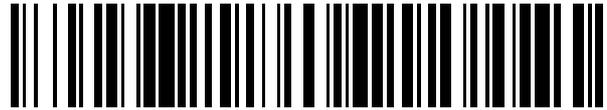


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 566**

51 Int. Cl.:

A23L 1/30 (2006.01)

A61K 39/05 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2008 E 08735504 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2013 EP 2131680**

54 Título: **Prebióticos para mejorar la microflora intestinal**

30 Prioridad:

28.03.2007 EP 07105074

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.12.2013

73 Titular/es:

**NESTEC S.A (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**HUBER-HAAG, KARL-JOSEF;
FICHOT, MARIE-CLAIRE;
ROCHAT, FLORENCE y
SPRENGER, NORBERT**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 434 566 T3

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

DESCRIPCIÓN

Prebióticos para mejorar la microflora intestinal

- 5 La presente invención se refiere a la administración a infantes nacidos por cesárea de una cepa bacteriana prebiótica específica capaz de promocionar una satisfactoria microflora intestinal bifidogénica.

Antecedentes de la invención

- 10 Inmediatamente antes del nacimiento, el tubo gastrointestinal de un bebé se cree que es estéril. Durante el proceso normal del nacimiento, encuentra bacterias del tubo digestivo, piel y entorno de la madre y empieza a ser colonizado. La microflora fecal de un infante de 2 a 4 semanas sano, de parto vaginal, alimentado por el pecho, que se puede considerar como microflora óptima para este grupo de edad, se denomina de especie bifidobacteria con algunas especies de lactobacilos y cantidades menores de Bacteroides tales como Bacteriodes fragilis con exclusión
15 de patógenos potenciales tales como clostridias. Después de terminar el destete a unos 2 años de edad, se establece un modelo de microflora intestinal que se parece a la de un adulto.

- Se debe observar que en los infantes sanos, de parto vaginal, alimentados por el pecho, las bifidobacterias forman la base de la microflora llegando a 60-90% de las bacterias totales del intestino del infante. La alimentación por el
20 pecho promociona también el desarrollo de la barrera intestinal que junto con la dominación bifidobacteriana conduce a una mejor absorción y por lo tanto utilización de la nutrición ingerida.

- Grönlund y otros han estudiado la microflora fecal de infantes sanos nacidos por cesárea y la han comparado con la de un grupo comparable de infantes nacidos por parto vaginal. Llegaron a la conclusión de que la flora intestinal de
25 los infantes nacidos por cesárea puede quedar alterada durante seis meses después del nacimiento. De manera específica, observaron que las proporciones de colonización por bifidobacterias y lactobacilos en el grupo de cesárea llegaban a las proporciones de colonización en el grupo de parto vaginal solamente después de un mes y diez días, respectivamente (Grönlund y otros, "Fecal Microflora in Heathy Infants Born by Different Methods of Delivery: Permanent Changes in Intestinal Flora After Cesarean Delivery", Journal of Pediatric Gastroenterology and
30 Nutrition, 28:19 - 25).

- Otros investigadores han sugerido que la colonización retrasada/aberrante puede tener consecuencias específicas en términos de desarrollo subsiguiente del infante y han relacionado estas consecuencias a las diferencias en la
35 flora intestinal. Por ejemplo, Laubereau y otros descubrieron que los infantes nacidos por cesárea tenían un mayor riesgo de diarrea que los infantes de parto vaginal (Laubereau y otros, Caesarean Section and gastrointestinal symptoms, atopic dermatitis and sensitisation during the first year of life", Arch Dis Child 2004;89:993-997). Negele y otros descubrieron que el parto por cesárea puede constituir un factor de riesgo adicional para la respiración asmática y sensibilización alérgica a alérgenos de los alimentos hasta la edad de dos años (Negele y otros "Mode of delivery and development of atopic disease during the first 2 years of life" Pediatr Allergy Immunol 2004;15:48 - 54).
40 También se ha sugerido que la inflamación de grado inferior, de tipo sistémico, y la microflora intestinal subóptima pueden estar implicados también en el desarrollo de la obesidad (Fantuzzi G. "Adipose tissue, adipokines, and inflammation" J Allergy Clin Immunol. 2005;115:911-919, Bäckhed F, Ding H, Wang T, y otros "The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage" Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101:15718-15723).

- 45 La leche materna es recomendada para todos los infantes. No obstante, en algunos casos, la alimentación por el pecho es inadecuada o poco satisfactoria por razones médicas, o bien la madre decide no alimentar por el pecho. Para estos casos, se han desarrollado fórmulas alimenticias para los infantes.

- En el pasado reciente, se ha tenido considerable atención a ciertas cepas de bacterias porque se ha demostrado
50 que ofrecen características valiosas para el ser humano en caso de ser ingeridas. En particular, cepas específicas del género de lactobacilos y bifidobacterias se ha descubierto que son capaces de colonizar el intestino, reducir la capacidad de bacterias patógenas en adherirse al epitelio intestinal, tener efectos inmunomoduladores y ayudar al mantenimiento del bienestar. Estas bacterias son llamadas en algunos casos probióticos y se ha propuesto ya añadir bacterias probióticas adecuadas a las fórmulas alimenticias para infantes.

- 55 Se han llevado a cabo extensos estudios para identificar nuevas cepas probióticas. Por ejemplo, los documentos EP 0 199 535, EP 0 768 375, WO 97/00078, EP 0 577 903 y WO 00/53200 dan a conocer cepas específicas de lactobacilos y bifidobacterias y sus efectos beneficiosos.

- 60 Más recientemente, se han expresado algunas preocupaciones con respecto a la adición de bacterias probióticas en fórmulas infantiles que están destinadas a ser la única fuente de nutrición para infantes en los primeros seis meses de vida. Estas preocupaciones fueron resumidas en el documento de posición médica del Comité sobre Nutrición ESPGHAN titulado "Probiotic Bacteria in Dietetic Products for Infants" (Journal of Paediatric Gastroenterology and Nutrition, 38:365-374).
65

La microflora intestinal juega un importante papel en la hidrólisis de oligosacáridos y polisacáridos indigeribles

pasando a monosacáridos absorbibles y la activación de la lipoproteína lipasa por acción directa sobre el epitelio veloso. Además, se ha demostrado recientemente que la leche humana contiene no solamente oligosacáridos sino también bifidobacterias. Al mismo tiempo, estudios genómicos han demostrado de manera convincente que las bifidobacterias presentes en el intestino de infantes alimentados por el pecho, tales como *Bifidobacterium Longum*, están especialmente dotadas para utilizar como nutrientes los oligosacáridos de la leche del pecho. La *Bifidobacterium longum* está adaptada también a las condiciones del intestino grueso, en el que tiene lugar la recogida de energía procedente de los carbohidratos absorbibles lentamente.

