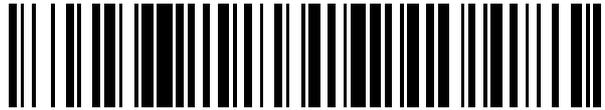


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 437 153**

51 Int. Cl.:

**A61K 35/74** (2006.01)

**A61P 1/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.05.2009 E 09761599 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013 EP 2300024**

54 Título: **Método para disminuir borborigmos administrando una bacteria bifidobacterium**

30 Prioridad:

**26.05.2008 EP 08305201**  
**05.06.2008 EP 08305234**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**09.01.2014**

73 Titular/es:

**COMPAGNIE GERVAIS DANONE (100.0%)**  
**17, Boulevard Haussmann**  
**75009 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**GUYONNET, DENIS;**  
**JAKOB, STEFAN y**  
**SCHLUMBERGER, ARMELLE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 437 153 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

Método para disminuir borborismos administrando una bacteria bifidobacterium

La presente invención se refiere a un uso no terapéutico de al menos  $1 \times 10^9$  ufc de *Bifidobacterium animalis* al día durante al menos 15 días para disminuir los borborismos en una persona sana, en donde dicha bacteria se  
5 administra en forma de un producto lácteo fermentado, en donde dicho producto lácteo fermentado comprende *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Los borborismos diurnos son normales en los individuos sanos y son sonidos intestinales audibles (15). Los borborismos están ocasionados por contracciones musculares del peristaltismo, el proceso que hace avanzar el contenido del estómago y de los intestinos. El *peristaltismo* es el movimiento ondulante de los músculos del tubo  
10 digestivo. En el estómago, este movimiento mezcla el alimento con los jugos gástricos, convirtiéndolo en un líquido fluido. Los borborismos, en especial por la mañana y tras las comidas, son, para muchas personas, un malestar diario o puntual que les gustaría que desapareciera o que, al menos, se redujera.

Los borborismos, al igual que otros síntomas gastrointestinales tales como la distensión abdominal, el dolor abdominal o la flatulencia, son por lo general más frecuentes y graves cuando se padece el síndrome del colon  
15 irritable (SCI) (1).

El SCI es un trastorno funcional del intestino en el cual el dolor abdominal o el malestar están asociados a la defecación o a cambios en los hábitos del intestino y con manifestaciones o alteraciones de la defecación (1).

Así pues, existe la necesidad de medios para reducir de forma parcial o total los borborismos de baja frecuencia para las personas sanas, pero también para reducir de forma parcial o total los borborismos más frecuentes.

20 Se ha demostrado que el uso de determinadas preparaciones probióticas, que contienen bacterias tales como bacterias propiónicas, lactobacilos y/o bifidobacterias, hace posible modificar la flora del colon de algunos pacientes (8, 9, 9bis). Además, se ha demostrado que, tanto en los modelos animales como en los humanos, muchos probióticos modifican la contractilidad digestiva o el exceso de flatulencia, meteorismo o dolor abdominal (10).

Un estudio controlado con placebo, de doble enmascaramiento, aleatorizado y a largo plazo (5 meses), ha mostrado  
25 los efectos positivos de una mezcla de 4 probióticos liofilizados (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium animalis* Bb12 y *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermani* JS) (11). En 86 personas que padecen el SCI y que cumplen los criterios de Roma II, esta combinación probiótica alivia los síntomas digestivos durante el último mes, tal y como se valoró por una reducción de una puntuación global. Sin embargo, no se han mostrado resultados significativos referentes a los borborismos.

30 Otro estudio controlado con placebo, de doble enmascaramiento, aleatorizado y a largo plazo (6 meses), ha mostrado los efectos positivos de una mezcla de 4 probióticos liofilizados (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium breve* Bb99 y *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermani* JS), administrados en una cápsula (14). En 103 personas que padecen el SCI y que cumplen los criterios de Roma I y II, esta combinación probiótica alivia los síntomas digestivos durante el último mes, tal y como se valoró por una reducción  
35 de una puntuación global y la mejoría de los borborismos que aparece a partir del cuarto mes de tratamiento (meses 4, 5, 6). Sin embargo, no se han mostrado resultados significativos referentes a los borborismos durante los 3 primeros meses del estudio, que es el problema de los pacientes con el SCI.

Así pues, hasta la fecha, ningún estudio ha mostrado que la utilización de un probiótico tenga un efecto positivo para  
40 los borborismos, en particular en las personas sanas, y más en particular durante un periodo corto de tiempo de administración de menos de 3 meses.

Sorprendentemente, se ha hallado que la administración de al menos aproximadamente  $1 \times 10^9$  ufc al día, durante al menos 15 días, de una bacteria elegida entre el grupo de bacterias del género *Bifidobacterium* puede reducir significativamente los borborismos en una persona sana.

