

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 902**

51 Int. Cl.:
C12N 1/04 (2006.01)
A61K 9/42 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06709247 .8**
96 Fecha de presentación: **06.02.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1848794**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **31.10.2007**

54 Título: **Composiciones que comprenden microorganismos deshidratados, sus procesos de preparación y sus utilizaciones**

30 Prioridad:
07.02.2005 FR 0501232

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
05.09.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
05.09.2012

73 Titular/es:
VIRBAC S.A.
1ERE AVENUE 2065M - LID
F-06516 CARROS, FR

72 Inventor/es:
DERRIEU, Guy

74 Agente/Representante:
Isern Jara, Jorge

ES 2 386 902 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).

DESCRIPCION

Composiciones que comprenden microorganismos deshidratados, sus procesos de preparación y sus utilizaciones

- 5 La presente invención se refiere a composiciones que comprenden microorganismos deshidratados viables, los procesos de obtención de dichas preparaciones y sus utilizaciones como aporte alimenticio, especialmente dietético, o como medicamento.
- 10 La flora intestinal del hombre y de los animales, en particular de los animales de sangre caliente, presenta numerosas especies de microorganismos. Se trata especialmente de bacterias cuya presencia es esencial, no sólo para la digestión, sino también, y más generalmente, para la salud.
- 15 Asimismo, se han desarrollado numerosos productos alimenticios o medicamentos dirigidos a suministrar microorganismos capaces de reconstituir la flora intestinal del hombre y de los animales.
- 20 Por lo general, para la fabricación de dichos productos alimenticios o medicamentos los microorganismos se someten previamente a deshidratación. Además, se asocian a compuestos que tienen preferentemente propiedades prebióticas, es decir que son capaces de estimular el desarrollo de los microorganismos.
- 25 No obstante, los microorganismos deshidratados de esos productos alimenticios están sometidos a estrés. Se trata de estrés debido al medio ambiente. Se mencionarán, por ejemplo, el calor y la humedad. También se trata de estrés no necesariamente debido al medio ambiente. Se mencionará, por ejemplo, el estrés químico, como la acidez, o el estrés enzimático.
- 30 Estos distintos tipos de estrés afectan a la viabilidad de los microorganismos deshidratados de manera que, en la práctica, no es posible garantizar la presencia de una cantidad sustancial de microorganismos viables en esos productos alimenticios, aunque el tiempo de conservación de dichos productos sea breve.
- 35 Por supuesto, se ha buscado desarrollar composiciones que incluyan microorganismos deshidratados viables en las que dichos microorganismos estén protegidos de los distintos tipos de estrés fisicoquímico a los que normalmente se hallan sometidos.
- 40 Esas composiciones intentan proteger a los microorganismos recubriéndolos con una sustancia protectora. Estas composiciones aparecen divulgadas especialmente en los documentos publicados con los números FR-2 806 417, FR-2 748 752 y US-2004/0175389. En el documento FR-2 806 417, los microorganismos están recubiertos por una sustancia protectora hidrófoba. Por otra parte, en la patente FR-2 748 752 las bacterias están recubiertas por polímeros. Por último, en el documento US-2004/0175389 las bacterias están recubiertas por un gel de ácido algínico.
- 45 Sin embargo, el recubrimiento de bacterias deshidratadas es una operación que, en sí misma, resulta estresante y que, por consiguiente, conduce a la destrucción de una cantidad sustancial de las bacterias presentes en las composiciones obtenidas. Además, el recubrimiento es una operación relativamente compleja y aleatoria a lo largo de la producción.
- 50 Teniendo en cuenta lo expuesto en los párrafos anteriores, un problema que se propone resolver la invención es realizar una composición que comprenda microorganismos deshidratados viables, así como un procedimiento de preparación de dicha composición, que presente cierta estabilidad de los microorganismos a lo largo del tiempo.
- 55 La solución de la invención a este problema que se plantea tiene como primer objetivo una composición que comprenda microorganismos deshidratados viables y se caracteriza por incluir también partículas de las cuales al menos el 50% tiene un diámetro medio superior a 250 µm.
- 60 La solución de la invención tiene como segundo objetivo un proceso de preparación de una composición alimenticia o medicamentosa que se caracteriza por comprender las etapas siguientes de: - deshidratación de los microorganismos viables; y de - mezcla de los microorganismos deshidratados con partículas de las cuales al menos el 50% tiene un diámetro medio superior a 250 µm.
- 65 Por último, esta solución tiene como tercer objetivo la utilización de una composición según se ha descrito anteriormente como aporte alimenticio o como medicamento de uso humano o veterinario.
- De manera sorprendente, cuando una composición comprende a la vez microorganismos deshidratados y partículas de las cuales al menos el 50% tiene un diámetro medio superior a 250 µm, una cantidad sustancial de microorganismos deshidratados, en la práctica más del 20%, sigue siendo viable durante un mínimo de 18 meses.
- La invención se comprenderá mejor con la lectura de la descripción no limitativa que se incluye a continuación.

