

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 443 293**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61P 3/12 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2009 E 09721660 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2013 EP 2281567**

54 Título: **Inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre**

30 Prioridad:

19.03.2008 JP 2008072218

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

18.02.2014

73 Titular/es:

**MORISHITA JINTAN CO., LTD. (100.0%)
2-40, Tamatsukuri 1-chome, Chuo-ku
Osaka-shi Osaka 540-8566, JP**

72 Inventor/es:

**ASADA, MASANORI;
KANAYA, TADASHI;
OGAWA, TETSUYA;
SHIMADA, MIKIKO y
UEHARA, YUMI**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 443 293 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

Inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre. Más específicamente, la presente invención se refiere a un inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre eficaz en la profilaxis y la mejora de la hiperfosfatemia asociada con un deterioro en la función renal.

10

Antecedentes de la técnica

El riñón juega un papel muy importante en la regulación del metabolismo del fósforo. Un deterioro en la función renal produciría una hiperfosfatemia debido a la acumulación de fósforo en el cuerpo. Generalmente, el nivel de fósforo en sangre de un individuo sano es de aproximadamente 2,5 hasta 4,7 mg/dl. Cuando el nivel de fósforo en sangre supera los 5,5 mg/dl, se requiere un tratamiento (tal como la administración de fármacos) para disminuir el nivel de fósforo en sangre.

15

En el estado de exceso de fósforo, tal como la hiperfosfatemia, aumenta la producción y la secreción de la hormona paratiroidea (PTH), y se estimula el crecimiento de las células tiroideas accesorias, induciendo así un hiperparatiroidismo secundario. Se ha demostrado que la hiperfosfatemia está implicada en el desarrollo de insuficiencia renal, en la aparición de complicaciones cardiovasculares (por ejemplo, el fósforo se une al calcio de la sangre y se deposita en las paredes arteriales, causando así una arteriosclerosis), y similares. Se ha informado de que la hiperfosfatemia no sólo es la causa de trastornos cardiovasculares, sino también un factor de exacerbación en la reducción de la esperanza de vida de pacientes en diálisis y de pacientes con la función renal alterada.

20

25

Dado que se observa una correlación positiva entre una elevación en el nivel de la PTH y un aumento en la tasa de excreción fraccional de fosfato, se cree que este efecto es debido fundamentalmente al aumento en la secreción de la PTH. Sin embargo se ha presentado una posible implicación de cualquier otro componente distinto a la PTH. No se ha comprendido completamente para el metabolismo de fosfato. Por lo tanto, actualmente no se han desarrollado agentes eficaces que disminuyan el nivel de fósforo en sangre que aprovechen la función del metabolismo del fósforo. La eliminación del fósforo de la sangre se basa en la diálisis para los pacientes con insuficiencia renal que han perdido su función renal.

30

35

Los pacientes en diálisis y los pacientes con insuficiencia renal a menudo sufren unas estrictas restricciones dietéticas para reducir la ingesta de fósforo y similares. Sin embargo, incluso con las restricciones dietéticas, todavía ingieren aproximadamente 1.200 mg de fósforo al día. Dado que como mucho pueden eliminarse 1.000 mg de fósforo en una sesión de diálisis, aproximadamente 3.000 mg de fósforo pueden ser eliminados en 3 sesiones de diálisis semanales. Por lo tanto, la ingesta de fósforo es a menudo excesiva.

40

Por lo tanto, los pacientes en diálisis y los pacientes con insuficiencia renal a menudo toman un ligante de fosfato junto con las restricciones dietéticas con objeto de prevenir el aumento en el nivel de fósforo en sangre. Algunos ejemplos de ligantes de fosfato incluyen aquellos que pueden adsorber físicamente el fósforo en el tracto intestinal mediante su ingestión oral, incluyendo ligantes de fósforo que contienen calcio y ligantes de fósforo sin calcio.