Un objeto de la presente invención es, por lo tanto, un uso no terapéutico de al menos  $1 \times 10^9$  ufc de *Bifidobacterium  
45 animalis* al día durante al menos 15 días para disminuir los borborismos en una persona sana, en donde dichas bacterias se administran en forma de un producto lácteo fermentado, en donde dicho producto lácteo fermentado comprende *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Más preferiblemente, dicho uso no terapéutico es para disminuir los borborismos en una persona sana en menos de 3 meses desde la administración de dicha bacteria.

50 Dicha bacteria se administra durante al menos 15 días.

La terminología «borborismo» o «borborismos» en plural está destinado a hacer referencia a los ruidos retumbantes desde el área abdominal que son sonidos intestinales audibles (15).

La terminología «administrar» está destinada a significar la «administración por vía oral», a saber, que la persona ingerirá por vía oral una bacteria de acuerdo con la presente invención o una composición que comprende la bacteria de acuerdo con la presente invención, o «administración directa», a saber, que una bacteria de acuerdo con la presente invención o una composición que comprende la bacteria de acuerdo con la presente invención se administrará directamente *in situ*, en particular por colonoscopia, o por vía rectal mediante supositorios.

La expresión «personas sanas» está destinada a hacer referencia a la «población global de personas sin diagnóstico de ningún trastorno gastrointestinal, y en especial trastornos del funcionamiento intestinal, tal como el síndrome del colon irritable».

La administración oral de la composición que comprende las bacterias de acuerdo con la presente invención puede ser en forma de cápsulas de gelatina, de cápsulas, de comprimidos, de polvos, de gránulos, o de soluciones o suspensiones orales.

En una realización preferida de la invención, dicha composición es una composición alimentaria que puede utilizarse para fabricar nuevos alimentos o nuevos ingredientes alimentarios, tal y como se define en la Normativa de la CE n.º 258/97, y en particular en la fabricación de alimentos funcionales. Un alimento se puede considerar funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto beneficioso sobre una o más funciones deseadas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, con lo que mejora el estado de salud y el bienestar, y/o reduce el riesgo de enfermedad (12).

En una realización preferida de la invención, el dicho producto lácteo fermentado es un yogur.

En una realización preferida de la invención, dicho producto lácteo fermentado o dicho yogur no comprende *Lactobacillus rhamnosus*, y/o *Propionibacterium freudenreichii*.

Dicha composición puede constituir en particular un probiótico envasado, por ejemplo, en forma de una cápsula o de una cápsula de gelatina.

En otra realización preferida de la invención, dicha composición es una composición farmacéutica, también combinada con un vehículo farmacéuticamente aceptable, que puede comprender excipientes.

La terminología «composición farmacéutica» pretende significar «fármaco» o «EFP (especialidad farmacéutica publicitaria)».

De acuerdo con la invención, la disminución de los borborismos de la persona es una disminución de al menos aproximadamente el 10% de la frecuencia de los episodios de borborismos, a modo de ejemplo de aproximadamente el 15%, el 17% o el 20%.

Preferiblemente, la disminución de los borborismos de la persona es de al menos aproximadamente el 25% de la frecuencia de los episodios de borborismos, a modo de ejemplo del 30%, del 35% o del 40%.

Más preferiblemente, la disminución de los borborismos de la persona es de al menos aproximadamente el 45% de la frecuencia de los episodios de borborismos, a modo de ejemplo del 50%, del 55% o del 60%.

De acuerdo con una realización preferida de la invención, la disminución de al menos aproximadamente el 10% de la frecuencia de los episodios de borborismos de la persona se obtiene tras 15 días de administración de la bacteria, más preferiblemente, la disminución de al menos aproximadamente el 20% de la frecuencia de los episodios de borborismos de la persona se obtiene tras 4 semanas de administración de la bacteria.

De acuerdo con la invención, la disminución de los borborismos de la persona es una disminución de al menos aproximadamente el 20% de la frecuencia de los episodios de borborismos.

Preferiblemente, la disminución de los borborismos de la persona es de al menos aproximadamente el 50% de la frecuencia de los episodios de borborismos.

Por ejemplo, una persona que tiene borborismos cada día (al menos un episodio de borborismos al día) tendrá borborismos de 2 a 3 días a la semana (2 o 3 días a la semana con al menos un episodio de borborismos) tras la administración de al menos aproximadamente  $1 \times 10^9$  ufc al día de una bacteria elegida entre el grupo de bacterias del género *Bifidobacterium*, preferiblemente tras 15 días de administración.

Tal y como se reivindica, la bacteria se elige entre el grupo de bacterias del género *Bifidobacterium*, y se considera que es un probiótico.

La terminología «probiótico» está destinada a referirse a los suplementos de la dieta que contienen bacterias o levaduras potencialmente beneficiosas. De acuerdo con la definición adoptada en la actualidad por la FAO/OMS, los probióticos son: «Microorganismos vivos que, cuando se administran en una cantidad adecuada, confieren un

beneficio saludable al huésped». Las bacterias acidolácticas son el tipo de microorganismo que se utiliza con más frecuencia. Las bacterias acidolácticas se han utilizado durante muchos años en la industria alimentaria porque son capaces de convertir los azúcares (incluida la lactosa) y otros glúcidos en ácido láctico. Esto no sólo proporciona el sabor agrio característico de los alimentos lácteos fermentados, tales como el yogur, sino que también, al disminuir el pH, puede dar menos opciones de crecimiento a los organismos descomponedores, lo que genera grandes beneficios para la salud relacionados con la prevención de las infecciones gastrointestinales. Las cepas de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las bacterias probióticas más ampliamente utilizadas.