En pocas palabras, se están produciendo cada vez más pruebas que sugieren que el establecimiento de una microflora intestinal apropiada en etapas iniciales de la vida puede ser significativo en un desarrollo posterior sano. Al mismo tiempo, la proporción de partos por cesárea continúa aumentando, alcanzando el 70% de todos los nacimientos en algunos países. Por lo tanto, es evidente que existe la necesidad de proporcionar medios para promover el rápido establecimiento de microflora intestinal apropiada en los infantes en el caso en que esto no ocurre de manera natural. Esta necesidad es particularmente aguda dada la práctica actual de administrar de manera rutinaria dosis profilácticas de antibióticos a las mujeres embarazadas para que soporten un parto por cesárea electivo.

Resumen de la invención

Tal como se ha indicado anteriormente, en los infantes sanos, de parto vaginal, alimentados por el pecho, las bifidobacterias forman la base de la microflora, que llega a 60-90 % de las bacterias totales en el intestino de los infantes. La especie de bifidobacterias que se encuentra predominantemente en dichos infantes son *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, y *Bifidobacterium longum*. Los presentes inventores han descubierto de manera sorprendente que la administración de una cepa específica de diferentes especies de bifidobacterias, a saber *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 favorece el desarrollo de microflora intestinal bifidogénica a una edad temprana en infantes de parto por cesárea.

De acuerdo con ello, la presente invención da a conocer la utilización de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 en la fabricación de un medicamento o composición nutritiva terapéutica para favorecer el desarrollo de microflora intestinal bifidogénica a edad temprana en infantes de parto por cesárea.

La invención da a conocer además la utilización de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 en la fabricación de un medicamento o composición nutritiva terapéutica para reducir el riesgo de desarrollos subsiguientes de alergia en infantes de parto por cesárea.

En otro aspecto, la invención da a conocer la utilización de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 en la fabricación de un medicamento o composición nutritiva terapéutica para prevenir o tratar la diarrea en infantes de parto por cesárea.

La invención se extiende a un procedimiento para favorecer el desarrollo de microflora intestinal bifidogénica en edad temprana en infantes de parto por cesárea, que comprende el proporcionar una cantidad terapéutica de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 a un infante nacido por cesárea y que necesita la misma.

La invención se extiende además a un procedimiento para reducir el riesgo de que los infantes de parto por cesárea desarrollen a continuación alergia, comprendiendo el proporcionar una cantidad terapéutica de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 a un infante nacido por cesárea y que necesita la misma.

La invención también se extiende a un procedimiento para impedir o tratar la diarrea en infantes de parto por cesárea, que comprende el administrar una cantidad terapéutica de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 a un infante nacido por cesárea y que necesita la misma.

Sin desear quedar limitados por teorías, los presentes inventores creen que la administración de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 a un infante nacido por cesárea, de alguna manera todavía no comprendida por completo, ayuda al tubo gastrointestinal del infante para que favorezca la colonización subsiguiente por las especies de bifidobacterias que se encuentran habitualmente en los tubos digestivos de infantes sanos con parto vaginal. Se cree que esta colonización beneficiosa reduce el riesgo de episodios de diarrea, tal como se han mostrado que afectan a infantes de parto por cesárea. Se cree, además, que la colonización beneficiosa reduce el riesgo de desarrollo posterior de alergia manifestada, por ejemplo, por respiración asmática y/o sensibilización a alérgenos de los alimentos.

Se debe observar que no es ni el objeto ni el efecto de dicho tratamiento para favorecer la colonización por *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 en sí mismo, sino más bien favorecer la colonización con otras especies para lograr una microflora intestinal bifidogénica en edad temprana, comparable a la que se encuentra en infantes sanos, alimentados por el pecho, de parto vaginal.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra los conteos de *B. breve* y *B. longum* en muestras de contenido fecal y del yeyuno en el día 14 de tratamiento en ratones notobióticos criados con microflora humana infantil; y

5 La figura 2 muestra conteos de *C.perfringens* en el contenido del yeyuno, y muestras fecales en el día 14 de tratamiento en ratones gnotobióticos criados con microflora humana de infantes.

Descripción detallada de la invención

10 En esta descripción, los siguientes términos tienen los significados que se indican:

“microflora intestinal bifidogénica de edad temprana” significa para un infante de edad hasta 12 meses una microflora intestinal dominada por bifidobacterias tales *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, y *Bifidobacterium longum* excluyendo poblaciones apreciables de especies tales como *Clostridia* y *Streptococos*, y que es comparable, en general, con la que se encuentra en un infante de la misma edad, de parto vaginal, alimentado por el pecho.

15 “infante” significa un infante con una edad inferior a 12 meses.

“prebiótico” significa un ingrediente alimenticio no digerible que afecta beneficiosamente al huésped al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon y, por lo tanto, mejora la salud del huésped (Gibson y Roberfroid "Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics" *J. Nutr* 125:15 1401 - 1412).

20 “probiótico” significa preparados de células microbianas o componentes de células microbianas con un efecto beneficioso en la salud o bienestar del huésped (Salminen S, Ouwehand A. Benno Y. y otros "Probiotics: how should they be defined" *Trends Food Sci. Technol.* 1999:10 107-10).

25 Todas las referencias a porcentajes son porcentajes en peso si no se indica de otro modo.

30 Bifidobacterium lactis CNCM I-3446 es comercializada, entre otros, por la empresa Christian Hansen de Dinamarca con la marca Bb12. Una dosis diaria apropiada es de 10e5 a 10e11 unidades formadoras de colonias (cfu), más preferentemente de 10e7 a 10e10 cfu.

35 Preferentemente, la *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 es co-administrada con un prebiótico: Se incluyen entre los prebióticos adecuados ciertos oligosacáridos, tales como fructooligosacáridos (FOS) y galactooligosacáridos (GOS). Se puede utilizar una combinación de probióticos, tal como 90% GOS con 10% de fructooligosacáridos de cadena corta, tal como el producto comercializado con la marca Beneo® P95 o 10% inulina, tal como el producto comercializado con la marca Beneo® HP, ST o HSI.