45

Sin embargo, los ligantes de fósforo que contienen calcio conducirían a una ingesta excesiva de calcio a causa de la elevación del calcio en la sangre, aumentando así el riesgo de alteraciones cardiovasculares. Además, un ligante de fosfato que contenga calcio, cuando se administra junto con vitamina D activada, no puede ser administrado en una cantidad suficiente.

50

Algunos ejemplos de ligantes de fósforo sin calcio incluyen ligantes de fosfato de resina de intercambio iónico según se desvela en los Documentos Patentes 1 a 3. Sin embargo, se ha informado de que hay efectos secundarios tales como estreñimiento, distensión abdominal, náuseas y vómitos con los ligantes de fosfato de resina de intercambio iónico.

55

Adicionalmente, los pacientes en diálisis y los pacientes con insuficiencia renal pueden tener restringida la ingesta no sólo de fósforo sino también de potasio, de sal, de agua y similares. Sin embargo, una restricción suficiente en la ingesta de fósforo es difícil en relación con la ingesta de nutrientes. Por lo tanto existe una demanda de una preparación farmacéutica eficaz y segura.

60

Recientemente se han realizado intentos de desarrollar un agente reductor del nivel de fósforo en sangre a partir de materiales alimentarios. Algunos ejemplos de dichos agentes reductores del nivel de fósforo en sangre incluyen una preparación para la hiperfosfatemia que contiene como ingrediente eficaz un galactomanano hidrolizado formado por sacaridos neutros (Documento Patente 4), un agente reductor del nivel de fósforo en sangre que contiene oligosacáridos de chitosan como ingrediente eficaz (Documento Patente 5), y un inhibidor de la absorción de fósforo que contiene un extracto de alga roja como ingrediente eficaz (Documento Patente 6).

65

La preparación para la hiperfosfatemia que contiene como ingrediente eficaz un galactomanano hidrolizado según se desvela en el Documento Patente 4 se ingiere habitualmente con comida, pero parece que la preparación es ingerida con agua cuando se toma sin comida. Dado que los pacientes en diálisis están sometidos a restricciones en la ingesta de agua, es preferible la ingesta de la forma de dosificación que permite su ingestión sin agua para ingerir la preparación para la hiperfosfatemia.

El agente reductor del nivel de fósforo en sangre que contiene oligosacáridos de chitosan como un ingrediente eficaz, según se desvela en el Documento Patente 5, contiene un oligosacárido como el componente principal, y no provocaría un deterioro en la absorción de minerales en el intestino grueso. Sin embargo, es posible que dicho agente reductor del nivel de fósforo en sangre provoque diarrea, deshidratación y similares.

El ingrediente eficaz alga roja del inhibidor de la absorción de fósforo desvelado en el Documento Patente 6 puede unirse fuertemente a potasio, calcio, hierro, magnesio, sodio y similares para absorber dichos minerales, que son necesarios para los pacientes en diálisis, provocando así una deficiencia en minerales. Dado que el nivel de minerales variará con la diálisis, se requiere que el inhibidor de la absorción de fósforo que puede absorber minerales se administre cuidadosamente en pacientes en diálisis.

Se sabe que una preparación entérica que contiene una bacteria ácida láctica se administra para reducir las grasas neutras, las sustancias urémicas y similares en la sangre para pacientes en diálisis (Documento Patente 7). El Documento Patente 7 desvela que dicha preparación mejora la arteriosclerosis, y mejora la uremia asociada con la insuficiencia renal crónica reduciendo el sulfato de indoxilo, el fenol y sustancias similares. Sin embargo, el Documento Patente 7 no hace ninguna referencia al nivel de fósforo en sangre.

El Documento Patente 8 desvela que un tipo específico de bacteria ácida láctica acumula fósforo en la célula microbiana en forma de ácido polifosfórico. Sin embargo, no se aclara ninguna correlación en el Documento Patente 8 entre la acumulación de ácido polifosfórico en la célula microbiana y el nivel de fósforo en sangre.

