

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 344**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2006.01)

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.2009** **E 09800034 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2013** **EP 2315595**

54 Título: **Probióticos para incrementar la secreción de IgA en bebés nacidos por cesárea**

30 Prioridad:

21.07.2008 EP 08160806

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

11.02.2014

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

ROCHAT, FLORENCE y
FICHOT, MARIE-CLAIRE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 442 344 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

Probióticos para incrementar la secreción de IgA en bebés nacidos por cesárea

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a la administración de bacterias probióticas en bebés nacidos por cesárea, para incrementar la secreción de IgA durante los primeros cuatro a seis meses de vida.

10 Antecedentes de la invención

Se cree que el tracto gastrointestinal de un bebé es estéril inmediatamente antes del nacimiento. Durante el proceso normal del parto, se encuentra con bacterias del tracto digestivo, la piel y el medio ambiente de la madre y empieza a ser colonizado. La microbiota fecal de un bebé sano, de parto vaginal y alimentado con leche materna, de 2 a 4

15 semanas, que puede considerarse la microbiota óptima para este grupo de edad se encuentra dominada por especies de Bifidobacteria con algunas especies de Lactobacillus y menores cantidades de Bacteroides, tal como la especie Bacteriodes fragilis, a expensas de patógenos potenciales tales como Clostridia. Tras completarse el destete aproximadamente a los 2 años de edad, se establece un patrón de microbiota intestinal que es similar al patrón adulto.

20 Debe indicarse que, en niños sanos de parto vaginal alimentados con leche materna, las bifidobacterias forman la base de la microbiota, constituyendo 60% a 90% de las bacterias totales en el intestino del niño. La lactancia materna también estimula el desarrollo de la barrera intestinal, que, conjuntamente con el dominio de las bifidobacterias, da lugar a una mayor absorción y, por lo tanto, a una mejor utilización de la alimentación ingerida.

25 Gröndlund et al. han estudiado la microbiota fecal de los niños sanos nacidos por cesárea y la han comparado con la de un grupo comparable de niños nacidos de parto vaginal. Concluyeron que la flora intestinal de los niños nacidos por cesárea puede encontrarse alterada durante un periodo de hasta seis meses después del nacimiento. Concretamente observaron que las tasas de colonización por bifidobacterias y lactobacilos en el grupo de cesárea alcanzaba las tasas de colonización del grupo de parto vaginal sólo tras un mes y tras diez días, respectivamente

30 (Grönlund et al., "Fecal Microflora in Healthy Infants Born by Different Methods of Delivery: Permanent Changes in Intestinal Flora After Cesarean Delivery", Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 28:19-25). Otros autores han sugerido que esta colonización retrasada/aberrante podría presentar consecuencias específicas sobre el desarrollo posterior del niño y han investigado una posible asociación entre estas consecuencias y diferencias en la microbiota intestinal. Por ejemplo, Martino et al. han investigado los patrones de colonización y la producción mucosal de IgA a los 6 meses de edad en relación a exposiciones tempranas, al desarrollo inmunológico sistémico y a estados alérgicos tempranos en una cohorte que había recibido el probiótico Lactobacillus acidophilus cepa LAVRI-A1 ó un placebo (Martino et al., "Relationship between early intestinal colonisation, mucosal immunoglobulin A production and systemic immune development", Clinical and Experimental Allergy 38:69-78).

40 La leche materna está recomendada para todos los bebés. Sin embargo, en algunos casos la alimentación materna resulta inadecuada o no tiene éxito por motivos médicos o porque la madre decide no amamantar. Se han desarrollado preparados para lactantes para estas situaciones.

45 Últimamente ciertas cepas de bacteria han suscitado un gran interés porque se ha encontrado que presentan propiedades valiosas para el ser humano si se ingieren. En particular, se ha encontrado que determinadas cepas de los géneros Lactobacilli y Bifidobacteria son capaces de colonizar el intestino, reducir la capacidad de las bacterias patógenas de adherirse al epitelio intestinal, presentar efectos inmunomoduladores y ayudar al mantenimiento del bienestar. Estas bacterias en ocasiones se denominan probióticos y ya se ha propuesto añadir bacterias probióticas adecuadas a los preparados para lactantes.