La composición según la invención comprende microorganismos y partículas.

Los microorganismos de la composición son organismos unicelulares eucariotas o procariotas de tamaño microscópico. Se trata preferentemente de bacterias o levaduras y, más preferentemente, de bacterias o levaduras que presentan propiedades probióticas, es decir provechosas para el organismo del cuerpo humano o animal.

Entre las bacterias susceptibles de entrar en las composiciones según la invención se elegirán preferentemente las bacterias de la familia de las *Lactobacillaceae*, de las *Bifidobacteriaceae*, de las *Streptococcaceae*, de las *Enterococcaceae* o de las *Bacillaceae*. A título de ejemplos no limitativos de bacterias de la familia de las *Lactobacillaceae* pueden mencionarse las especies siguientes: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosaceus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius* y *Pediococcus adicilactici*. A título de ejemplos no limitativos de bacterias de la familia de las *Bifidobacteriaceae* pueden mencionarse las especies siguientes: *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium pseudolongum*. A título de ejemplos no limitativos de bacterias de la familia de las *Streptococcaceae* pueden mencionarse las especies siguientes: *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus salivarius* y *Lactococcus lactis*. A título de ejemplos no limitativos de bacterias de la familia de las *Enterococcaceae* puede mencionarse la especie *Enterococcus faecium*. A título de ejemplos no limitativos de bacterias de la familia de las *Bacillaceae* pueden mencionarse las especies siguientes: *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*.

Entre las levaduras susceptibles de entrar en las composiciones según la invención, se elegirán preferentemente las levaduras de la familia de las *Saccharomycetaceae*. Pueden mencionarse las del género *Saccharomyces*, como las *Saccharomyces boulardii* y *Saccharomyces cerevisiae* y las *Kluyveromyces*.

Los microorganismos según la invención se someten a deshidratación. El tamaño de dichos organismos después de la deshidratación es generalmente inferior a 50 µm. Se obtienen mediante métodos convencionales como la molturación después de la liofilización, o mediante atomización o secado en lecho de aire fluidizado de biomasas más o menos concentradas y más o menos puras de microorganismos.

Además, los microorganismos según la invención son viables. Por lo tanto, presentan la capacidad de reanudar la actividad vital después de un período de anhidrobiosis.

Las partículas de la composición según la invención pueden comprender todos los constituyentes, solos o en mezcla, utilizados en la fabricación o la preparación de una composición alimenticia o medicamentosa. Se trata en particular de vitaminas, de oligoelementos, de minerales y de sus sales, de cargas como los azúcares o los aminoácidos o de harinas vegetales, solas o en mezcla, que aportan a dicha composición diversas propiedades, por ejemplo, físicas, como su solubilización en medio acuoso o la efervescencia en presencia de dicho medio, terapéuticas, de contribución a la regeneración, de complemento nutritivo o de mejora del sabor. También puede tratarse de principios activos farmacéuticos como, por ejemplo, antibióticos, antiinflamatorios, antiparasitarios, antiácidos, analgésicos o tranquilizantes. Por lo general, las partículas están considerablemente exentas de microorganismos.