Los cultivos bacterianos probióticos pretenden ayudar a que la flora intestinal que se genera de forma natural en el cuerpo se reestablezca por sí sola. A veces los médicos, y con más frecuencia los bromatólogos, los recomiendan tras un ciclo de antibióticos, o como parte del tratamiento contra la candidosis relacionada con el intestino. Se ha reivindicado que los probióticos refuerzan el sistema inmunitario para combatir las alergias y otras enfermedades inmunitarias.

Preferiblemente, la bacteria de acuerdo con la presente invención es una *Bifidobacterium animalis subespecies lactis*.

Más preferiblemente, la bacteria de acuerdo con la presente invención es una *Bifidobacterium animalis subespecies lactis* depositada con el número I-2494 en el CNCM el 20 de junio de 2000. Esta cepa recibió el código DN-173 010 y está protegida, por su uso como modulador de la glucosilación de la superficie de las células intestinales, por la patente europea EP 1 297 176.

De acuerdo a la nueva taxonomía, la cepa se clasifica ahora como *B. animalis subespecies lactis* (16) y se puede utilizar como nombre común *B. lactis*.

En una realización preferida de la invención, se administran a la persona aproximadamente  $1 \times 10^{10}$  ufc de la bacteria al día durante al menos 15 días, preferiblemente al menos 28 días, más preferiblemente al menos 4 semanas.

Más preferiblemente, se administran a la persona  $1,25 \times 10^{10}$  ufc de la bacteria dos veces al día durante al menos 15 días, preferiblemente al menos 28 días, más preferiblemente al menos 4 semanas. De acuerdo con la invención, la persona puede ser un niño, un adulto o un anciano, preferiblemente un adulto.

En una realización preferida de la invención, la persona es una mujer.

De hecho, se ha demostrado que las mujeres tienen una predisposición al aumento del síndrome del colon irritable (1, 13).

En una realización preferida, la persona tiene o padece borborigmos.

El propósito de dicho procedimiento no terapéutico es disminuir los borborigmos de las personas sanas de la población, en particular después de las comidas. Preferiblemente, dicho procedimiento no terapéutico es disminuir la frecuencia de los borborigmos de dichas personas.

### Descripción de las figuras

Figura 1: distribución basal de la frecuencia de los borborigmos: los valores se expresan como el porcentaje de personas por clase (0 = nunca; 1 = una vez a la semana; 2 = dos o tres días a la semana; 3 = cuatro a seis días a la semana; 4 = cada día durante la semana).

Figura 2: cambios en la puntuación de la frecuencia de los borborigmos en la población con SCI.

Figura 3: cambios relativos en la puntuación de la frecuencia de los borborigmos en la población con SCI.

### Ejemplos

I. Material y métodos

I-A Población del estudio

El estudio era monocéntrico, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado, en dos grupos en paralelo (grupo problema (100 pacientes) y grupo de control).

El estudio se llevó a cabo en 197 mujeres sanas con síntomas digestivos menores con una edad de 18 a 60 años, sin un diagnóstico de trastornos gastrointestinales y en especial trastornos funcionales del intestino, con edades de 18 a 60 años.

Criterios de inclusión

- Mujeres independientes de 18 a 60 años de edad.
- Persona con un índice de masa corporal entre 18 y 30, límites incluidos.
- Persona con síntomas digestivos menores, como queda definido por la puntuación de entre 8 y 16 (límites incluidos) o al menos un síntoma digestivo con una puntuación  $\geq 4$  de acuerdo con el siguiente cuestionario de escrutinio de la frecuencia de los síntomas digestivos.

5

Cuestionario de escrutinio de la frecuencia de los síntomas digestivos:

A una persona se le hacen las cuatro preguntas siguientes:

1. En el último mes, ¿con qué frecuencia tuvo malestar o dolor en alguna parte del abdomen?
2. En el último mes, ¿con qué frecuencia tuvo distensión abdominal?
3. En el último mes, ¿con qué frecuencia tuvo flatulencias/pase de gases?
4. En el último mes, ¿con qué frecuencia tuvo borborigmos/estómago con retumbos?

10

Para cada cuestión, la persona puede responder con una de las 5 respuestas propuestas, en donde cada respuesta tiene una puntuación: «Nunca» (puntuación = 0), «Un día al mes» (puntuación = 1), «Dos o tres días al mes» (puntuación = 2), «Un día a la semana» (puntuación = 3), «Más de un día a la semana» (puntuación = 4) y «Cada día» (puntuación = 5).

15

Cualquier mujer podrá participar en el estudio si tiene una puntuación global para las cuestiones 1-4 entre 8 y 16 (límites incluidos); o al menos un síntoma (1-4) con una puntuación  $\geq 4$ .