[Documento Patente 1] Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2001-48791

[Documento Patente 2] Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 9-295941

[Documento Patente 3] Documento WO 01/068106

[Documento Patente 4] Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2007-22992

[Documento Patente 5] Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2000-344802

[Documento Patente 6] Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2001-2581

[Documento Patente 7] Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2004-277296

[Documento Patente 8] Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2006-176450

El documento JP 2000-154143 se refiere a un agente de mejora de la hiperlipidemia que comprende una fibra dietética y un oligosacárido.

Desvelación de la invención

Problemas que debe resolver la invención

Es un objetivo de la presente invención proporcionar una bacteria ácida láctica seleccionada de entre el grupo que consiste en *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium animalis* para su uso en el tratamiento de la hiperfosfatemia. La bacteria ácida láctica de la invención es muy segura y fácilmente administrable, y puede inhibir una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Medios para resolver los problemas

La presente invención proporciona una bacteria ácida láctica seleccionada de entre el grupo que consiste en *B. longum* y *B. animalis* para su uso en el tratamiento de la hiperfosfatemia.

En una forma de realización, la bacteria ácida láctica es una forma de dosificación oral.

En una forma de realización, la forma de dosificación oral es una cápsula seleccionada de entre el grupo que consiste en cápsulas blandas, cápsulas duras y cápsulas sin costuras.

En una forma de realización, la cápsula es resistente a los ácidos.

En una forma de realización adicional, la cápsula es entérica.

En una forma de realización adicional, la cápsula comprende adicionalmente un oligosacárido.

Efectos de la invención

La bacteria ácida láctica de la presente invención es muy segura, es fácil de administrar y puede inhibir un aumento en el nivel de fósforo en sangre para personas tales como pacientes en diálisis y pacientes con insuficiencia renal. Además, la bacteria ácida láctica de la presente invención puede mejorar el estreñimiento.

Breve descripción de los dibujos

[Fig. 1] La Fig. 1 es una ilustración transversal esquemática que muestra la configuración de una preparación de una cápsula sin costuras de tres capas.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

La "inhibición de la elevación en el nivel de fósforo en sangre" se refiere a la reducción del nivel de fósforo en sangre, o a la inhibición de la elevación o del índice de elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Se sabe que las bacterias ácidas lácticas mejoran el medio intestinal y reducen los productos de descomposición tales como amonio, indol y fenol, en los intestinos.

Algunos ejemplos de bacterias ácidas lácticas incluyen microorganismos pertenecientes a los géneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Tetragenococcus*, *Oenococcus* y *Weissella*.

Algunos ejemplos de microorganismos pertenecientes al género *Bifidobacterium* incluyen *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis*, *B. pseudolongum*, *B. dentium*, *B. angulatum*, *B. asteroides*, *B. boum*, *B. catenulatum*, *B. choerinum*, *B. coryneforme*, *B. cuniculi*, *B. gallicum*, *B. gallinarum*, *B. globasum*, *B. indicum*, *B. magnum*, *B. merycicum*, *B. minimum*, *R. parvulorum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. pullorum*, *B. ruminale*, *B. ruminantium*, *B. saeculare*, *R. subtile*, *B. suis* y *B. thermophilum*.

Algunos ejemplos de microorganismos pertenecientes al género *Lactobacillus* incluyen *Lactobacillus acidophilus*, *L. amy-lovorus*, *L. animalis*, *L. brevis*, *L. brevis* subsp. *granesensis*, *L. buchneri*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *plantarum*, *L. casei* subsp. *tolerans*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus*, *L. delbrueckii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. divergens*, *L. fermentum*, *L. fructosus*, *L. gasseri*, *L. hilgardii*, *L. kefir*, *L. leichmannii*, *L. paracasei*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. pentosus*, *L. plantartum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. sakei*, *L. sakei* subsp. *sakei*, *L. sanfrancisco*, *L. vaccinostercus* y *Lactobacillus* sp.

Algunos ejemplos de microorganismos pertenecientes al género *Lactococcus* incluyen *Lactococcus lactis*, *L. lactis* subsp. *hordniae*, *L. lactis* subsp. *lactis* y *L. raffinolactis*.