50 Se han llevado a cabo estudios exhaustivos para identificar nuevas cepas probióticas. Por ejemplo, las patentes EP nº 0 199 535 y nº 0 768, 373, el documento WO nº 97/00078, la patente EP nº 0 577 903 y el documento WO nº 00/53200 dan a conocer cepas específicas de Lactobacilli y Bifidobacteria y los efectos beneficiosos de las mismas.

60 Por ejemplo, Vancikova et al. han informado de que la colonización mucosal artificial temprana con la cepa bacteriana probiótica E. coli O83 estimula a que el sistema inmunológico mucosal produzca IgA secretoria no específica además de anticuerpos específicos (Vancikova et al., "The early postnatal development of salivary antibody and immunoglobulin response in children orally colonised with a non-pathogenic, probiotic strain of E. coli", Folia Microbiol (Praha) 48:281-7, 2003).

Fukushima et al. han estudiado el efecto de la cepa probiótica *Bifidobacterium lactis* sobre la secreción de IgA en una cohorte de niños de más edad (15 a 31 meses) y han encontrado niveles incrementados de IgA totales y IgA anti-virus de la polio.

5 La patente EP nº 1776877 da a conocer métodos para estimular el desarrollo saludable de la flora intestinal de los niños nacidos por cesárea.

La patente EP nº 1974743 da a conocer la utilización de bacterias probióticas para estimular el desarrollo de una microbiota intestinal bifidogénica temprana en niños nacidos por cesárea.

10 La proporción de partos por cesárea continúa incrementándose, alcanzado hasta el 70% de todos los nacimientos en algunos países. Por lo tanto, resulta evidente que existe una necesidad de proporcionar medios para reducir el riesgo de que los niños nacidos por cesárea sufran consecuencias adversas sobre la salud como consecuencia del tipo de parto. Esta necesidad resulta particularmente aguda dada la práctica actual de administrar rutinariamente
15 dosis profilácticas de antibióticos en mujeres embarazadas que se someten a un parto por cesárea electivo.

Descripción resumida de la invención

20 De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la presente invención proporciona la utilización de bacterias probióticas en la preparación de una fórmula para lactantes para incrementar la secreción de IgA en un bebé nacido por cesárea durante los primeros cuatro meses de vida del bebé.

La invención se extiende a la utilización de bacterias probióticas en la preparación de una fórmula para lactantes para mejorar las defensas inmunológicas mucosales de un bebé nacido por cesárea durante los primeros cuatro
25 meses de vida del bebé.

La exposición se extiende además a un método para incrementar la secreción de IgA en un bebé nacido por cesárea durante los primeros cuatro meses de vida del bebé, que comprende proporcionar una cantidad terapéutica de bacterias probióticas en un bebé nacido por cesárea y que necesita de la misma.

30 La exposición se extiende además a un método para incrementar la secreción de IgA en un bebé nacido por cesárea durante los primeros cuatro meses de vida del bebé, que comprende proporcionar una cantidad terapéutica de bacterias probióticas en un bebé nacido por cesárea y que necesita de las mismas.

35 Sin deseo de restringirse a ninguna teoría en particular, los presentes inventores consideran que la administración de bacterias probióticas en un bebé nacido por cesárea de alguna manera todavía no entendida por completo induce a que el tracto gastrointestinal del bebé favorezca la colonización posterior por algunas especies de bifidobacterias, las cuales se encuentran comúnmente en el intestino de los niños sanos de parto vaginal alimentados con leche materna y que la colonización beneficiosa incrementa la secreción de IgA totales (es decir, la secreción de tanto IgA
40 específicas como no específicas) hasta niveles comparables a los observados naturalmente en esta población de referencia. Un efecto de la secreción incrementada de IgA es incrementar las defensas inmunológicas mucosales del lactante.

45 Debe indicarse que no es ni el objeto ni el efecto de dicho tratamiento la estimulación de la colonización por las especies de probiótico que se administran sino estimular la colonización por otras especies, de manera que se consiga una microbiota intestinal bifidogénica comparable a la observada en niños sanos de parto vaginal alimentados con leche materna.

Descripción detallada de la invención

50 En la presente memoria, los términos siguientes presentan los significados siguientes:

"bebé" se refiere a un niño de menos de 12 meses de edad.

55 "prebiótico" se refiere a un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una bacteria o de un número limitado de bacterias en el colon y que, de esta manera, mejora la salud del huésped (Gibson y Roberfroid, "Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics", J. Nutr 125: 1401-1412).