40 Un prebiótico especialmente preferente es una mezcla de oligosacáridos que comprende 5-70% en peso de, como mínimo, un oligosacárido N-acetilado seleccionado del grupo que comprende GalNAcα1,3Galβ1,4Glc y Galβ1,6GalNAcα1,3Galβ1,4Glc, 20-90% en peso de, como mínimo, un oligosacárido neutro, seleccionado entre el grupo que comprende Galβ1,6Gal, Galβ1,6Galβ1,4Glc Galβ1,6Galβ1,6Glc, Galβ1,3Galβ1,3Glc, Galβ1,3Galβ1,4Glc, Galβ1,6Galβ1,6Galβ1,4Glc, Galβ1,6Galβ1,3Galβ1,4Glc Galβ1,3Galβ1,6Galβ1,4Glc y Galβ1,3Galβ1,3Galβ1,4Glc y 5-50% en peso de, como mínimo, un oligosacárido sialilado seleccionado del grupo que comprende NeuAcα2,3Galβ1,4Glc y NeuAcα2,6Galβ1,4Glc. Esta mezcla de oligosacáridos se describe de manera más detallada en el documento WO2007/090894, cuyo contenido se incorpora al actual a título de referencia y que se indicará a continuación como “la mezcla de oligosacáridos descrita anteriormente”.

45 50 Preferentemente, la mezcla de oligosacáridos descrita anteriormente comprende 10-70% en peso de los oligosacáridos especificados N-acetilados, 20-80% en peso de los oligosacáridos especificados neutros y 10-50% en peso de los oligosacáridos sialilados especificados. Más preferentemente, la mezcla comprende 15-40% en peso de los oligosacáridos N-acetilados, 40-60% en peso de otros oligosacáridos neutros, y 15-30% en peso de los oligosacáridos sialilados. Una mezcla especialmente preferente es de 30% en peso de los oligosacáridos N-acetilados, 50% en peso de los oligosacáridos neutros, y 20% en peso de los oligosacáridos sialilados.

55 De manera alternativa, la mezcla de oligosacáridos descrita en lo anterior puede comprender de manera conveniente 5-20% en peso de los oligosacáridos N-acetilados especificados, 60-90% en peso de los oligosacáridos neutros especificados, y 5-30% en peso de los oligosacáridos sialilados especificados.

60 La mezcla de oligosacáridos descrita en lo anterior puede ser preparada a partir de una o varias leches animales. La leche puede ser obtenida a partir de cualquier mamífero, en particular, vacas, cabras, búfalos, caballos, elefantes, camellos u ovejas.

65 De manera alternativa, la mezcla de oligosacáridos descrita anteriormente puede ser preparada adquiriendo y

mezclando los componentes individuales. Por ejemplo, los galactooligosacáridos sintéticos, tales como Gal β 1,6Gal β 1,4Glc Gal β 1,6Gal β 1,6Glc, Gal β 1,3Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,6Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β ,3Gal β 1,4Glc y Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc y mezclas de los mismos, se encuentran a disposición comercialmente con las marcas Vivinal® y Elix'or®. Otros suministradores de oligosacáridos son Dextra Laboratories, Sigma-Aldrich Chemie GmbH y Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. Se pueden utilizar para producir oligosacáridos neutros, de manera alternativa, glicosiltransferasas específicas, tal como galactosiltransferasas.

Los oligosacáridos N-acetilados pueden ser preparados por la acción de glucosaminidasa y/o galactosaminidasa en N-acetil-glucosa y/o N-acetil-galactosa. Igualmente, se pueden utilizar para este objetivo, N-acetil-galactosil transferasas, y/o N-acetil-glicosil-transferasas. Los oligosacáridos N-acetilados pueden ser producidos también por técnicas de fermentación utilizando enzimas respectivas (recombinantes o naturales) y/o fermentación microbiana. En este último caso, los microbios pueden expresar o bien sus enzimas y sustratos pueden ser diseñados para producir correspondientes sustratos y enzimas respectivos. Se pueden utilizar cultivos microbianos únicos o cultivos mixtos. Se puede iniciar la formación de oligosacáridos N-acetilados por sustratos aceptadores, empezando desde cualquier grado de polimerización (DP) desde DP = 1 hacia arriba. Otra opción es la conversión química de cetohehexosas (por ejemplo, fructosa) libre o unida a un oligosacárido (por ejemplo, lactulosa) en N-acetil-exosamina o una N-acetil-exosamina que contiene oligosacáridos, tal como se ha descrito por Wrodnigg, T.M.; Stutz, A.E. (1999) Angew. Chem. Int. Ed. 38:827-828.

Los oligosacáridos sialilados 3'sialil-lactosa y 6'sialil-lactosa se pueden aislar por tecnología cromatográfica de filtración de una fuente natural, tal como leches animales. De manera alternativa, también se pueden producir por biotecnología utilizando sialil-transferasas específicas por tecnología de fermentación basada en enzimas (enzimas recombinantes naturales) o por tecnología de fermentación microbiana. En este último caso, los microbios pueden expresar o bien sus enzimas naturales y sustratos o pueden ser diseñados para producir correspondientes sustratos y enzimas. Se pueden utilizar cultivos microbianos únicos o mixtos. La formación de sialil-oligosacáridos se puede iniciar por sustratos aceptadores empezando de cualquier grado de polimerización (PD) desde DP=1 hacia arriba.

Otras bacterias probióticas pueden ser administradas con *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446. Cualesquiera bacterias de ácido láctico o bifidobacterias con características probióticas reconocidas pueden ser utilizadas. Se incluyen entre bacteria de ácido láctico probióticas adecuadas las *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 que se puede obtener entre otros de Valio Oy de Finlandia con la marca LGG, *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 que se pueden obtener de Biogaia o *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116.

Se incluyen entre otras cepas de bifidobacterias probióticas adecuadas, las *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999 comercializadas por Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón con la marca BB536, la cepa *Bifidobacterium breve* comercializada por Danisco con la marca Bb-03, la cepa de *Bifidobacterium breve* comercializada por Morinaga con la marca M-16V y la cepa de *Bifidobacterium breve* comercializada por Institut Rosell (Lallemand) con la marca R0070. Se puede utilizar una mezcla de bacterias de ácido láctico y bifidobacterias.

La *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 opcionalmente con la mezcla de oligosacáridos que se ha descrito anteriormente, se administra preferentemente al infante inmediatamente después del parto y posteriormente durante, como mínimo, los dos primeros meses de vida del infante. Más preferentemente, la administración continúa hasta que el infante alcanza los seis meses de edad.