Algunos ejemplos de microorganismos pertenecientes al género *Enterococcus* incluyen *Enterococcus avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. pseudoavium*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus*, *E. seriolicida*, *E. solitarius* y *E. villorum*.

La bacteria ácida láctica de la presente invención pertenece al género *Bifidobacterium* y se elige de entre el grupo que consiste en *B. longum* y *B. animalis*.

La bacteria ácida láctica de la presente invención puede administrarse en un recuento celular viable de preferiblemente 5×10^7 a 5×10^{10} y más preferiblemente de 1×10^9 a 1×10^{10} por día.

Por ejemplo, cuando la bacteria ácida láctica de la presente invención está en forma de una cápsula blanda, de una cápsula dura o de una cápsula sin costuras, como se describe a continuación, una bacteria ácida láctica está contenida en un recuento celular viable de preferiblemente 2×10^9 a 5×10^9 por gramo de una cápsula.

La cápsula de la presente invención puede contener adicionalmente un oligosacárido. El oligosacárido puede ayudar al crecimiento y a la proliferación de la bacteria ácida láctica contenida en el inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre de la presente invención.

No hay ninguna limitación en particular sobre los oligosacáridos para su uso en la cápsula de la presente invención, y algunos ejemplos incluyen lactulosa, rafinosa, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, xilooligosacáridos, isomaltooligosacáridos y manooligosacáridos.

Cuando la cápsula de la presente invención contiene un oligosacárido, el oligosacárido está contenido en una cantidad preferiblemente de 50 a 1.000 mg, y más preferiblemente de 100 a 500 mg por 2 billones de células de la bacteria ácida láctica contenida en el inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre de la presente invención.

Adicionalmente, la cápsula de la presente invención puede contener, además de la bacteria ácida láctica y del oligosacárido, otros componentes tales como un excipiente, un aroma químico y un disolvente. Dichos componentes incluyen vitaminas (tales como la vitamina A, la vitamina B1, la vitamina B2, la vitamina B6, la vitamina B12, la vitamina C, la vitamina D, la vitamina E, ácido pantoténico, ácido fólico, ácido nicotínico, inositol y β -caroteno), aminoácidos (tales como glicina, histidina, isoleucina y ácido glutámico), ácidos nucleicos (tales como adenina, guanina, timina, citosina, uracilo, y como nucleobases; adenosina, guanosina, citidina, timidina, uridina, y como ribonucleósidos, y compuestos de monofosfato, compuestos de difosfato y compuestos de trifosfato de los mismos, desoxiadenosina, desoxiguanosina, desoxicitidina, desoxitimidina, desoxiuridina, y como desoxirribonucleósidos, y compuestos de monofosfato, compuestos de difosfato y compuestos de trifosfato de los mismos, minerales (tales como calcio, magnesio, hierro, cinc y cobre), ácidos alifáticos (tales como ácido α -linoleico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) y aceite de onagra), octacosanol, digeridos de caseína, fibra dietética soluble en agua, fibra dietética insoluble, sacáridos (tales como almidón, celulosa, almidón de maíz, chitin, chitosan, sacarosa, lactosa, maltosa y glucosa), otros materiales útiles que estén aprobados como productos alimentarios, aditivos alimentarios y similares. Dichos otros componentes pueden usarse individualmente o como una combinación de dos o más.

De entre dichos ejemplos, es preferible usar vitamina C, vitamina E o β -caroteno. Por ejemplo, la vitamina C está contenida en una cantidad preferiblemente de 10 a 500 mg y más preferiblemente de 50 a 200 mg por 2 billones de células de la bacteria ácida láctica contenida en el inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre de la presente invención. La vitamina E está contenida en una cantidad preferiblemente de 0,5 a 30 mg y más preferiblemente de 1,5 a 10 mg por 2 billones de células de la bacteria ácida láctica contenida en el inhibidor de la elevación nivel de fósforo en sangre de la presente invención. El β -caroteno está contenido en una cantidad preferiblemente de 0,5 a 20 mg y más preferiblemente de 1 a 5 mg por 2 billones de células de la bacteria ácida láctica contenida en la cápsula de la presente invención.