60 "probiótico" se refiere a preparados celulares microbianos o componentes de células microbianas con un efecto beneficioso sobre la salud o el bienestar del huésped (Salminen S., Ouwehand A., Benno Y. et al., "Probiotics: how should they be defined" Trends Food Sci. Technol. 10:107-10, 1999).

Todas las referencias a porcentajes son a porcentajes en peso a menos que se indique lo contrario.

La bacteria probiótica es cualquier bacteria del ácido láctico o bifidobacteria con características probióticas establecidas que también es capaz de estimular el desarrollo de una microbiota intestinal bifidogénica temprana.

5 Entre las bacterias del ácido láctico probióticas adecuadas se incluyen *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 obtenible, entre otros, de Valio Oy de Finlandia bajo la marca LGG, *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 y *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 obtenible de Biogaia, *Lactobacillus fermentum* VRI 003 y *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116

10 Entre las cepas de bifidobacteria probiótica adecuada se incluyen *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999, comercializada por Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón bajo la marca BB536, la cepa *Bifidobacterium breve* comercializada por Danisco bajo la marca Bb-03, la cepa de *Bifidobacterium breve* comercializada por Morinaga bajo la marca M-16V y la cepa *Bifidobacterium breve* comercializada por Institut Rosell (Lallemand) bajo la marca R0070. Una cepa de bifidobacteria particularmente preferente es *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446, que puede obtenerse de la compañía Christian Hansen de Dinamarca bajo la marca Bb12. Puede utilizarse una mezcla de bacterias del ácido láctico probióticas y bifidobacterias adecuadas.

Una dosis diaria adecuada de las bacterias probióticas es de entre 10^3 y 10^{11} unidades formadoras de colonia (ufc), más preferentemente de entre 10^7 y 10^{10} cfu.

20 Las bacterias probióticas se coadministran con un prebiótico. Entre los prebióticos adecuados se incluyen determinados oligosacáridos, tales como los fructooligosacáridos (FOS) y los galactooligosacáridos (GOS). Puede utilizarse una combinación de prebióticos, tal como 90% de GOS con 10% de fructooligosacáridos de cadena corta, tal como el producto comercializado bajo la marca Beneo® P95 ó 10% de inulina, tal como el producto comercializado bajo la marca Beneo® HP ST o HSI.

El prebiótico es una mezcla de uno o más galactooligosacáridos, uno o más oligosacáridos N-acetilados y uno o más oligosacáridos sialilados, en la que el oligosacárido u oligosacáridos N-acetilados constituyen 0,5% a 4,0% de la mezcla de oligosacáridos; el galactooligosacárido u galactooligosacáridos constituyen 92,0% a 98,5% de la mezcla de oligosacáridos y el oligosacárido u oligosacáridos sialilados constituyen 1,0% a 4,0% de la mezcla de oligosacáridos.

Entre los oligosacáridos N-acetilados adecuados se incluyen $\text{GalNAc}\alpha 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$ and $\text{Ga}1\beta 1,6\text{GalNAc}\alpha 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$. Los oligosacáridos N-acetilados pueden prepararse mediante la acción de glucosaminidasa y/o galactosaminidasa sobre la N-acetilglucosa y/o la N-acetilgalactosa. Igualmente, con este fin pueden utilizarse las N-acetilgalactosil-transferasas y/o las N-acetilglucosil-transferasas. Los oligosacáridos N-acetilados también pueden producirse utilizando tecnología de fermentación utilizando los enzimas respectivos (recombinantes o naturales) y/o la fermentación microbiana. En el último caso, los microbios pueden expresar sus enzimas y sustratos naturales o pueden manipularse para que producen los sustratos y enzimas respectivos. Pueden utilizarse cultivos de un único microbio o cultivos mixtos. La formación de oligosacáridos N-acetilados puede ser iniciada por sustratos aceptores partiendo de cualquier grado de polimerización (GP), de GP=1 en adelante. Otra opción es la conversión química de ceto-hexosas (por ejemplo fructosa) libres o unidas a un oligosacárido (por ejemplo lactulosa) en N-acetilhexosamina o en un oligosacárido que contiene N-acetilhexosamina, tal como se describe en Wrodnigg T.M., Stutz A.E., *Angew. Chem. Int. Ed.* 38:827-828, 1999.