La *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 puede ser administrada directamente al infante o si la madre lo alimenta con el pecho, a través de la madre. Si la administración tiene que ser a través de la madre, ello puede tener lugar como suplemento en forma de tabletas, cápsulas, pastillas, goma de mascar, o líquido, por ejemplo. El suplemento contiene también preferentemente, la mezcla de oligosacáridos descrita anteriormente en una cantidad de 0,2 a 10g/día. El suplemento puede contener además hidrocoloides protectores (tales como gomas, proteínas, almidones modificados), aglomerantes, agentes formadores de película, agentes/materiales de encapsulado, materiales de pared/envolvente, compuestos matriz, recubrimientos, emulsionantes, agentes tensoactivos, agentes solubilizantes (aceites, grasas, ceras, lecitinas, etc.), adsorbentes, portadores, cargas, co-compuestos, agentes dispersantes, agentes humectantes, coadyuvantes de proceso (disolventes), agentes fluidificantes, agentes de enmascarado de sabor, agentes de ponderales, agentes gelificantes, agentes formadores de gel, antioxidantes, y antimicrobianos. El suplemento puede comprender también aditivos farmacéuticos convencionales y coadyuvantes, excipientes y diluyentes, incluyendo, sin que ello sea limitativo, agua, gelatina de cualquier origen, gomas vegetales, igninsulfonato, talco, azúcares, almidón, goma arábrica, aceites vegetales, polialquilenglicoles, agentes de sabor, conservantes, estabilizantes, agentes emulsionantes, tampones, lubricantes, colorantes, agentes humectantes, agentes de carga, y similares. En todos los casos, estos otros componentes se seleccionarán teniendo en cuenta su adecuación para el receptor al que van destinados.

Alternativamente, la *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 puede ser administrado a la madre en forma de una composición nutritiva terapéutica. La composición puede ser una fórmula nutricionalmente completa.

Una fórmula nutricionalmente completa para administración a mujeres lactantes, de acuerdo con la invención, pueden comprender una fuente de proteínas. Cualquier proteína de dieta adecuada puede ser utilizada, por ejemplo,

5 proteínas animales (tales como, proteínas de la leche, proteínas de la carne, y proteínas de huevo); proteínas vegetales (tales como proteína de soja, proteína de trigo, proteína de arroz, y proteína de guisantes); mezclas de aminoácidos libres o combinaciones de los mismos. Son particularmente preferentes las proteínas de la leche, tal como caseína, y suero, y proteínas de la soja. La composición puede contener también una fuente de carbohidratos y una fuente de grasas.

10 Si la fórmula comprende una fuente de grasas además del DHA, la fuente de grasas proporciona, preferentemente, de 5% a 40% de la energía de la fórmula; por ejemplo, 20% a 30% de la energía. Un perfil plano adecuado se puede obtener utilizando una mezcla de aceite de cáñola, aceite de maíz y aceite de girasol con alto contenido de ácido oleico.

15 Una fuente de carbohidratos se puede añadir a la fórmula. Preferentemente proporciona de 40% a 80% de la energía de la fórmula. Se puede utilizar cualquier carbohidrato adecuado, por ejemplo, sacarosa, lactosa, glucosa, fructosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas y mezclas de los mismos. También se pueden añadir fibras de dieta en caso deseado. Las fibras de dieta atraviesan el intestino delgado sin digerir mediante enzimas y funciona como agente de volumen natural y laxante. Las fibras de dieta pueden ser solubles o insolubles y en general es preferente una mezcla de los dos tipos. Se incluyen entre las fuentes adecuadas de fibras de dieta la soja, guisantes, avena, pectina, goma agar, goma agar parcialmente hidrolizada, goma arábiga, fructooligosacáridos y galactooligosacáridos. Preferentemente, si están presentes las fibras, el contenido de fibras está comprendido entre 2 y 40 g/l de la fórmula, tal como se consume, más preferentemente entre 4 y 10 g/l. Además, la fórmula contiene también preferentemente la mezcla de oligosacáridos descrita anteriormente en una cantidad de 0,2 a 5 gramos por litro de fórmula reconstituida, preferentemente de 1 a 2 g/l.

25 La fórmula puede contener también minerales y micronutrientes, tales como trazas de elementos y vitaminas, de acuerdo con las recomendaciones de los cuerpos gubernamentales, tales como USRDA. Por ejemplo, la fórmula puede contener para una dosis diaria, uno o varios de los siguientes micronutrientes dentro de los rangos indicados: 300 a 500 mg calcio, 50 a 100 mg de magnesio, 150 a 250 mg de fósforo, 5 a 20 mg de hierro, 1 a 7 mg de zinc, 0,1 a 0,3 mg de cobre, 50 a 200 mg de yodo, 5 a 15 mg de selenio, 1000 a 3000 mg de betacaroteno, 10 a 80 mg de Vitamina C, 1 a 2 mg de Vitamina B1, 0,5 a 1,5 mg de Vitamina B6, 0,5 a 2 mg de Vitamina B2, 5 a 18 mg de niacina, 0,5 a 2,0 mg de Vitamina B12, 100 a 800 mg de ácido fólico, 30 a 70 mg de biotina, 1 a 5 mg de Vitamina D, 3 a 10 IU Vitamina E.

35 Se pueden incorporar uno o varios emulsionantes de calidad alimentaria en la fórmula en caso deseado; por ejemplo, ésteres de ácido diacetil-tartárico de mono- y di-glicéridos, lecitina y mono y di-glicéridos. Se pueden incluir sales adecuadas similares y estabilizantes.

La fórmula es preferentemente administrable por vía entérica; por ejemplo en forma de un material en polvo para su reconstitución con leche o agua.

40 De manera alternativa, o en el caso de infantes no alimentados por el pecho, se puede administrar *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 al infante como suplemento, por ejemplo, con una dosis diaria de 10×10^{10} cfu disuelta en agua y administrada en una cuchara.

45 Para los infantes que no son alimentados por el pecho, la *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 puede ser administrada convenientemente en una fórmula infantil.

50 Una fórmula infantil para utilización según la presente invención, puede contener una fuente de proteínas en una cantidad no superior a 2,0 g/100kcal, preferentemente 1,8 a 2,0 g/100kcal. No se cree que el tipo de proteína sea crítico para la presente invención a condición de que se cumplan las exigencias mínimas de contenido de aminoácidos esenciales, y se asegura un crecimiento satisfactorio si bien es preferente que más del 50% del peso de la fuente de proteínas sea suero. De este modo, se pueden utilizar fuentes de proteínas basadas en suero, caseína y mezclas de los mismos, así como fuentes de proteínas basadas en soja. En lo que se refiere a las proteínas del suero, la fuente de proteínas se puede basar en suero ácido o suero dulce, o mezclas de los mismos, y puede incluir, alfa-lactalbumina y beta-lactoglobulina en cualquier proporción deseada.

55 Las proteínas pueden ser intactas o hidrolizadas, o una mezcla de proteínas intactas e hidrolizadas. Puede ser deseable suministrar proteínas parcialmente hidrolizadas (grado de hidrólisis entre 2 y 20%), por ejemplo, para infantes que se cree que se encuentran con riesgo de desarrollar alergia a la leche de vaca. Si se requieren proteínas hidrolizadas, el proceso de hidrólisis puede ser llevado a cabo, según deseo y tal como es conocido en este sector. Por ejemplo, se puede preparar un hidrolizado de proteína de suero al hidrolizar enzimáticamente la fracción de suero en una o varias etapas. Si la fracción de suero utilizada como material inicial es sustancialmente libre de lactosa, se observa que la proteína sufre mucho menos bloqueo de lisina durante el proceso de hidrólisis. Esto posibilita reducir la magnitud del bloqueo de lisina desde aproximadamente 15% en peso de la lisina total a menos de 10% en peso aproximadamente de la lisina; por ejemplo, aproximadamente 7% en peso de lisina que mejora notablemente la calidad nutricional de la fuente de proteínas.