Es preferible que la bacteria ácida láctica de la presente invención se administre por vía oral. En este caso, el inhibidor debe estar diseñado de forma que la bacteria ácida láctica pueda atravesar el estómago, alcanzar el intestino y crecer en el mismo. Dado que el pH del estómago es de 1 a 3, la mayoría de las bacterias ácidas lácticas ingeridas por vía oral serían destruidas por el muy bajo pH. Generalmente se dice que no más de 1/10.000 de la cantidad suministrada de bacterias ácidas lácticas pueden alcanzar los intestinos conservando su capacidad de proliferación. Por lo tanto, debería evitarse lo más posible la influencia del ácido gástrico para que la bacteria ácida láctica del inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre de la presente invención pueda alcanzar de forma viable los intestinos humanos y proliferar en los mismos.

Por lo tanto, es preferible que la bacteria ácida láctica de la presente invención esté en forma de una preparación de cápsulas resistente a los ácidos, en la que la cápsula se elige de entre el grupo que consiste en cápsulas blandas, cápsulas duras y cápsulas sin costuras. La configuración, la forma y similares de la preparación de la cápsula no está particularmente limitada siempre que la cubierta de la cápsula sea resistente al ácido gástrico. Algunos ejemplos de preparaciones de cápsulas incluyen cápsulas blandas, cápsulas duras y cápsulas sin costuras. Esto es, una configuración deseable es tal que el ácido gástrico no penetre en la cápsula ni entre en contacto con la bacteria ácida láctica. La cubierta de la cápsula puede ser una cubierta que no se disuelva a pH 4 o menos, y preferiblemente a un pH de 1 a 3. Tampoco hay ninguna limitación en particular sobre el procedimiento de encapsulación.

Es adicionalmente preferible que la bacteria ácida láctica de la presente invención esté en forma de una preparación de cápsula entérica y en la que la cápsula es resistente a los ácidos y se elige de entre el grupo que consiste en cápsulas blandas, cápsulas duras y cápsulas sin costuras. Esto es, una forma preferible es tal que la cápsula aísla el contenido de la cápsula de bacteria ácida láctica del ambiente exterior mediante la cubierta de la cápsula en el ácido gástrico o en un fluido ácido con un pH de 1 a 3, y la cápsula se abre o se rompe de forma que el contenido de la cápsula de bacteria ácida láctica puede entrar en contacto con el fluido exterior de la cápsula en el fluido intestinal, o un fluido entre ácido débil (neutro) y básico débil con un pH de 5 o mayor. La cubierta la cápsula puede no disolverse necesariamente siempre que la bacteria ácida láctica de la cápsula entre en contacto con el fluido exterior de la cápsula. Tampoco hay ninguna limitación en particular sobre el procedimiento de encapsulación.

Preparación de cápsulas sin costuras

La forma de una cápsula para impartirle resistencia a los ácidos gástricos es preferiblemente una cápsula sin costuras. La "cápsula sin costuras" es un tipo de cápsula blanda y se refiere a una cápsula de una forma en la que el contenido está encapsulado por una cubierta sin costuras. Es posible que la cápsula sin costuras tenga una estructura multilaminar que consista en dos o más capas, y es preferible que la cápsula sin costuras tenga una estructura multilaminar que consista en tres o más capas.

A continuación se describe la producción de una preparación de cápsulas sin costuras de tres capas. La Fig. 1 es una ilustración transversal esquemática de una preparación de cápsula sin costuras de tres capas. Esta estructura de tres capas está formada por una capa interna, una capa intermedia y una capa externa que rodean a la capa intermedia. La clave interna está formada por una bacteria ácida láctica y un disolvente no acuoso o un componente

sólido para formar una suspensión o una mezcla con la bacteria ácida láctica (en lo sucesivo, este componente se denomina material de la capa interna).