A título de ejemplos no limitativos de vitaminas pueden citarse la vitamina A, la vitamina B1, la vitamina B2, la vitamina B3, la vitamina B4, la vitamina B5, la vitamina B6, la vitamina B8, la vitamina B9, la vitamina B12, la vitamina BT, la vitamina Bx, la vitamina C, la vitamina D, la vitamina D2, la vitamina D3, la vitamina E, la vitamina F, la vitamina G, la vitamina H, la vitamina K, la vitamina K3, la vitamina M, la vitamina P, la vitamina P4 y la vitamina PP. A título de ejemplos no limitativos de oligoelementos pueden citarse el calcio, el cobalto, el cobre, el hierro, el flúor, el yodo, el magnesio, el manganeso, el selenio y el zinc. A título de ejemplos no limitativos de fuente de minerales pueden citarse especialmente el cloruro de calcio, el cloruro de potasio, el gluconato de cobre, el fluoruro de sodio, el yoduro de potasio, el sulfato de manganeso, el estearato de magnesio, el sulfato de zinc y el succinato ferroso. A título de ejemplos no limitativos de cargas pueden citarse los azúcares y agentes de carga como los fructanos, en particular la inulina, los fructooligosacáridos (FOS), los galactooligosacáridos (GOS), o transgalactooligosacáridos (TOS), los xilooligosacáridos (XOS), ciertas maltodextrinas, las polidextrosas, la lactulosa, los aminoácidos y las fibras alimenticias. Las harinas vegetales son, por ejemplo, residuos de granos o de frutos oleaginosos de los que se extrae aceite.

Por otra parte, las partículas de la composición comprenden preferentemente agentes efervescentes formados por una mezcla de al menos un ácido y un agente alcalino. A título de ejemplos no limitativos de ácidos pueden citarse el ácido tartárico, el ácido cítrico, el ácido maleico, el ácido fumárico, el ácido málico, el ácido adipico, el ácido succínico, el ácido láctico, el ácido glicólico, los alfa-hidroxiácidos, el ácido ascórbico y los ácidos aminados, así como las sales y los derivados de esos ácidos. A título de ejemplos no limitativos de agentes alcalinos pueden citarse el bicarbonato de potasio y de sodio, el carbonato de potasio, de sodio, de calcio y de amonio o el carbonato de L-lisina, de arginina y de glicina sódica, y los carbonatos sódicos de ácidos aminados.

Los constituyentes anteriormente mencionados se presentan generalmente bajo una forma sólida. Las partículas son secas, al menos en su superficie, y suelen presentarse bajo una forma esférica, ovoide o alargada. Su superficie es lisa o rugosa, de modo regular o irregular.

5 Según la invención, al menos el 50% de las partículas tiene un diámetro medio superior a 250 μm e inferior a 2.000 μm , preferentemente 1.000 μm . Se distribuyen en una curva granulométrica casi exclusivamente comprendida entre 20 y 2.000 μm y, preferentemente, entre 50 y 1.000 μm .

10 Las partículas pueden obtenerse mediante granulación y por consiguiente presentarse bajo la forma de gránulos. Dicha granulación puede efectuarse mediante mezcla en medio húmedo y comprender etapas de secado y seguidamente de calibración. También puede realizarse en lecho de aire fluidizado o sobre aparatos conocidos por el estado de la técnica, que combinan un conjunto de operaciones que permiten obtener las partículas deseadas mediante compactación, granulación o recubrimiento. En esta última alternativa las partículas están recubiertas.