- Persona con una frecuencia de deposición entre 3 y 21 movimientos intestinales a la semana (límites incluidos).

20

Para obtener esta frecuencia de deposición, la persona tiene que responder la siguiente cuestión: En el último mes, ¿cuántos movimientos intestinales tuvo de media por semana?

- Para las mujeres que no están en la menopausia: la persona utiliza métodos anticonceptivos.
- Mujeres fértiles que no están tomando en la actualidad píldoras anticonceptivas por vía oral (al menos 1 ciclo mensual completo antes de la administración de la medicación del estudio y sigue hasta 1 mes después de la última dosis de la medicación del estudio) debe utilizar o seguir alguno de los demás métodos de anticoncepción médicamente autorizados, tales como, pero no exclusivamente, uno de los siguientes: a) dispositivo intrauterino (DIU), b) métodos con doble barrera (tales como condones y espermicida); c) abstinencia, cuando en opinión del investigador, su ocupación o estilo de vida da suficientes pruebas de que la abstinencia se mantendrá a lo largo del estudio y durante 1 mes a partir de entonces. En el caso de la abstinencia, se debe anotar en los documentos originales que «la persona recibió los consejos pertinentes»
- Persona que ha dado su consentimiento por escrito para formar parte del estudio.
- Persona con un consumo regular de productos lácteos y lista para consumir 2 botes del producto del estudio al día.

25

30

35 Criterios de exclusión

- Persona con un diagnóstico de síndrome del colon irritable (SCI) u otra enfermedad funcional del intestino (estreñimiento, diarrea, etc).
- Persona a la que un médico de cabecera o gastroenterólogo ha explorado en busca de síntomas digestivos en el tramo final (colon e intestino delgado).
- Persona con una enfermedad orgánica conocida, incluida una enfermedad inflamatoria del intestino, un tumor benigno o maligno del intestino o del colon, y una enfermedad sistémica significativa.
- Persona a la que se ha recetado medicación contra los síntomas digestivos, tales como fármacos antiespasmódicos, laxantes y antidiarreicos.
- Persona que ha tomado antibióticos en las últimas 4 semanas.

40

45

- Persona con cambio de los hábitos de la dieta en las 4 semanas anteriores (por ejemplo, comenzó una

dieta rica en fibras).

- Persona sometida a anestesia general en las 4 semanas anteriores.
  - Mujer embarazada o mujer que planea quedarse embarazada durante el estudio; mujer lactante.
  - Persona que se sabe que tiene intolerancia a la lactosa o inmunodeficiencia.
- 5
- Persona con una alergia conocida a un componente del producto (por ejemplo, proteína de la leche).
  - Persona que haya participado en cualquier otro estudio clínico en el mes anterior o en un periodo de exclusión tras otro estudio clínico.
  - Persona en una situación que en opinión del investigador podría interferir con la participación óptima en el presente estudio, o que podría constituir un riesgo especial para el paciente.
- 10
- Persona incapaz de comprender ni de responder a las preguntas.

A lo largo del estudio, las personas no tenían que consumir ningún producto lácteo fermentado ni probiótico diferente al que se les suministra. Se les invitó a que continuaran con todos los demás aspectos de sus hábitos de dieta y de ejercicio físico.

#### Criterios de aleatorización

- 15
- Persona cuya puntuación media compuesta de la frecuencia de los síntomas digestivos (distensión abdominal, dolor/malestar abdominal, flatulencia/pase de gases y borborismos/estómago ruidoso) es de  $> 2$  y  $\leq 12$  durante el periodo de preinclusión.
  - Persona con una frecuencia media de deposiciones que comprende entre 3 y 21 movimientos intestinales por semana (límites incluidos) durante el periodo de preinclusión.
- 20
- No consumió ningún antibiótico durante el periodo de preinclusión.

#### I-B Realización del estudio

##### Periodo de preinclusión

- A las personas que desean participar en este estudio se les ha invitado a mantener una primera visita (visita de inclusión V1) en la unidad clínica para comprobar los criterios de inclusión y de exclusión. Las personas también
- 25
- Para ser incluida en el estudio, la persona debe tener una puntuación mínima mayor o igual a 8, o al menos un síntoma digestivo con una puntuación mayor o igual a 4 (cuestionario de escrutinio positivo). Durante esta visita, el investigador ha tomado nota de los antecedentes quirúrgicos y médicos, entre ellos si hay alguna enfermedad concurrente y su tratamiento. El uso actual de medicación contra los síntomas gastrointestinales se ha documentado
- 30
- explícitamente.

Las personas que cumplen todos los criterios de elegibilidad han pasado al periodo de preinclusión de 2 semanas.