La fórmula infantil puede contener una fuente de carbohidratos. Se puede utilizar cualquier fuente de carbohidratos convencionalmente utilizada en fórmulas infantiles tales como lactosa, sacarosa, maltodextrina, almidón, y mezclas de los mismos, si bien la fuente preferente de carbohidratos es lactosa. Preferentemente, las fuentes de carbohidratos contribuyen entre 35 y 65% de la energía total de la fórmula.

La fórmula para infantes puede contener una fuente de lípidos. La fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa adecuado para utilización en fórmulas infantiles. Se incluyen entre las fuentes de grasas, la oleína de palma, aceite de girasol con alto contenido oleico y aceite cártamo de alto contenido oleico. También se pueden añadir los ácidos grasos esenciales, ácido olinoico y ácido α -linolenico, así como pequeñas cantidades de aceites que contienen elevadas cantidades de ácido araquidónico y ácido docosahexaenóico preformados, tales como aceites de pescado o microbianos. En total, el contenido de grasas es preferentemente tal que aporta entre 30 y 55% de la energía total de la fórmula. La fuente de grasas tiene preferentemente una proporción de n-6 a n-3 ácidos grasos de aproximadamente 5:1 hasta aproximadamente 15:1; por ejemplo, aproximadamente 8:1 hasta aproximadamente 10:1.

La fórmula para infantes puede contener también todas las vitaminas y minerales que se comprenda que son esenciales en la dieta diaria y en cantidades nutricionalmente significativas. Se han establecido exigencias mínimas para ciertas vitaminas y minerales. Ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes están incluidos opcionalmente presentes en una fórmula para infantes, la vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantoténico, colina, calcio, fósforo, iodo, hierro, magnesio, cobre, zinc, manganeso, cloro, potasio, sodio, selenio, cromo, molibdeno, taurina y L-carnitina. Los minerales se añaden habitualmente en forma de sal. La presencia y cantidades de minerales específicos y otras vitaminas variaran dependiendo de la población infantil prevista.

En caso necesario, la fórmula para infantes puede contener emulsionantes y estabilizantes tales como lecitina de soja, ésteres de ácido cítrico de mono- y di-glicéridos y similares.

Preferentemente, la fórmula para infantes contendrá la mezcla de oligosacáridos descrita anteriormente en una cantidad de 0,2 a 5 gramos por litro de fórmula reconstituída, preferentemente 1 a 2 g/l.

La fórmula para infantes puede contener opcionalmente otras sustancias que puedan tener efectos beneficiosos tales como lacto-ferrina, nucleótidos, nucleósidos y similares.

Tanto la fórmula para infantes como la fórmula nutricional descritas anteriormente, pueden ser preparadas de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, pueden ser preparadas mezclando entre sí la proteína, la fuente de carbohidratos y la fuente de grasas en proporciones apropiadas. Si se utilizan, los emulsionantes se pueden incluir en este punto. Las vitaminas y minerales pueden ser añadidos en este punto pero lo son habitualmente más adelante para evitar degradación térmica. Cualesquiera vitaminas lipofílicas, emulsionantes, y similares, puede ser disueltos en la fuente de grasas antes de la mezcla. El agua, preferentemente agua que ha sido sometida a osmosis inversa, puede ser mezclada para formar una mezcla líquida. La temperatura del agua es convenientemente de unos 50°C hasta unos 80°C para ayudar la dispersión de los ingredientes. Se pueden utilizar licuadores de tipo comercial para formar la mezcla líquida. La mezcla líquida es homogeneizada a continuación; por ejemplo, en dos etapas.

La mezcla líquida puede ser tratada a continuación térmicamente para reducir la carga bacteriana, al calentar rápidamente la mezcla líquida a una temperatura del rango de unos 80°C hasta unos 150°C durante unos 5 segundos hasta unos 5 minutos, por ejemplo. Esto se puede llevar a cabo por inyección de vapor, autoclave o intercambiador de calor, por ejemplo, un intercambiador de calor de placas.

A continuación, la mezcla líquida puede ser enfriada a unos 60°C hasta unos 85°C; por ejemplo, mediante enfriamiento flash. La mezcla líquida puede ser homogeneizada nuevamente a continuación; por ejemplo, en dos fases aproximadamente a 10 MPa hasta unos 30 MPa en la primera etapa, y unos 2 MPa hasta unos 10MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada puede ser enfriada a continuación de forma adicional para añadir cualesquiera componentes sensibles al calor, tales como vitaminas y minerales. El pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada son ajustados convenientemente en este punto.

La mezcla homogeneizada es transferida a un aparato desecado adecuado, tal como un secador por pulverización o secador por congelación, y se convierte en polvo. El polvo debe tener un contenido de humedad menor de 5% en peso aproximadamente.

La *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 puede ser cultivada de acuerdo con cualquier procedimiento adecuado y puede ser preparada para adición a la fórmula nutricional o fórmula para infantes por liofilizado o secado por pulverización, por ejemplo. De manera alternativa, la *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 puede ser adquirida de Christian Hansen con la marca Bb12®, ya preparada en forma adecuada para adición a productos alimenticios, tales como fórmulas nutricionales y fórmulas para infantes. La *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 puede ser añadida a la fórmula en una cantidad comprendida entre 10e3 y 10e12 cfu/g en polvo, más preferentemente entre 10e7 y 10e12 cfu/g en polvo.