15 La composición puede comprender además aditivos alimentarios como conservantes, antioxidantes, soportes, acidificantes, correctores de acidez, antiaglomerantes, antiespumantes, emulsificantes, potenciadores del sabor, agentes espumantes, gelificantes, agentes de recubrimiento, humectantes, almidones modificados, agentes secuestrantes, estabilizantes, espesantes y agentes de retención de agua.

20 La composición según la invención resulta, por ejemplo, de una simple mezcla mecánica de microorganismos deshidratados y de partículas como las descritas en párrafos anteriores. En la práctica, comprende preferentemente entre 1 y 80% p/p (peso del peso total de la composición) de microorganismos deshidratados y entre 20 y 99% p/p de partículas, y, más preferentemente, entre 10 y 40% p/p de microorganismos deshidratados y entre 60 y 90% p/p de partículas.

25 Por otra parte, la composición según la invención es seca, es decir nada o poco impregnada de líquido y, en particular, de agua. Presenta preferentemente una actividad del agua inferior a 0,3 y, más preferentemente, una actividad del agua inferior a 0,2.

30 La composición se presenta bajo cualquier forma galénica normalmente utilizada para administración por vía oral. Por lo tanto, puede presentarse bajo forma pulverulenta envasada en sobres, frascos o bolsas, siendo dicha composición eventualmente efervescente, y destinada a ser puesta en solución en el agua. También puede presentarse bajo la forma de cápsulas o grageas, eventualmente gastroresistentes, con recubrimiento duro o blando, o incluso bajo la forma de comprimidos o de gránulos orales, sublinguales o efervescentes, recubiertos o no, por ejemplo, de liberación prolongada.

35 En la práctica, las composiciones según la invención pueden conservarse durante un período de tiempo relativamente largo protegidas de la humedad y a temperatura ambiente. De manera sorprendente, la cantidad de microorganismos viables en esas composiciones al cabo de ese período de tiempo es muy superior a la cantidad de microorganismos viables que habrían podido obtenerse en composiciones según el estado de la técnica, conservadas en las mismas condiciones. De este modo, si se considera que en un tiempo $t = 0$ que corresponde a su envasado una composición comprende el 100% de microorganismos viables, 18 meses más tarde, si se mantiene protegida de la humedad y a temperatura ambiente, dicha composición comprenderá, después del recuento del número de microorganismos (mediante recuento de las colonias obtenidas después de la inoculación en o sobre un medio de cultivo apropiado), al menos aproximadamente un 20% de microorganismos viables. Esto parece sustancial en comparación con las composiciones según el estado de la técnica.

40 En un modo de realización preferente, la composición es soluble o dispersable en medio acuoso. Además, puede ser efervescente. Asimismo, cuando se añade al agua, por ejemplo destinada a la alimentación de animales de gran tamaño como equinos o bovinos, se disuelve o se dispersa. La efervescencia facilita la disolución o la dispersión de la composición en el agua y su difusión en ese medio acuoso. Los microorganismos viables presentes en la composición se rehidratan. La rehidratación es una etapa rápida, que dura unos minutos. Al cabo de esos minutos los animales de gran tamaño absorben el agua en la cual está disuelta o dispersa la composición, con lo cual ingieren los microorganismos rehidratados, así como los componentes provechosos para su organismo como azúcares, vitaminas o prebióticos, si dichos elementos están presentes en la composición inicial.

50 No obstante, se entiende que la composición puede utilizarse para otros fines que no sean la alimentación de animales de gran tamaño. En efecto, puede servir para la alimentación humana y de todos los animales, en particular los de sangre caliente. Constituye un alimento o un medicamento para uso humano o veterinario. La utilización final de la composición según la invención determina la elección de un microorganismo o de una mezcla de microorganismos.

55 El procedimiento de preparación de una composición alimenticia o medicamentosa según la invención se caracteriza porque comprende las etapas de: - deshidratación de los microorganismos viables; y de - mezcla de los microorganismos deshidratados con partículas de las cuales al menos el 50% tiene un diámetro medio superior a 250 μm .