- A estas participantes se les ha proporcionado un diario personal para que lo rellenen cada día durante el periodo de preinclusión de 2 semanas. También han recibido recomendaciones dietéticas (a saber, la exclusión de otros
- 35
- productos lácteos fermentados y probióticos) que habrán de seguir durante todo el estudio. Se necesita este periodo de preinclusión antes del comienzo del consumo de los productos lácteos fermentados para recoger los datos basales para los parámetros de valoración con el objeto de capturar la variación natural de los síntomas digestivos y para verificar que las personas tienen un mínimo de síntomas digestivos, tal y como está definido en los criterios de aleatorización. Este periodo se ha utilizado para homogeneizar el consumo dietético de los productos lácteos fermentados y probióticos.

##### 40 Periodo de doble enmascaramiento

Durante las 4 semanas del consumo del producto con doble enmascaramiento, se les ha pedido a todas las participantes que sigan la información dietética que se les ha proporcionado. Se les ha pedido que anoten cada día y cada semana la información que se utilizará para medir los efectos del producto lácteo fermentado Activia®.

Las participantes tenían que anotar cada día:

- 45
- Cantidad de productos del estudio que han consumido.

- Cantidad y tipo de productos no autorizados que han consumido.

Las participantes tenían que anotar cada semana:

- La frecuencia de síntomas digestivos: borborrismos/estómago ruidoso.

I-C Descripción de la administración del producto

## 5 Productos

El producto problema es el producto lácteo fermentado Activia® comercializado por Danone y que contiene bacterias vivas. Contiene un organismo específico, *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 ( $1,25 \times 10^{10}$  unidades formadoras de colonias (ufc) por bote), combinado con dos iniciadores tradicionales del yogur, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* ( $1,2 \times 10^9$  ufc/bote).

- 10 El producto de control es un producto lácteo sin fermentar que contiene leche (sin probióticos) y que contiene poca lactosa (< 4 g/bote), con una apariencia, textura y sabor cercanos al del producto problema.

Los productos de control y problema no están aromatizados. Cada servicio (un bote) del producto de control con placebo o de problema contenía 125 g.

Métodos de administración

- 15 Las participantes han comenzado a consumir el producto del estudio después de la aleatorización la mañana posterior al día de la visita de aleatorización. Las participantes han consumido 2 botes del producto de control o de problema cada día a lo largo del periodo de 28 días completos de consumo con doble enmascaramiento (hasta el final de la semana 4) de acuerdo con la lista de aleatorización (excepto los días primero y último, en los que han consumido sólo un producto, respectivamente, en la cena y en el desayuno). Los productos se deben consumir con una comida dos veces al día, preferiblemente una vez en el desayuno y una vez en la cena. En el caso de las participantes que olviden tomarse el producto, se les recomienda que lo consuman con la siguiente comida.
- 20

Se ha permitido que las participantes consuman los productos con azúcar, mermelada, jalea, fruta y cereales, por ejemplo. Los productos tienen que consumirse a una temperatura fresca (no es posible calentarlos).

Productos y tratamientos autorizados y prohibidos durante el estudio.

- 25 Durante toda la duración del estudio, se ha pedido a las participantes que sigan unas recomendaciones dietéticas. Deben evitar la ingestión de cualquier otro producto lácteo fermentado, tales como yogures o productos que contienen probióticos (p. ej., Yakult, Actimel®, etc.) y cualquier comprimido, píldora, polvo u otro complemento alimenticio que contengan probióticos diferentes a los proporcionados. Se pueden incluir todos los quesos y otros derivados de la leche y, así pues, se pueden consumir. También se ha pedido a las participantes que eviten realizar cualquier cambio significativo de su dieta habitual durante el periodo del estudio (a saber, ningún cambio en la cantidad habitual de fibra, que no comiencen ninguna dieta de adelgazamiento, etc.).
- 30

El objetivo de estas recomendaciones dietéticas es limitar los factores de confusión a la hora de evaluar el efecto del producto.

- 35 Durante todo el estudio, se puede tomar cualquier fármaco, excepto los antibióticos. En el caso de que haya que consumir antibióticos, la participante sería eliminada del estudio.

En el caso de que haya que consumir algún fármaco, se le pedirá a la participante que incluya en su diario personal el nombre, la dosis y las fechas de ingestión del medicamento consumido. En relación con las recomendaciones sobre los tratamientos que se consumirán, se recomienda a las participantes que se pongan en contacto con el investigador o la enfermera del estudio.

## 40 II- Evaluación del efecto del producto

Frecuencia del borborrismo/estómago ruidoso, autoevaluada por las participantes con una escala de Likert de 5 puntos (evaluación semanal durante todo el estudio).

II-A Medición, recogida y análisis de los parámetros de valoración de la eficacia

Síntoma digestivo (borborrismo/estómago ruidoso)

- 45 La frecuencia de cada síntoma digestivo (borborrismo/estómago ruidoso) se ha evaluado cada semana con una escala de Likert de 5 puntos que oscila de 0 (nunca) a 4 (cada día de la semana). Esta valoración se ha realizado a lo largo del estudio desde la entrada de la participante en el estudio hasta la última visita. Se le ha pedido cada vez a

la participante que evalúe la frecuencia de cada síntoma durante los 7 días anteriores.

Se ha calculado una puntuación compuesta a partir de esta información.