45 Entre los galactooligosacáridos adecuados se incluyen $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}$, $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,6\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,3\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,4\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$ y $\text{Gal}\beta 1,4\text{Gal}\beta 1,4\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$. Algunos galactooligosacáridos sintéticos, tales como $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,6\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$ and $\text{Gal}\beta 1,3\text{Gal}\beta 1,6\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$, $\text{Gal}\beta 1,4\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$ y $\text{Gal}\beta 1,4\text{Gal}\beta 1,4\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$ y mezclas de los mismos se encuentran disponibles comercialmente bajo las marcas Vivinal® y Elix'or®. Otros proveedores de oligosacáridos son Dextra Laboratories, Sigma-Aldrich Chemie GmbH y Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. Alternativamente, pueden utilizarse glucosiltransferasas específicas, tales como las galactosiltransferasas, para producir oligosacáridos neutros.

55 Entre los oligosacáridos sialilados adecuados se incluyen $\text{NeuAc}\alpha 2,3\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$ and $\text{NeuAc}\alpha 2,6\text{Gal}\beta 1,4\text{Glc}$. Estos oligosacáridos sialilados pueden aislarse mediante tecnología cromatográfica o de filtración a partir de una fuente natural, tal como leches animales. Alternativamente, también pueden producirse mediante biotecnología utilizando sialiltransferasas específicas, mediante tecnología de fermentación basada en enzimas (recombinantes o naturales) o mediante tecnología de fermentación microbiana. En el último caso, los microbios pueden expresar sus enzimas y sustratos naturales o pueden manipularse para que producen los sustratos y enzimas respectivos. Pueden utilizarse cultivos de un único microbio o cultivos mixtos. La formación de sialil-oligosacáridos puede ser iniciada por sustratos aceptores partiendo de cualquier grado de polimerización (GP), de GP=1 en adelante.

Las bacterias probióticas se administran preferentemente en el bebé inmediatamente tras el parto y después durante como mínimo los primeros dos a cuatro meses de vida del bebé.

- 5 Las bacterias probióticas según la exposición se administran directamente en el bebé o, en el caso de que la madre esté amamantando, a través de la madre. En el caso de que las bacterias probióticas deban administrarse a través de la madre, se suministran a la misma como complemento en forma de tabletas, cápsulas, pastillas, goma de mascar o un líquido, por ejemplo. El complemento preferentemente contiene además la mezcla de oligosacáridos indicada anteriormente en una cantidad de entre 0,2 y 10 g/día. El complemento puede contener además
- 10 hidrocoloides protectores (tales como gomas, proteínas, almidones modificados), ligantes, agentes formadores de película, agentes/materiales encapsulantes, materiales de pared/cáscara, compuestos de matriz, recubrimientos, emulsionantes, agentes activos en superficie, agentes solubilizadores (aceites, grasas, ceras, lecitinas, etc.), adsorbentes, portadores, rellenos, co-compuestos, agentes dispersantes, agentes humectantes, adyuvantes de procesamiento (solventes), agentes de flujo, agentes enmascaradores del sabor, agentes espesantes, agentes
- 15 gelificantes, agentes formadores de gel, antioxidantes y antimicrobianos. El complemento puede contener además aditivos y adyuvantes farmacéuticos convencionales, excipientes y diluyentes, incluyendo, aunque sin limitación, agua, gelatina de cualquier origen, gomas vegetales, sulfonato de lignina, talco, azúcares, almidón, goma arábica, aceites vegetales, polialquilenglicoles, agentes saborizantes, conservantes, estabilizadores, agentes emulsionantes, tampones, lubricantes, colorantes, agentes humectantes, rellenos y similares. En todos los casos, dichos
- 20 componentes adicionales se seleccionan considerando su idoneidad para el receptor pretendido.

- Un preparado nutricionalmente completo para la administración en mujeres lactantes según la exposición puede comprender una fuente de proteínas. Puede utilizarse cualquier proteína alimentaria adecuada, por ejemplo
- 25 proteínas animales (tales como proteínas lácteas, proteínas cárnicas y proteínas de huevo), proteínas vegetales (tales como proteína de soja, proteína de trigo, proteína de arroz y proteína de guisante), mezclas de aminoácidos libres o combinaciones de los mismos. Resultan particularmente preferentes las proteínas lácteas, tales como la caseína y el suero, y resultan particularmente preferentes las proteínas de la soja. La composición también puede contener una fuente de carbohidratos y una fuente de grasas.