60

65

La deshidratación se realiza según los métodos convencionales descritos anteriormente y la mezcla con las partículas de las cuales al menos el 50% tiene un diámetro medio superior a 250 µm se efectúa según las técnicas habituales conocidas.

- 5 De manera preferente, el procedimiento de preparación se realiza en condiciones de humedad controladas que aseguran una actividad del agua inferior a 0,3 en la composición obtenida.

A continuación se procederá a ilustrar la presente invención mediante los ejemplos siguientes.

10 Ejemplo 1

Se preparan, de manera clásica, mediante rotogranulación, partículas que comprenden vitaminas A, D3, E, K, B1, B2, B3, B5, B6, B12 y C, ácido fólico, biotina, colina, lisina, metionina, triptofano, ácido cítrico, carbonato y bicarbonato de sodio, un absorbente y un emulsificante. El calibre de las partículas se ajusta de manera que dichas partículas presenten una curva granulométrica comprendida entre 50 y 1.000 µm, teniendo el 65% de dichas partículas un tamaño superior a 250 µm. A continuación, se mezcla mecánicamente el 67% en peso del peso total (p/p) de dichas partículas con el 33% p/p de una mezcla de fermentos que comprende los microorganismos siguientes: *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus infantarius*, valorando $2,52 \times 10^9$ CFU, comercializada por la empresa LallemandTM bajo la denominación AdjulactTM. La actividad del agua de la composición efervescente A así obtenida según la invención es de 0,17.

Ejemplo 2

25 Se preparan, de manera clásica, mediante rotogranulación, partículas que comprenden EnerlyteTM (comercializado por la empresa VirbacTM) y, para generar efervescencia, ácido cítrico, carbonato de sodio y bicarbonato de sodio. El calibre de las partículas se ajusta de modo que presenten una curva granulométrica comprendida entre 50 y 1.000 µm, teniendo el 54% de dichas partículas un tamaño superior a 250 µm. A continuación, se mezcla mecánicamente el 67% p/p de dichas partículas con el 33% p/p de una mezcla de fermentos que comprende las bacterias siguientes: *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus infantarius*, valorando dicha mezcla en $2,52 \times 10^9$ CFU (AdjulactTM de LallemandTM). Se obtiene entonces una composición efervescente según la invención en la cual la actividad del agua de la mezcla es de 0,20.

Ejemplo 3

- 35 Se prepara un comprimido según la invención que contiene 3×10^9 CFU de *Saccharomyces cerevisiae* liofilizados, de fórmula:

| Constituyentes | Fórmula unitaria | Fórmula centesimal |
|---|---|--------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> liofilizados* | 499,94 mg | 35,71 |
| Manitol | 689,22 mg | 49,23 |
| Crospovidona | 28,00 mg | 2 |
| Povidona | 56,00 mg | 4 |
| Celulosa microcristalina | 126,00 mg | 9 |
| Estearato de magnesio | 0,84 | 0,06 |
| TOTAL | 1.400,00 mg | 100 |
| Líquido de mojado: | eliminado mediante secado después de la granulación | |
| Agua | qs | |
| Etanol | qs | |

* *Saccharomyces cerevisiae* liofilizados valorando 6×10^9 CFU/g

- 40 Se granula el manitol, la crospovidona y la celulosa monocristalina con la solución hidroalcohólica de povidona. El granulado obtenido se seca y se calibra para obtener un granulado de un tamaño inferior a 800 micras, teniendo el 82% de las partículas un tamaño superior a 250 micras.

45 En un mezclador en seco se procede a homogeneizar los microorganismos con el granulado calibrado obtenido.

Se procede a la compresión con una compresora provista de matrices y punzones de 17 mm de diámetro; previamente se pulveriza sobre las paredes de las matrices y sobre los punzones estearato de magnesio que actúa como lubricante (la cantidad excedente de estearato de magnesio no adherente se aspira antes de la compresión).

