunción con uno o más agentes anti-IBD como una preparación combinada para uso en la mejora del balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD.
- 25 9. El uno o más antioxidantes de cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde el animal es un cánido o un felino.
10. Un uso de al menos un antioxidante en la preparación de una composición para mejora del balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD.
- 30 11. Una composición alimenticia que comprende, basado en materia seca, al menos uno de:
 - a. vitamina E en una cantidad total de tocoferol de aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 $\mu\text{g/g}$;
 - b. vitamina C en una cantidad de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 $\mu\text{g/g}$; y
 - c. β -caroteno en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 $\mu\text{g/g}$; y que comprende adicionalmente al menos uno de un probiótico y un prebiótico.
- 35 12. La composición de la reivindicación 11 que comprende, basado en materia seca, al menos uno de:
 - a. vitamina E en una cantidad total de tocoferol de aproximadamente 100 a aproximadamente 800 $\mu\text{g/g}$;
 - b. vitamina C en una cantidad de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 $\mu\text{g/g}$; y
 - c. β -caroteno en una cantidad de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2 $\mu\text{g/g}$.
- 40 13. La composición de la reivindicación 11 o la reivindicación 12 que comprende un probiótico que comprende bacterias beneficiosas que comprenden una o más de *Bifidobacterium* spp, y *Lactobacillus* spp y/o que comprenden un prebiótico que comprende uno o más de un oligosacárido, un galactano o un β -glucano, comprendiendo preferiblemente un probiótico en una cantidad, basada en materia seca, de aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{12} cfu/g.
- 45 14. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13 para uso en la mejora del balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal de un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD.
15. Un kit que comprende (1) una composición que comprende al menos un antioxidante, y (2) al menos uno de:
 - a. un probiótico;

- b. un prebiótico;
 - c. una comida base;
 - d. un agente anti-IBD; y
 - e. instrucciones para administrar la composición que contiene el antioxidante y opcionalmente otros componentes del kit a un animal que sufre o se encuentra en riesgo de sufrir IBD, para uso en la mejora del balance de bacterias beneficiosas y perjudiciales en el tracto gastrointestinal.
- 5