- 5 Se eligió seguir la frecuencia de los síntomas digestivos en vez de la intensidad/gravedad, que es lo que normalmente se sigue en los ensayos sobre trastornos funcionales del intestino. Parece que es lo más pertinente, ya que la intensidad o gravedad de los síntomas digestivos será baja en una población global a la que no se le ha diagnosticado ningún síndrome digestivo.

## II-B Estadística

### Estadística descriptiva

- 10 La distribución de los parámetros del estudio y de las covariables (edad, índice de masa corporal, frecuencia de las deposiciones, etc.) se ha resumido según el tipo de variable en cuestión junto con una descripción del número de participantes y del número de datos ausentes (cuando sean relevantes).

Se da la siguiente estadística descriptiva para cada tipo de variable:

- Datos cualitativos: número y frecuencia.
- Datos cualitativos ordinales: mediana, cuartiles, número de sucesos y frecuencia.
- 15 – Datos continuos: número, media, desviación estándar de la variable (DE), error estándar de la media (EEM), intervalo (mínimo-máximo), mediana, cuartiles e intervalos de confianza, si es posible.

Las tablas de resumen de los parámetros del estudio se deben preparar para todos los participantes y al menos por nivel de efectos principales (producto, tiempo, etc.).

### Análisis estadístico

- 20 Los datos basales se recogieron antes de consumir el producto:

El valor basal para los síntomas digestivos es la mediana del valor basado en las dos semanas antes de consumir el producto.

- 25 Para el parámetro cualitativo, la comparación entre grupos se realiza en cada momento de medición con una prueba de  $\chi^2$  con corrección continuidad o mediante una prueba de exactitud de Fisher en el caso de que se viole la suposición de la prueba de  $\chi^2$  sobre el tamaño de las frecuencias esperadas.

Para los datos ordinales, la comparación entre los grupos se realiza mediante un modelo lineal generalizado para tener en cuenta la propiedad ordinal de los parámetros. Para las mediciones repetidas también se puede realizar el análisis de ecuaciones de estimación generalizadas y/o de modelado multinivel mixtas si es necesario a modo de análisis secundario.

- 30 Para los datos cuantitativos, se analiza la distribución de los parámetros del estudio. En el caso de normalidad, los análisis se han realizado mediante un análisis paramétrico, o si no con un análisis no paramétrico o con análisis independiente de la distribución. Sin embargo, antes de adoptar la estrategia independiente de la distribución o no paramétrica, se ha intentado alguna transformación de variables para hallar el mejor modo de analizar los parámetros con pruebas paramétricas.

- 35 Nivel de significación estadística planificada

Las pruebas estadísticas de los principales efectos se han realizado con un nivel de significación bilateral del 5%. Un nivel de significación de entre el 5 y el 10% se considera que es indicativo de una tendencia. En cuanto al umbral de significación para los efectos de interacción, el nivel para concluir que un efecto es significativo es del 10%.

Los factores de interacción se podrían estimar si el valor de  $p$  es  $< 0,05$ .

- 40 Criterios de evaluación

Examen principal:

- Comparación de las tendencias entre los grupos durante las 4 semanas de consumo del producto con doble enmascaramiento.

Exámenes secundarios:

- Comparación múltiple si es pertinente.
- Estadística descriptiva en cada momento para cada grupo

### III. Resultados

#### Datos basales

- 5 La distribución basal de la frecuencia de los borborismos se muestra en la figura 1. Más del 60% de la población presenta una frecuencia de borborismos de entre 1 vez a la semana y 2 a 3 días a la semana.

Durante las 4 semanas de consumo del producto se ha mostrado que hubo una reducción significativa (reducción media de  $-0,22$ ,  $p < 0,05$ ) de la puntuación de borborismos (figura 2). La mayor reducción en la puntuación de borborismos se observa tras 4 semanas de consumo del producto (grupo con Activia =  $-0,70$  frente al grupo de control =  $-0,33$ ;  $p < 0,05$ ).

Los cambios relativos de la puntuación de la frecuencia de los borborismos se muestran en la figura 3. Después de consumir el producto durante 2 semanas se observa una reducción del 11% (grupo con Activia =  $-22\%$  frente al grupo de control =  $-5\%$ ). La mayor reducción se observa tras 4 semanas de consumo del producto (grupo con Activia =  $-22\%$  frente al grupo de control =  $-9\%$ ).