5 No hay ninguna limitación en particular sobre el material de la capa interna. Algunos ejemplos incluyen diversos aceites y grasas, ácidos alifáticos, ésteres de sacáridos de ácidos grasos, hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos aromáticos, éteres lineales, ésteres de ácidos grasos superiores, alcoholes superiores y terpenos. Más específicamente, algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, aceite de soja, aceite de sésamo, aceite de palma, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de coco, aceite de colza, manteca de cacao, sebo de vaca, manteca de cerdo, aceite de caballo, aceite de ballena, aceites hidrogenados y grasas de los mismos que tienen un punto de fusión de 40 °C o menos, margarina, manteca vegetal, ésteres de ácidos grasos de glicerina, ésteres de ácidos grasos de sacarosa, aceite de menta, α -pineno y D-limoneno. Dichos materiales de la capa interna pueden usarse individualmente o como una combinación de dos o más.

15 Los materiales para su uso en la capa intermedia son aquellos que se mencionan en relación con los materiales de la capa interna y que tienen un punto de fusión de 20 a 50 °C pero que son diferentes de los usados en la capa interna. Más preferiblemente, se usan materiales que son sólidos a las temperaturas habituales. La capa intermedia puede servir para inhibir la penetración de fluidos y de oxígeno, evitando cualquier contacto con el ácido gástrico. La selección del material puede realizarse según, por ejemplo, la duración del almacenamiento de la cápsula.

20 Algunos ejemplos de los materiales de la capa externa (la capa más externa cuando hay 3 o más capas) incluyen mezclas de proteínas y alcoholes polihídricos solubles en agua, mezclas de proteínas, alcoholes polihídricos solubles en agua y polisacáridos, y mezclas de polisacáridos y alcoholes polihídricos solubles en agua. Algunos ejemplos de proteínas incluyen gelatina y colágeno. Algunos ejemplos de alcoholes polihídricos solubles en agua incluyen sorbitol, manitol, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol. Algunos ejemplos de polisacáridos incluyen agar, goma gellan, goma xántica, goma de algarrobo, pectina, alginatos, carragenano, goma arábica, dextrina, dextrina modificada, almidón, almidón modificado, pululano, pectina y sales de carboximetil celulosa. Cuando se usa pectina, alginatos, goma gellan o carragenano, puede añadirse apropiadamente una sal de un metal alcalino, una sal de un metal alcalinotérreo o similares.

30 La producción de la preparación de cápsulas sin costuras de tres capas descrita anteriormente se realiza según una técnica bien conocida por los expertos en la materia, por ejemplo, un procedimiento por goteo que usa boquillas triples, según se describe en la memoria descriptiva de la Patente Japonesa N° 1398836. La cápsula así formada se seca después. Un ejemplo de secado es el secado al aire a temperatura ambiente. Por ejemplo, habitualmente se practica el secado al aire a una temperatura de 5 a 30 °C. El tiempo de secado es preferiblemente de 2 a 12 horas. También puede realizarse un secado a vacío o una liofilización.

35 Para impartir resistencia a los ácidos a la cubierta de la cápsula de la preparación de cápsulas sin costuras, se forma una capa externa resistente a los ácidos, o la cubierta (la capa más externa) de la cápsula sin costuras formada se tratará para que sea resistente a los ácidos.

40 Un ejemplo de un procedimiento de formación de una capa externa resistente a los ácidos es un procedimiento en el que se añaden pectina, alginatos, goma arábica o similares en una proporción de 0,01 a 20 partes en peso, y preferiblemente de 0,1 a 10 partes en peso por 100 partes en peso de gelatina, agar, carragenano o similares que tenga capacidad gelificante.

45 Algunos ejemplos de un procedimiento para impartir resistencia a los ácidos a la cubierta (la capa más externa) de la cápsula sin costuras formada incluyen un tratamiento de reticulación realizado sobre la capa externa (la capa más externa) de la cápsula sin costuras y el tratamiento de recubrimiento realizado sobre la superficie de la cápsula sin costuras. Es preferible realizar dichos tratamientos individualizados o como una combinación.