La invención se explicará a continuación adicionalmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1

5 Se indica a continuación un ejemplo de la composición de una fórmula adecuada para infantes a utilizar en la presente invención

Nutriente	por 100 kcal	por litro
Energía (kcal)	100	670
Proteína (g)	1,83	12,3
Grasa (g)	5,3	35,7
ácido linoleico (g)	0,79	5,3
ácido α -linolenico (mg)	101	675
Lactosa (g)	11,2	74,7
Minerales (g)	0,37	2,5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn (μ g)	8	50
Se (μ g)	2	13
Vitamina A (μ g RE)	105	700
Vitamina D (μ g)	1,5	10
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,4
Vitamina K1 (μ g)	8	54
Vitamina C (mg)	10	67
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)	0,15	1,0
Niacina (mg)	1	6,7
Vitamina B6 (mg)	0,075	0,50
ácido fólico (μ g)	9	60
ácido pantoténico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 (μ g)	0,3	2
Biotina (μ g)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I (μ g)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5
Bifidobacterium lactis CNCM I-3446	2,10 ⁷ cfu/g en polvo, bacterias vivas	

10 Ejemplo 2

Este ejemplo compara el efecto de Bifidobacterium lactis CNCM I-3446 con y sin la adición de un ingrediente oligosacárido, incluyendo oligosacáridos N-acetilados, oligosacáridos neutros y oligosacáridos sialilados (a los que se hace referencia a continuación como CMOS-GOS) en el establecimiento de una microflora intestinal bifidogénica de edad temprana en un ratón notobiótico con modelo de parto por cesárea con el efecto de otra cepa de bifidobacterias y con un control. Este modelo es un modelo animal apropiado de infantes nacidos por cesárea y que tienen microflora intestinal sub-óptima en términos de población de bifidobacterias. Además de la observación de la dimensión de la población de bifidobacterias, este modelo es también adecuado para seguir el efecto benéfico de las bifidobacterias como barrera contra bacterias tales como Clostridium perfringens.

20

Materiales y procedimientos

Se adquirieron de Charles River Laboratories Francia ratones hembra y macho sin gérmenes C3H y se enviaron al Nestle Research Centre en aisladores de transporte. Los animales fueron transferidos a aisladores de crecimiento después del control de la situación de libres de gérmenes. Se utilizaron para este estudio crías hembra de esta población cultivada. Después de destete, se asignaron animales al azar a uno de los siguientes cuatro grupos de estudio: A, control de dieta de control y bebida de control; B, dieta de control y bebida de probiótico B. lactis CNCM I-3446; C, dieta probiótico CMOS-GOS y bebida probiótico B. lactis CNCM I-3446; D, dieta de control y bebida de probiótico B. longum ATCC BAA-999.

Los animales fueron mantenidos en diferentes aisladores en jaulas de 5 animales en cada una de ellas. El grupo A se mantuvo en un aislador, los grupos B y C fueron mantenidos en un segundo aislador, y el grupo D fue mantenido en un tercer aislador. Se controló la situación de ausencia de gérmenes semanalmente en heces recién recogidas de un animal por jaula. Durante este periodo, los animales recibieron como alimentación la dieta AIN-93 basal (ver siguiente tabla 1).

A la edad de 7 a 8 semanas, se re-controlaron 2 animales por jaula en cuanto a la situación de ausencia de gérmenes y cada animal recibió posteriormente por cebado una dosis única de 200 µl de un coctail de microbiótico de bebé humano (HBF), tal como se describe en la siguiente Tabla 2. Después de cebado, todos los animales permanecieron con dieta basal durante 2 semanas para permitir el establecimiento del HBF en el intestino. A continuación, la dieta sólida fue cambiada a la mezcla AIN (Tabla 1) (para los grupos A, B y D) o AIN-CMOS-GOS (para el grupo C). El agua de beber fue cambiada a agua de beber salina, conteniendo 0,5 % (v/v) MRS (Man Rogosa Sharpe) (para el grupo A) o agua de beber salina que contenía bacterias probióticas y 0,5% (v/v) MRS (para los grupos B, C y D). Las concentraciones finales de probióticos fueron de 2,5 x 10e7 cfu/ml B. lactis CNCM I-3446 (para los grupos B y C) y 2,2 x 10e7 cfu/ml B. longum ATCC BAA-999 (para el grupo D).

Se preparó Bifidobacterium lactis CNCM I3446 a partir de la colección de cultivos de Nestle. De modo breve, las cepas fueron reactivadas y cultivadas en medio MRS hasta aproximadamente 1,5 x 10e9 cfu/ml. Posteriormente, la cepa fue concentrada por centrifugación en un medio MRS agotado y diluida a 4,9 x 10e9 cfu/ml con medio MRS reciente. Se dividió a continuación en partes alícuotas de 1 ml que fueron congeladas a -80°C hasta su utilización. Cada día se introdujo en los aisladores una parte alícuota de 1 ml recién descongelada de Bifidobacterium lactis CNCM I3446 en MRS (para los grupos B y C) o 1 ml MRS (para el grupo A), disuelta en 200 ml de solución salina y dividida de manera igual entre las botellas de bebida. Con un consumo promedio de 5 ml/día y un ratón, cada animal de los grupos con B. lactis recibió aproximadamente 10e8 cfu B. lactis por día.

La Bifidobacterium longum ATCC BAA-999 fue preparada a partir de la colección de cultivos Nestle. De forma breve, las cepas fueron reactivadas y cultivadas en medio MRS hasta aproximadamente 1 x 10e9 cfu/ml. Posteriormente, la cepa fue concentrada por centrifugación y diluida a 4,4 x 10e9 cfu/ml con medio MRS reciente. Se dividió a continuación en partes alícuotas de un 1ml, que fueron congeladas a -80°C hasta su utilización. Cada día una parte alícuota de 1 ml de Bifidobacterium longum ATCC BAA-999 en MRS (para grupo D) descongelada recientemente fue introducida en los aisladores, disuelta en 200 ml de solución salina y dividida de forma igual en botellas de bebida. Con un promedio de consumo de 5 ml/día y ratón, cada animal del grupo B con B longum recibió aproximadamente 10e8 cfu B longum por día.

El ingrediente de oligosacárido CMOS-GOS fue preparado empezando de un permeado de suero industrial desproteinado y desmineralizado (Lactosérum France, Francia). De forma breve, se desmineralizó en una línea de desmineralización industrial dotada de módulos de electrodiálisis y cambiadores de aniones y cationes (Lactosérum France) un suero de leche de vaca por ultrafiltración permeado. El permeado de suero desmineralizado fue sometido a continuación a 2 ciclos secuenciales de cristalización de lactosa industrial y a continuación fue secado por pulverización (Lactosérum France). El licor madre modificado en polvo resultante fue hidratado en una atmósfera con humedad relativa elevada (aproximadamente 43%) establecido por una solución saturada de K₂CO₃ en un recipiente cerrado. Esto permite la formación de lactosa cristalina. Se añadió agua fría al polvo rehidratado (aproximadamente 2-3 litros por kg de polvo rehidratado) y se centrifugó a 10.000 x g durante 20 minutos. El sobrenadante fue recogido y la pastilla suspendida nuevamente con agua fría y centrifugada igual que antes. El segundo sobrenadante fue reunido con el primero y ambos fueron liofilizados. Este ingrediente de oligosacárido de leche de vaca con reducción de lactosa (CMOS) fue analizado por un sistema de cromatografía de intercambio de aniones de alto rendimiento con detección amperométrica pulsante (HPAEC-PAD; ICS3000, Dionex, Sunnyvale, CA) utilizando una columna analítica CarboPac PA200 (Dionex) equipada de una columna de retención de amino CarboPac (Dionex). El preparado The CMOS contenía los oligosacáridos originales y aproximadamente 3 % (peso/peso) de glucosa, 46 % (peso/peso) de lactosa, 0,84 % (peso/peso) de sialilactosa. Se adquirieron de Friesland Foods DOMO Galactosiloligosacáridos (Vivinal GOS259). El ingrediente es comercializado como jarabe compuesto por aproximadamente 75% de materia seca (DM) del que 23 % es lactosa (sobre DM), 22 % de glucosa (sobre DM), 59 % son Galactosiloligosacáridos (sobre DM) y se mezclaron con preparados CMOS para obtener CMOS-que contenía aproximadamente 9 % en peso de N-acetilados oligosacáridos, aproximadamente 82% en peso de oligosacáridos neutros, y aproximadamente 9% en peso de oligosacáridos sialilados.