15

**Referencias:**

1. Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller R. "Functional Bowel Disorders"; *Gastroenterology* 2006; 130 (5): 1480-91.
2. Drossman DA, Li Z, Andruzzi E et al. "US Householder survey of functional gastrointestinal disorders: prevalence, sociodemography and health impact"; *Dig Dis Sci* 1993, 38: 1569-1580.
3. Thompson WG. "A world view of IBS". In: Spiller R and Camilleri M, eds. "The Irritable Bowel Syndrome, Diagnosis and treatment"; WB Saunders, 2002: 17-26.
4. Longstreth GF. "Definition and classification of IBS: current consensus and controversies"; *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 173-187.
5. Longstreth GF, Bolus R, Naliboff B et al. "Impact of irritable bowel syndrome on patient lives: development and psychometric documentation of disease-specific measure for use in clinical trials"; *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 411-420.
6. Wilson A, Longstreth G, Knight K et al. "Quality of life in managed care patients with irritable bowel syndrome"; *Manage Care Interface* 2004; 17: 24-28.
7. Spiller R, Aziz Q, Creed F, Emmanuel A, Houghton LA, Hungin P, Jones R, Kumar D, Rubin G, Trudghill N, Whorwell PJ. "Guidelines for the management of irritable bowel syndrome"; *Gut* 2006 (in press).
8. Bougle et al. "Effect of Propionibacteria Supplementation on Fecal Bifidobacteria and Segmental Colonic Transit Time in Healthy Human Subjects"; 1999 *Scand. J. Gastroenterol.* 34 p144.
9. Fioramonti J, Theodorou V and Bueno L. "Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology?" *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17:711-724.

9bis. Quigley EMM and Flourié B. Probiotics and irritable bowel syndrome: a rationale for their use and an assessment of the evidence to date. *Neugastroenterol Motil* 2007; 19:166-172.

10. US 20030147858

11. Kajander et al., "clinical trial: multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota", *Aliment Pharmacol Ther*, 2008, 27: 48-57.

12. Diplock et al. "Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document"; *British Journal of Nutrition*, 1999, 81, S1-S27

13. Houghton LA, Lea R, Agrawal A, Reilly B and Whorwell PJ. "Relationship of abdominal bloating to distension in irritable bowel syndrome and effect of bowel habit" ; *Gastroenterology* 2006; 131:1003-1010.

14. *Kajander et al.*, "A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowel syndrome patients: a controlled 6-month intervention" *Aliment Pharmacol Ther.*, 2005, 22:387-394.

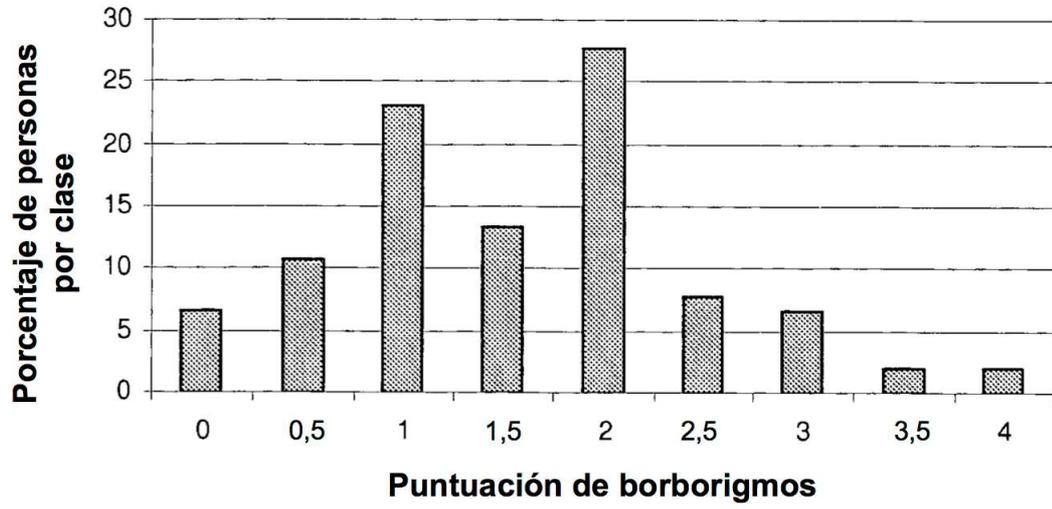
15. Rome III - Functional Gastrointestinal Disorders – Third edition. p869; Drossman DA Eds, Degnon Associates, Inc. Mc lean Virginia.

16. Masco et al, "Polyphasic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* subsp. nov. and *Bifidobacterium lactis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* subsp. Nov." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (2004), 54, 1137–1143