50 Cuando una capa externa que contiene proteínas se somete a un tratamiento de reticulación, en primer lugar se prepara la cápsula sin costuras y se lava minuciosamente con agua. La cápsula sin costuras lavada con agua se introduce en una disolución acuosa que contiene un agente de reticulación para reticular la superficie de la capa externa. Para el agente de reticulación se pueden usar agentes de reticulación convencionales, y algunos ejemplos incluyen formaldehído, acetaldehído, propionaldehído, glioxal, glutaraldehído, cinamaldehído, vanilaldehído, acetona, etil metil cetona, óxido de etileno, óxido de propileno, alumbre de potasio y alumbre de amonio. Generalmente, el tratamiento de la capa externa se realiza introduciendo 1 parte en peso de la cápsula sin costuras en una disolución acuosa de 50 a 100 partes en peso que contiene entre un 0,1 y un 2 % p/v, y preferiblemente entre un 0,5 y un 2 % p/v de un agente de recirculación, y agitando durante entre 10 y 300 segundos. La cantidad de agente de reticulación y la duración de la acción varían dependiendo del agente de reticulación. La superficie de la capa externa después del tratamiento de reticulación se lava minuciosamente con agua para eliminar la disolución acuosa que contiene el agente de reticulación y después se seca el agua contenida en la capa externa.

65 Para el tratamiento de reticulación mencionado anteriormente de una capa externa que contiene proteínas, la reticulación puede conseguirse mediante un tratamiento enzimático usando una transglutaminasa. En este caso, la capa externa se trata mediante la introducción de 1 parte en peso de la cápsula sin costuras producida en entre 50 y

100 partes en peso de una disolución acuosa que contiene entre un 0,1 y un 10 % p/v, y preferiblemente entre un 0,5 y un 2 % p/v de una enzima, y agitando durante entre 1 y 300 minutos, y el lavado y el secado se realizan de la misma forma a la descrita anteriormente.

5 Si se realiza al tratamiento de recubrimiento, la cápsula sin costuras producida se seca y después se recubre según un procedimiento usado habitualmente mediante el uso de shellac, etil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, hidroxipropil celulosa, polivinilpirrolidona, celulosa TC-5, un copolímero de vinilpirrolidona-acetato de vinilo, ceína, cera de etileno, o similares como una base, y aceite de ricino, aceite de colza, ftalato de dibutilo, polietilenglicol, glicerol, ácido esteárico, un éster de un ácido graso, palmitato de sorbitano, estearato de polioxietileno, monoglicérido acetilado, o similares como un plastificante.

15 Adicionalmente, la impartición de propiedades entéricas a la cápsula protege a la bacteria ácida láctica presente en la cápsula de los fluidos ácidos (por ejemplo, del ácido gástrico) y similares del estómago. La impartición de propiedades entéricas se realiza según un procedimiento empleado habitualmente por una persona experta para producir cápsulas entéricas. Además, puede proporcionarse una cubierta entérica mediante el uso de una mezcla que contiene gelatina y pectina como un material de la capa externa de la cápsula sin costuras.

20 La forma de la preparación de cápsulas sin costuras puede ser esférica. El diámetro medio de la cápsula sin costuras es de 0,3 a 10 mm, y preferiblemente de 1,5 a 8 mm.

La preparación de cápsulas sin costuras obtenida de esta forma puede almacenarse a temperatura ambiente durante seis meses o más conservando la actividad de la bacteria ácida láctica, y puede almacenarse durante un largo periodo de tiempo de un año o más cuando se almacena a 10 °C o menos.

25 Preparación de cápsula blanda

Una preparación de cápsulas blandas, al igual que la preparación de cápsulas sin costuras, contiene una suspensión de una bacteria ácida láctica en un disolvente no acuoso como su contenido, encerrado por una lámina de cubierta. El material de la lámina de cubierta es el mismo material que el de la capa externa de la cápsula sin costuras.