Se alimentaron los ratones exclusivamente con una dieta semi-sintética AIN-93 y modificaciones de la misma (Tabla 1). Desde el día 15, después del parto en adelante, los ratones fueron alimentados con una dieta basal a AIN-93. Al inicio de la intervención, aproximadamente a las 8 semanas de edad los ratones fueron alimentados durante 14 días con 'AIN-mix' (grupos A, B y D) o bien 'AIN-CMOS-GOS' (grupo C).

5

Tabla 1. Composición las dietas AIN utilizadas en g/100g de dieta

	AIN-93 basal	mezcla AIN	AIN-CMOS-GOS
Almidón de maíz	51,5	49,8	21,5
Celulosa	5	5	5
Sacarosa	10	10	10
Glucosa	-	1,45	1,45
Lactosa	-	12,3	12,3
CMOS GOS ²	-	-	2,3
Caseína	20	20	20
Aceite de soja	7	7	7
Mezcla de mineral AIN93G	3,5	3,5	3,5
Mezcla de vitamina AIN93 ¹	2,5	2,5	2,5
Bitartrato de colina	0,25	0,25	0,25
L-cistina	0,3	0,3	0,3
Tert-butilhidroquinona	0,0014	0,0014	0,0014

¹ La mezcla de vitaminas fue suplementada con vitamina B1 (tiamina-HCl) a 330 mg/kg de vitamina en mezcla para alcanzar los niveles requeridos de 600 mg/kg.
² Incluye SL a 0,2 g/100 g.

Tabla 2. Composición de microflora

10

Cepa	Fenotipo de colonia de placa	Administración de concentración(cfu/ml)
Bifidobacterium breve NCC452 (viv4)	blanco, grande	8,85
Bifidobacterium longum NCC572 (viv5)	gris, pequeño	8,19
Staphylococcus aureus FSM124 (viv3)		8,48
Staphylococcus epidermidis FSM115 (viv2)		8,48
Escherichia coli FSM325 (viv1)		8,48
Bacteroides distasonis FSM24 (viv20)		8,48
Clostridium perfringens FSM-C14 (viv19)		6,0

15

La verificación de la situación de ausencia de gérmenes fue realizada utilizando heces recogidas recientemente 1 a 2 por jaula. En pocas palabras, se homogeneizó una pastilla fecal recién recogida recientemente en 0,5 mL de solución de Ringer (Oxoid, UK) suplementada con 0,05 % (peso/volumen) de L-Cysteina (HCl) y 2 veces 100 µl de la misma se aplicaron sobre 2 placas TSS (agar de soja Trypcase con 5% de sangre de oveja; BioMerieux, Francia). Una placa fue incubada de forma aeróbica durante 24 horas a 37°C y la segunda placa fue incubada de forma anaeróbica durante 48 horas a 37°C.

20

25

Se recogieron muestras fecales y se analizaron en el día 14. En pocas palabras, para cada ratón se homogeneizaron 14 pastillas fecales en 0,5 mL de solución Ringer (Oxoid, UK) suplementada con 0,05 % (peso/volumen) de L-Cysteina (HCl) y dilución distinta de la solución bacteriana fueron aplicadas sobre medios semiselectivos para la enumeración de microorganismos específicos, bifidobacterias sobre medio Eugom Tomate, Lactobacillus sobre medio MRS suplementado con antibióticos (fosfomicina, sulfametoxazol y trimetoprima), C. perfringens sobre medio NN-agar, Enterobacteriaceae sobre medio de Drigalski, y Bacteroides sobre medio de Shaedler Neo Vanco. Las placas se incubaron a 37 °C en condiciones aeróbicas durante 24 horas para el conteo de las Enterobacteriaceas, y en condiciones anaeróbicas durante 48 horas para las Bifidobacterias, Lactobacillus, Bacteroides y C. perfringens.

30

En el día 14 se sacrificaron los animales. De forma breve, se retiraron simultáneamente 2 jaulas por aislador de un aislador determinado, manteniendo el aislador libre de gérmenes hasta que todos los animales habían sido retirados. Se pesó a cada uno de los animales. Inmediatamente después, el animal fue eutanizado por decapitación y sangrado exhaustivo. La sangre fue recogida y los animales fueron diseccionados para recoger una muestra de yeyuno (aproximadamente 6-7 cm directamente después del duodeno) para análisis de la microflora.

35

Resultados

La figura 1 muestra el conteo de los dos residentes de la microflora de dos bebés humanos de Bifidobacterias - B. breve y B. longum- en el intestino delgado (yeyuno) y heces después de dos semanas de tratamiento. En el yeyuno,

los conteos de *B. breve* fueron realizados en los grupos B y C. En las heces, se encontraron conteos incrementados en los grupos B y D. No se encontraron cambios significativos de los conteos de *B. longum* entre los grupos.

5 Los conteos de *C. perfringens* en el intestino delgado (yeyuno) y heces después de dos semanas de tratamiento se muestran en la figura 2. En el yeyuno se observan conteos reducidos de los niveles de *C. perfringens* para los grupos B y C con *B. lactis* pero no para los grupos A y D sin *B. lactis*. Este efecto es todavía más marcado para las muestras de heces.

10 Se recuperaron niveles de *B. lactis* por encima del umbral (10^5 cfu/g de heces) a partir de aproximadamente 50% de grupos B y C después de una semana, pero de ninguno de ellos después de 2 semanas. Tal como se puede apreciar de la siguiente tabla 3, a pesar de la dosis diaria relativamente alta administrada, el *B. lactis* no superó las bifidobacterias residentes, y siguió siendo un componente menor de la microflora.