- 30 En el caso de que la fórmula según la exposición incluya una fuente de grasas además de ADH, la fuente de grasas preferentemente proporciona 5% a 40% de la energía del preparado; por ejemplo 20% a 30% de la energía. Puede obtenerse un perfil de grasas adecuado utilizando una mezcla de aceite de colza, aceite de maíz y aceite de girasol rico en ácido oleico.

- 35 Puede añadirse una fuente de carbohidratos al preparado de la exposición. Preferentemente proporciona 40% a 80% de la energía del preparado. Puede utilizarse cualquier carbohidrato adecuado, por ejemplo sacarosa, lactosa, glucosa, fructosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas y mezclas de los mismos. También puede añadirse fibra alimentaria si se desea. La fibra alimentaria pasa por el intestino delgado sin ser digerida por los enzimas y actúa como agente volumétrico y laxante natural. La fibra alimentaria puede ser soluble o insoluble y en general resulta
- 40 preferente una mezcla de los dos tipos. Entre las fuentes alimentarias de fibra alimentaria se incluyen la soja, los guisantes, la avena, la pectina, la goma guar y la goma arábica. Preferentemente, en caso de hallarse presente fibra, el contenido de la misma es de entre 2 y 40 g/l del preparado tal como se consume, más preferentemente entre 4 y 10 g/l. Además, el preparado preferentemente contiene además la mezcla prebiótica preferente en una cantidad de entre 2,5 y 15,0% expresada en peso de materia seca, preferentemente entre 3,0% y 12,0%, más
- 45 preferentemente entre 4,0% y 7,0%.

- El preparado de la exposición puede contener además minerales y micronutrientes, tales como elementos traza y vitaminas según las recomendaciones de los cuerpos gubernamentales, tales como el URSDA. Por ejemplo, el
- 50 preparado puede contener en cada dosis diaria uno o más de los micronutrientes siguientes en los intervalos proporcionados: 300 a 500 mg de calcio, 50 a 100 mg de magnesio, 150 a 250 mg de fósforo, 5 a 20 mg de hierro, 1 a 7 mg de cinc, 0,1 a 0,3 mg de cobre, 50 a 200 mg de yodo, 5 a 15 mg de selenio, 1.000 a 3.000 mg de beta-caroteno, 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
- 55 mg de vitamina D y 3 a 10 IU de vitamina E.

- Puede incorporarse uno o más emulsionantes de grado alimentario en el preparado de la exposición en caso de que se desee; por ejemplo ésteres de ácido diacetil-tartárico de mono- y di-glicéridos, lecitina y mono- y di-glicéridos. De manera similar, pueden incluirse sales y estabilizadores adecuados.

- 60 El preparado de la exposición preferentemente es administrable por vía entérica; por ejemplo en forma de unos polvos para la reconstitución con leche o agua. Alternativamente, o en el caso de bebés no amamantados, el probiótico puede administrarse como complemento, por ejemplo en forma de una dosis diaria de 10^{10} cfu disuelta en agua y administrada con una cuchara.

Para bebés no amamantados, las bacterias probióticas alternativamente pueden administrarse convenientemente en un preparado para lactantes.

5 Un preparado para lactantes para la utilización según la presente invención contiene una fuente de proteínas en una cantidad no superior a 2,0 g/100 kcal, preferentemente de entre 1,8 y 2,0 g/100 kcal. No se cree que el tipo de proteína resulte crítico para la presente invención con la condición de que se cumplan los requisitos mínimos de contenido de aminoácidos esenciales y se garantice un crecimiento satisfactorio, aunque resulta preferente que más del 50% en peso de la fuente de proteínas sea suero. De esta manera, pueden utilizarse fuentes de proteínas
10 basadas en suero, caseína y mezclas de los mismos, así como fuentes de proteínas basadas en soja. Respecto a las proteínas de suero, la fuente de proteínas puede estar basada en suero ácido o suero dulce o en mezclas de los mismos y puede incluir alfa-lactalbúmina y beta-lactoglobulina en las proporciones que se deseen.