- 50 La fuerza de compresión es del orden de 10 a 16 kN, lo cual permite obtener comprimidos que conservan en su estructura la integridad de la mayoría de las partículas calculada en más del 50%. La cantidad de estearato de magnesio distribuida en la superficie de un comprimido es de 0,84 mg, o sea 0,6 por mil.

Ejemplo 4

Se ha llevado a cabo un estudio comparativo de la viabilidad de las bacterias deshidratadas *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus infantarius* presentes en diferentes composiciones en las condiciones siguientes.

La composición A según la invención, descrita en el Ejemplo 1, se ha distribuido en sobres aluminizados soldados de 25 g, que ofrecen una excelente protección contra los gases y la humedad.

Por otra parte, se ha preparado una composición B que comprende exactamente las mismas bacterias y los mismos constituyentes de las partículas que la composición A, según las mismas cantidades y proporciones, pero cuyas partículas presentan, en una gran mayoría, un diámetro medio inferior a 150 µm. Igual que para la composición A, esta composición B, que se presenta en forma pulverulenta, se distribuyó en sobres aluminizados soldados de 25 g idénticos a los de la composición A.

Por último, se preparó una composición C que comprende exactamente las mismas bacterias y los mismos constituyentes de las partículas que las composiciones A y B según el mismo procedimiento aplicado en el ejemplo 1. No obstante, en este caso los microorganismos son partes constituyentes de las partículas. El diámetro medio de las partículas de esta composición C es superior a 300 µm. Como se hizo anteriormente, esta composición C se distribuyó en sobres aluminizados soldados de 25 g idénticos a los de las composiciones A y B.

A continuación, los diferentes sobres de las composiciones A, B y C se colocaron en una estufa mantenida a una temperatura de 40 °C y en presencia de 75% de humedad. Cada semana se analizó un sobre de cada una de las composiciones para determinar el contenido de bacterias viables en cada uno de ellos. Los resultados se incluyen en la siguiente Tabla 1 expresados en CFU/g y en porcentaje de la concentración inicial de microorganismos viables:

Tabla 1

| | Tiempo | | | | | | |
|---------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 0 | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días | 42 días | 50 días |
| Composición A | 4,18 x 10 ⁸ (100%) | 3,71 x 10 ⁸ (88,75%) | 3,05 x 10 ⁸ (72,85%) | 2,12 x 10 ⁸ (52,72%) | 1,10 x 10 ⁸ (26,20%) | 1,10 x 10 ⁸ (26,20%) | 1,10 x 10 ⁸ (26,20%) |
| Composición B | 2,52 x 10 ⁸ (100%) | 1,11 x 10 ⁸ (43,94%) | 1,32 x 10 ⁸ (52,18%) | 3,54 x 10 ⁷ (14,04%) | 0,21 x 10 ⁷ (0,8%) | -- (0%) | -- (0%) |
| Composición C | 2,94 x 10 ⁸ (100%) | 0,15 x 10 ⁸ (5%) | 0,32 x 10 ⁷ (1%) | -- (0%) | -- (0%) | -- (0%) | -- (0%) |

Parece ser que la concentración inicial en bacterias viables de la composición A es superior a la concentración inicial de bacterias viables de la composición C, que es también superior a la concentración inicial de bacterias de la composición B. En consecuencia, parece ser que las etapas de preparación de las composiciones B y C han provocado estrés más o menos importante a las bacterias que las etapas de preparación de la composición A.

En todas las composiciones la concentración de bacterias viables disminuye en función del tiempo. Sin embargo, esta concentración disminuye más lentamente en el caso de la composición A según la invención que en el caso de las otras composiciones.