15 Tabla 3. Conteos de *B. lactis* counts en heces y contenido de yeyuno a lo largo del tratamiento.

Grupo	> 10^5 cfu / g heces		> 10^2 cfu / g yeyuno
	semana 1	semana 2	semana 2 (yeyuno)
B	5/9	0/9	3/9
C	3/9	0/9	6/9

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 en la fabricación de un medicamento o composición nutricional terapéutica para favorecer el desarrollo de la microflora intestinal bifidogénica en edad temprana en infantes nacidos por cesárea.
2. Utilización de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 en la fabricación de un medicamento o composición nutricional terapéutica para reducir el riesgo de desarrollo subsiguiente de alergia en infantes nacidos por cesárea.
- 10 3. Utilización de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 en la fabricación de un medicamento o composición nutricional terapéutica para prevenir o tratar diarrea en infantes nacidos por cesárea.
- 15 4. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el medicamento o composición nutricional terapéutica, comprende además una mezcla de oligosacáridos que comprende 5-70% en peso de, como mínimo, un oligosacárido N-acetilado seleccionado entre el grupo que comprende GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc y Gal β 1,6GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc, 20-90% en peso de, como mínimo, un oligosacárido neutro seleccionado del grupo que comprende Gal β 1,6Gal, Gal β 1,6Gal β 1,4Glc Gal β 1,6Gal β 1,6Glc, Gal β 1,3Gal β 1,3Glc, Gal β 1,3Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,6Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,3Gal β 1,4Glc Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc y 5-50% en peso de, como mínimo, un oligosacárido sialilado seleccionado del grupo que comprende NeuAc α 2,3Gal β 1,4Glc y NeuAc α 2,6Gal β 1,4Glc.
- 20 5. Utilización, según la reivindicación 4, en la que la mezcla de oligosacáridos comprende 10-70% en peso de los oligosacáridos N-acetilados, 20-80% en peso de oligosacáridos neutros, y 10-50% en peso de oligosacáridos sialilados.
- 25 6. Utilización, según la reivindicación 4 ó 5, en la que la mezcla de oligosacáridos comprende 15-40% en peso de los oligosacáridos N-acetilados, 40-60% en peso de oligosacáridos neutros, y 15-30% en peso de oligosacáridos sialilados.
- 30 7. Utilización, según la reivindicación 4 ó 5, en la que la mezcla de oligosacáridos comprende 5-20% en peso de los oligosacáridos N-acetilados, 60-90% en peso de oligosacáridos neutros, y 5-30% en peso de oligosacáridos sialilados.
- 35 8. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el medicamento o composición nutricional terapéutica es administrada al infante inmediatamente después del parto y posteriormente durante un mínimo de 2 meses.
- 40 9. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el medicamento o composición nutricional terapéutica es administrado al infante durante un mínimo de 6 meses después del parto.
- 45 10. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que se administra *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 al infante por leche materna.
- 50 11. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la composición nutricional terapéutica es una fórmula infantil.
12. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el medicamento comprende entre 10e5 y 10e11cfu de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 por dosis diaria.
13. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que la composición nutricional terapéutica comprende entre 10e3 y 10e12 cfu de *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 por gramo de composición (peso seco).

FIG. 1

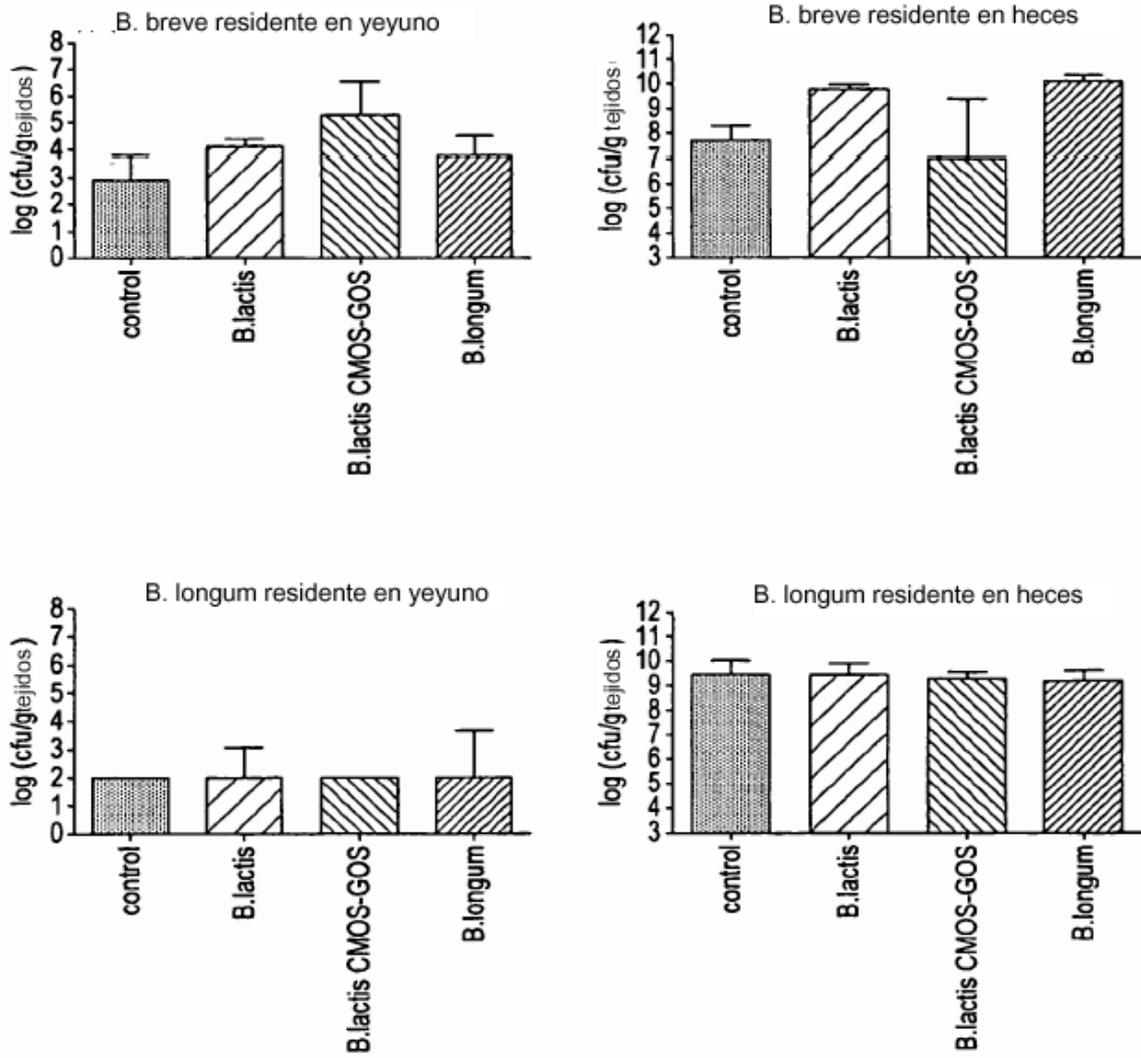


FIG. 2