15 Las proteínas pueden encontrarse intactas o hidrolizadas, o ser una mezcla de proteínas intactas e hidrolizadas. Puede resultar deseable suministrar proteínas parcialmente hidrolizadas (grado de hidrólisis de entre 2% y 100%), por ejemplo para bebés que se cree que presentan un riesgo de desarrollar alergia a la leche de vaca. En el caso de que se requieran proteínas hidrolizadas, el procedimiento de hidrólisis puede llevarse a cabo tal como se desee y tal como es conocido de la técnica. Por ejemplo, puede prepararse un hidrolizado de proteínas de suero mediante la hidrólisis enzimática de la fracción de suero en una o más etapas. En el caso de que la fracción de suero utilizada
20 como materia prima se encuentre sustancialmente libre de lactosa, se encuentran que la proteína sufre mucho menos bloqueo de las lisinas durante el procedimiento de hidrólisis. Lo anterior permite reducir el grado de bloqueo de las lisinas de aproximadamente 15% en peso de lisina total a menos de aproximadamente 10% en peso de lisina, por ejemplo aproximadamente 7% en peso de lisina, lo que mejora en gran medida la calidad nutricional de la fuente de proteínas.

25 El preparado para lactantes contiene una fuente de carbohidratos. Puede utilizarse cualquier fuente de carbohidratos convencionalmente encontrada en los preparados para lactantes, tal como lactosa, sacarosa, maltodextrina, almidón y mezclas de los mismos, aunque la fuente preferente de carbohidratos es la lactosa. Preferentemente, las fuentes de carbohidratos contribuyen entre 35% y 65% de la energía total del preparado.

30 El preparado para lactantes contiene una fuente de lípidos. La fuente de líquidos puede ser cualquier lípido o grasa que resulte adecuada para la utilización en preparados para lactantes. Entre las fuentes de grasas preferentes se incluyen la oleína de palma, el aceite de girasol rico en ácido oleico y el aceite de cártamo rico en ácido oleico. También pueden añadirse los ácidos grasos esenciales ácido linoleico y ácido α -linolénico, así como cantidades reducidas de aceites que contienen cantidades elevadas de ácido araquidónico y ácido docosahexanoico
35 preformados, tales como aceites de pescado o aceites microbianos. En total, el contenido de grasas preferentemente contribuye entre 30% y 55% de la energía total del preparado. La fuente de grasas preferentemente presenta una proporción de ácidos grasos n-6 a n-3 de entre aproximadamente 5:1 y aproximadamente 15:1, por ejemplo entre aproximadamente 8:1 y aproximadamente 10:1.

40 El preparado para lactantes puede contener además todas las vitaminas y minerales consideradas esenciales en la dieta diaria y en cantidades nutricionalmente significativas. Los requisitos mínimos para determinadas vitaminas y minerales han sido establecidos. Entre los ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes presentes opcionalmente en el preparado para lactantes se incluyen vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6,
45 vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantoténico, colina, calcio, fósforo, yodo, hierro, magnesio, cobre, cinc, manganeso, cloro, potasio, sodio, selenio, cromo, molibdeno, taurina y L-carnitina. Los minerales habitualmente se añaden en forma de sal. La presencia y cantidades de minerales específicos y de otras vitaminas variará según la población infantil objetivo.

50 En caso necesario, el preparado para lactantes puede contener emulsionantes y estabilizadores, tales como lecitina de soja, ésteres de ácido cítrico de mono- y di-glicéridos, y similares.

Además, el preparado para lactantes contiene preferentemente además la mezcla prebiótica preferente en una cantidad de entre 2,5% y 15,0% expresado en peso de materia seca, preferentemente de entre 3,0% y 12,0%, más
55 preferentemente de entre 4,0% y 7,0%.

El preparado para lactantes opcionalmente puede contener otras sustancias que pueden presentar un efecto beneficioso, tales como lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos y similares.

60 Tanto el preparado para lactantes como el preparado nutricional indicado anteriormente pueden prepararse de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, pueden prepararse mezclando la proteína, la fuente de carbohidratos y la fuente de grasas en proporciones adecuadas. En caso de utilizarse, en este punto pueden incluirse los emulsionantes. En este punto pueden añadirse las vitaminas y los minerales, aunque habitualmente se añaden

después para evitar la degradación térmica. Pueden disolverse cualesquiera vitaminas lipofílicas, emulsionantes y similares en la fuente de grasas antes de la mezcla. A continuación, puede mezclarse agua, preferentemente agua que ha sido sometida a ósmosis inversa, para formar una mezcla líquida. La temperatura del agua convenientemente es de entre aproximadamente 50°C y aproximadamente 80°C para ayudar a la dispersión de los ingredientes. Pueden utilizarse licuantes disponibles comercialmente para formar la mezcla líquida. A continuación, la mezcla líquida se homogeniza, por ejemplo en dos etapas.