Asimismo, en el caso de la composición A la concentración de bacterias viables disminuye hasta la obtención de un límite correspondiente a aproximadamente el 26,20% del 100% de las bacterias viables presentes inicialmente en los sobres. En consecuencia, la concentración de bacterias viables aparece estabilizada en el tiempo, al menos hasta 50 días después del ensobrado, en las condiciones operativas citadas anteriormente.

Por supuesto, esta estabilidad constatada en condiciones estresantes debería constatarse, *a fortiori*, en las condiciones reales de conservación de los sobres a temperatura ambiente. Teniendo en cuenta el hecho de que una semana de conservación de los sobres en las condiciones operativas del presente ejemplo equivale a aproximadamente 3 meses de conservación a 25 °C, es válido concluir que una composición según la invención como la composición A, conservada en sobres a temperaturas del orden de los 25 °C, debería comprender una cantidad sustancial de bacterias viables, en la práctica aproximadamente el 26,20% de la concentración inicial, 18 meses después del ensobrado. Como mínimo, el presente ejemplo revela una viabilidad claramente mejorada de los microorganismos deshidratados en comparación con una composición sustancialmente exenta de partículas cuyo diámetro medio es muy inferior a 250 µm (composición B) y en comparación con una composición en la cual los microorganismos son partes constituyentes de las partículas (composición C).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición alimenticia o medicamentosa seca, que comprende entre 1 y 80% p/p de microorganismos deshidratados viables, que se caracteriza porque incluye además entre 20 y 99% de partículas distribuidas en una curva granulométrica comprendida entre 20 y 2.000 μm , de las cuales al menos el 50% tiene un diámetro medio superior a 250 μm , comprendiendo dichas partículas los constituyentes utilizados en la fabricación o la preparación de una composición alimenticia o medicamentosa.
2. Composición según la reivindicación 1, que se caracteriza porque los microorganismos son bacterias o levaduras.
- 10 3. Composición según la reivindicación 2, que se caracteriza porque los microorganismos se seleccionan entre las familias de los *Lactobacillaceae*, las *Bifidobacteriaceae*, los *Streptococcaceae*, los *Enterococcaceae*, los *Bacillaceae* o los *Saccharomycetaceae*, solos o en mezclas.
- 15 4. Composición según una de las reivindicaciones 1, 2 o 3, que se caracteriza porque comprende entre 10 y 40% p/p de microorganismos.
5. Composición según una de las reivindicaciones anteriores, que se caracteriza porque las partículas comprenden vitaminas, oligoelementos, aminoácidos, azúcares, minerales o sus sales, y cargas o harinas vegetales, solos o en mezcla.
- 20 6. Composición según una de las reivindicaciones anteriores, que se caracteriza porque las partículas comprenden agentes efervescentes.
- 25 7. Composición según una de las reivindicaciones anteriores, que se caracteriza porque comprende entre 60 y 90% p/p de partículas.
8. Composición según una de las reivindicaciones anteriores, que se caracteriza porque presenta una actividad del agua inferior a 0,3.
- 30 9. Composición según una de las reivindicaciones anteriores, que se caracteriza porque se presenta en forma de cápsulas, grageas, comprimidos o gránulos.
10. Composición según una de las reivindicaciones anteriores, que se caracteriza porque es soluble o dispersable en agua.
- 35 11. Procedimiento de preparación de una composición alimenticia o medicamentosa seca, que se caracteriza porque comprende las siguientes etapas de:
- deshidratación de microorganismos viables,
y de
40 - mezcla de los microorganismos deshidratados con partículas distribuidas en una curva granulométrica comprendida entre 20 y 2.000 μm , de las cuales al menos el 50% tiene un diámetro medio superior a 250 μm .
12. Procedimiento según la reivindicación 11, que se caracteriza porque se realiza en condiciones de humedad controlada asegurando una actividad del agua inferior a 0,3 en la composición obtenida.
- 45 13. Utilización de la composición según una de las reivindicaciones 1 a 10 como alimento o para la preparación de un medicamento de uso humano o veterinario.