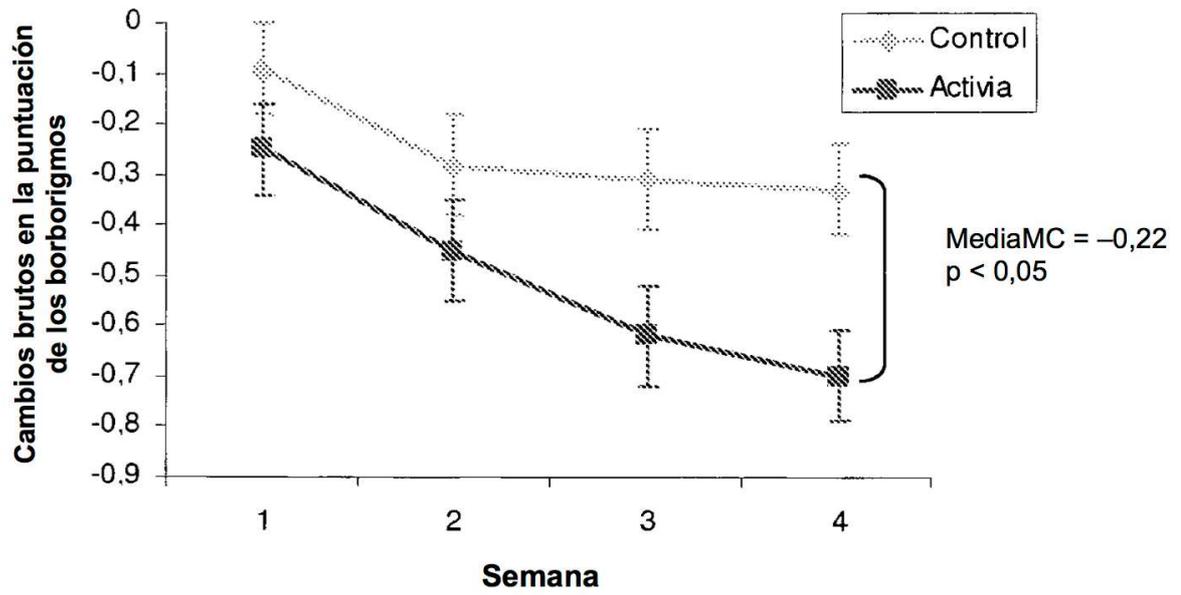
**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Utilización no terapéutica de al menos  $1 \times 10^9$  ufc de *Bifidobacterium animalis* al día durante al menos 15 días para disminuir los borborigmos de una persona sana, en donde dichas bacterias se administran en forma de un producto lácteo fermentado, en donde dicho producto lácteo fermentado comprende *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.
2. Utilización no terapéutica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por que la disminución de los borborigmos de la persona es una disminución de la frecuencia de los borborigmos de al menos el 20%, preferiblemente del 50%.
- 10 3. Utilización no terapéutica de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que dichas bacterias se escogen entre el grupo de la especie *Bifidobacterium animalis subespecies lactis*.
4. Utilización no terapéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que la bacteria es *Bifidobacterium animalis subespecies lactis* depositada con el número CNCM I-2494.
- 15 5. Utilización no terapéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que aproximadamente  $1,25 \times 10^{10}$  ufc de dichas bacterias se administran a la persona dos veces al día durante al menos 28 días.
6. Utilización no terapéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que la persona es una mujer.
7. Utilización no terapéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que el producto lácteo fermentado es un yogur.

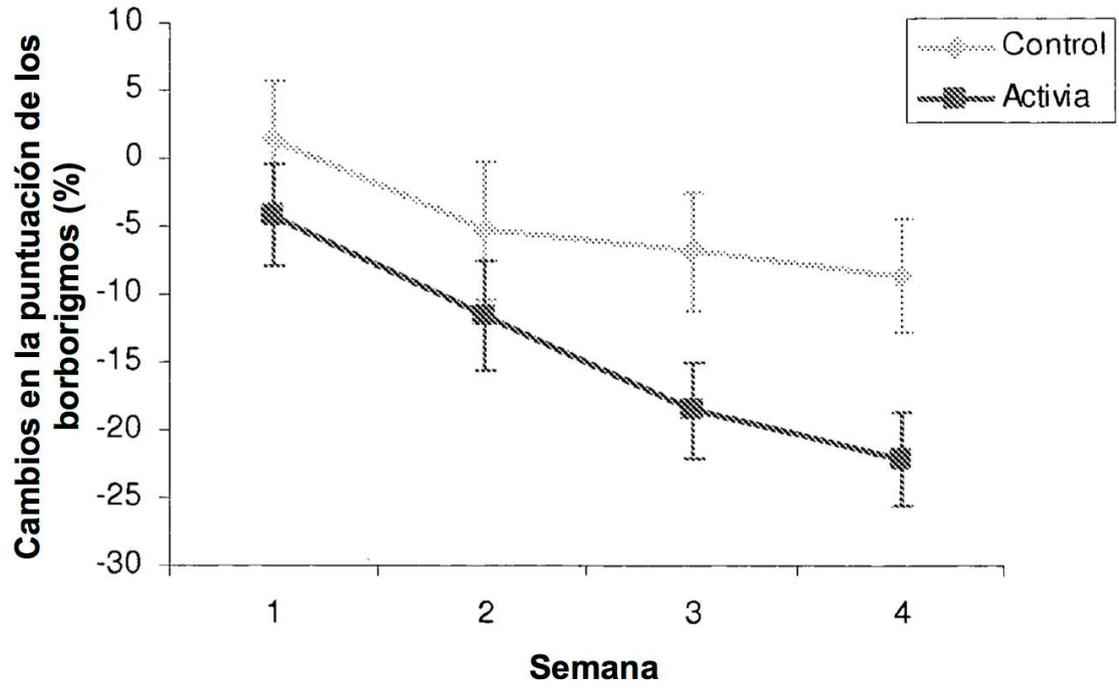
20



**Figura 1**



**Figura 2**



**Figura 3**