A continuación, la mezcla líquida se trató térmicamente para reducir las cargas bacterianas, mediante calentamiento rápido de la mezcla líquida hasta una temperatura comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 80°C y aproximadamente 150°C durante un periodo de entre aproximadamente 5 segundos y aproximadamente 5 minutos, por ejemplo. Lo anterior puede llevarse a cabo mediante inyección de vapor, autoclave o en un intercambiador de calor, por ejemplo en un intercambiador de calor de placas.

A continuación, la mezcla líquida puede enfriarse hasta una temperatura de entre aproximadamente 60°C y aproximadamente 85°C, por ejemplo mediante enfriamiento rápido. Seguidamente la mezcla líquida puede homogeneizarse nuevamente, por ejemplo en dos etapas a una presión de entre aproximadamente 10 MPa y aproximadamente 30 MPa en la primera etapa y de entre aproximadamente 2 MPa y aproximadamente 10 MPa en la segunda etapa. A continuación, la mezcla homogeneizada puede enfriarse adicionalmente para añadir cualesquiera componentes lábiles al calor, tales como vitaminas y minerales. El pH y contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada se ajustan convenientemente en este punto.

La mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado adecuado, tal como un secador por pulverización o liofilizador y se convierte en polvos. Los polvos deberían presentar un contenido de humedad inferior a aproximadamente 5% en peso.

Las bacterias probióticas seleccionadas pueden cultivarse según cualquier método adecuado y prepararse para la adición al preparado nutricional o para lactantes mediante liofilización o secado por pulverización, por ejemplo. Alternativamente, los preparados bacterianos pueden enviarse a proveedores especialistas, tales como Christian Hansen y Valio ya preparados en una forma adecuada para la adición a productos alimentarios, tales como preparados nutricionales y para lactantes. Las bacterias probióticas pueden añadirse al preparado en una cantidad de entre 10^3 y 10^{12} cfu/g de polvos, más preferentemente de entre 10^7 y 10^{12} cfu/g de polvos.

A continuación, se ilustra adicionalmente la invención haciendo referencia a los ejemplos siguientes:

Ejemplo 1

Se proporciona a continuación un ejemplo ilustrativo de la composición de un preparado para lactantes adecuado.

Nutriente	por cada 100 kcal	por litro
Energía (kcal)	100	670
Proteínas (g)	1,83	12,3
Grasas (g)	5,3	35,7
Ácido linoleico (g)	0,79	5,3
ácido α -linolénico (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 (mg)	8	50
Se (mg)	2	13
Vitamina A (mg RE)	105	700
Vitamina D (mg)	1,5	10
Vitamina E (mg RE)	0,8	5,4
Vitamina K1 (mg)	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 (mg)	9	60
Ácido pantoténico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 (mg)	0,3	2
Biotina (mg)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I (mg)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5
Bifidobacterium lactis CNCM I-3446	2x10 ⁷ cfu/g de polvos, bacterias vivas	

Ejemplo 2:

- 5 **Objetivo:** Se desarrollo un ensayo clínico para evaluar el efecto de un preparado estándar y Nan[®] que contenía o no un probiótico, Bifidobacterium longum (BL999, ATCC BAA-999; Morinaga, Japón), sobre el desarrollo inmunológico de un bebé nacido por cesárea o mediante parto vaginal.

Métodos: ensayo controlado aleatorizado de doble ciego con 3 grupos:

- 10 -Grupo alimentado con un preparado estándar (caseína predominante, rico en fosfatos y proteínas, bajo en lactosa);
 -Grupo alimentado con Nan[®] (preparado para lactantes, disponible comercialmente de Nestlé Switzerland, proporción de caseína/suero de 30/70, bajo en proteínas (1,8 g/100 Kcal), bajo en fosfato (31 mg/100 Kcal) y niveles elevados de lactosa (11,1 g/100 Kcal);
 -Grupo alimentado con Nan[®] + BL999

- 15 También se analizó un grupo de referencia alimentado con leche materna.

Unos bebés sanos de embarazos simples a término nacidos por cesárea recibieron el preparado del estudio durante 4 meses.

- 20 Se midieron los niveles fecales de IgA (mg/ml) a los 2 meses mediante métodos convencionales.

Resultados: independientemente del modo de alimentación, los bebés nacidos por cesárea presentaban un nivel fecal más bajo de IgA. Resulta interesante que Nan[®] con el probiótico BL999 estimuló una producción más alta de IgA fecal que un preparado estándar o NAN sin probiótico.

- 25 Nivel absoluto medio de IgA (mg/ml) a los dos meses:

Modalidad de parto	Preparado estándar	NAN	NAN+ BL999	Alimentado con leche materna
Parto vaginal	25,31	37,24	39,61	56,06
Cesárea	19,37	23,11	33,23	54,20

- 30 **Conclusiones:** estos datos demuestran que los bebés nacidos por cesárea presentan una producción menor de IgA y que los preparados para lactantes enriquecidos con un probiótico tal como BL999 incrementan las funciones inmunológicas de los bebés nacidos por cesárea en comparación con el preparado estándar. Sus valores de IgA tienden a ser más similares a los de los alimentados con leche materna.

REIVINDICACIONES

1. Utilización de bacterias probióticas en la preparación de un preparado para lactantes para incrementar la secreción de IgA en un bebé nacido por cesárea durante los primeros cuatro meses de vida del bebé, en la que las bacterias probióticas son bacterias del ácido láctico o bifidobacterias, y en la que dicho preparado para lactantes contiene una fuente de proteínas en una cantidad no superior a 2,0 g/100 kcal y contiene una fuente de carbohidratos, y contiene una fuente de lípidos, y en la que el preparado para lactantes comprende además una mezcla de uno o más galactooligosacáridos, uno o más oligosacáridos N-acetilados y uno o más oligosacáridos sialilados en la que el oligosacárido u oligosacáridos N-acetilados constituye 0,5% a 40% de la mezcla de oligosacáridos, el galactooligosacárido o galactooligosacáridos constituye 92,0% a 98,5% de la mezcla de oligosacáridos y el oligosacárido u oligosacáridos sialilados constituyen 1,0% a 4,0% de la mezcla de oligosacáridos.
2. Utilización de bacterias probióticas en la preparación de un preparado para lactantes para incrementar las defensas inmunológicas mucosales de un bebé nacido por cesárea durante los primeros cuatro meses de vida del bebé, en la que las bacterias probióticas son bacterias del ácido láctico o bifidobacterias, y en la que dicho preparado para lactantes contiene una fuente de proteínas en una cantidad no superior a 2,0 g/100 kcal y contiene una fuente de carbohidratos, y contiene una fuente de lípidos, y en la que el preparado para lactantes comprende además una mezcla de uno o más galactooligosacáridos, uno o más oligosacáridos N-acetilados y uno o más oligosacáridos sialilados en la que el oligosacárido u oligosacáridos N-acetilados constituye 0,5% a 40% de la mezcla de oligosacáridos, el galactooligosacárido o galactooligosacáridos constituye 92,0% a 98,5% de la mezcla de oligosacáridos y el oligosacárido u oligosacáridos sialilados constituyen 1,0% a 4,0% de la mezcla de oligosacáridos.
3. Utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la que las bacterias del ácido láctico son de la cepa *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103, *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, *Lactobacillus fermentum* VRI 003 ó *Lactobacillus paracasei*, CNCMI-2116
4. Utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la que las bifidobacterias son de la cepa *Bifidobacterium lactis* CNCM 1-3446, *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999, *Bifidobacterium breve* Bb-03, *Bifidobacterium breve* M-16V o *Bifidobacterium breve* R0070.
5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el preparado para lactantes se administra en el bebé inmediatamente después del parto y posteriormente durante como mínimo 2 meses.
6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el preparado para lactantes se administra en el bebé durante un periodo posterior al parto de como mínimo 4 meses.
7. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el preparado para lactantes comprende entre 10^3 y 10^{11} cfu de bacterias probióticas en cada dosis diaria.
8. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el preparado para lactantes comprende entre 10^3 y 10^{12} cfu de bacterias probióticas por cada gramo de composición (peso seco).