30 La preparación de cápsula blanda puede prepararse según una técnica conocida, por ejemplo, el procedimiento descrito en la memoria descriptiva de la Patente Japonesa Nº 2999535. Por ejemplo, mediante el uso de un troquel rotatorio, se hace pasar una lámina de cubierta a través del troquel mientras se inyecta y se carga el contenido, y se encapsula por calentamiento. El aceite, que sirve como agente de liberación, se elimina de la cápsula blanda resultante mediante el lavado con un disolvente polar (tal como metanol, etanol, propanol o isopropanol) para liberar la bacteria ácida láctica en los intestinos. A continuación, como es el caso de la cápsula sin costuras, se realiza un tratamiento de reticulación y un tratamiento de recubrimiento en combinación, o se realiza alguno de los dos tratamientos, con objeto de conseguir resistencia a los ácidos.

40 La preparación de cápsula blanda puede ser esférica, esferoidal o un paralelepípedo rectangular. Es preferible una cápsula blanda con un eje mayor de entre 3 y 16 mm y un eje menor de entre 2 y 10 mm, y es más preferible una cápsula blanda con un eje mayor de entre 5 y 7 mm y un eje menor de entre 2 y 4 mm.

45 La preparación de cápsula blanda obtenida de esta forma puede almacenarse a temperatura ambiente durante seis meses o más conservando la actividad de la bacteria ácida láctica, y puede almacenarse durante un largo periodo de tiempo de un año o más cuando se almacena a 10 °C o menos.

Preparación de cápsula dura

50 Una preparación de cápsulas duras puede producirse mediante el moldeo previo de una cubierta de cápsula en un cuerpo y un capuchón, cargando el contenido en el cuerpo de la cápsula y ajustando después el capuchón en el mismo. Algunos ejemplos de materiales de la cápsula dura incluyen gelatina, celulosa, pululano, hidroxipropilmetil celulosa, carragenano y derivados de celulosa. La cápsula dura puede moldearse según un procedimiento empleado habitualmente por una persona experta. La cápsula moldeada también está disponible comercialmente. El contenido puede ser una mezcla minuciosa de una bacteria ácida láctica y un excipiente (tal como anhídrido silícico, silicato de aluminio sintético, lactosa, almidón de maíz, celulosa cristalina), o un polvo de células secas de una bacteria ácida láctica. Puede proporcionarse un recubrimiento después de haber cargado el contenido en la cápsula. Los materiales y los procedimientos descritos en relación con la capa externa de la cápsula sin costuras son aplicables a este recubrimiento, impartiendo así una resistencia los ácidos y preferiblemente colapsabilidad en los intestinos (propiedades entéricas). Este recubrimiento también sirve como precinto de la cubierta de la cápsula para envolver el contenido.

60 La preparación de cápsula dura obtenida de esta forma puede almacenarse a temperatura ambiente durante seis meses o más conservando la actividad de la bacteria ácida láctica, y puede almacenarse durante un largo periodo de tiempo de un año o más cuando se almacena a 10 °C o menos.

La presente invención será descrita con detalle a continuación mediante los ejemplos y los ejemplos comparativos, pero la presente invención no está limitada a los ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1

Se prepara la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria según se describe a continuación, mediante el uso de un aparato de producción de cápsulas equipado con triples boquillas concéntricas.

Se dispersó el polvo de células de la bifidobacteria (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217) en una cantidad de 100 g en aceite hidrogenado preparado mediante la fusión de 400 g de aceite de palma fraccionado hidrogenado con un punto de fusión de 34 °C. Esta dispersión se descargó desde la boquilla interna de las triples boquillas concéntricas, el aceite hidrogenado preparado mediante la fusión del aceite de palma fraccionado hidrogenado con un punto de fusión de 43 °C se descargó desde la boquilla intermedia dispuesta alrededor de la boquilla interna, y una disolución de gelatina (una disolución preparada mediante la disolución de 600 g de gelatina, 300 g de glicerol y 100 g de pectina en 4 kg de agua purificada) se descargó desde la boquilla más externa simultáneamente en aceite de colza fluyendo como un portador fluido bajo enfriamiento (15 °C), con objeto de preparar una cápsula sin costuras de tres capas que contiene la bifidobacteria, con un diámetro de 2,0 mm (2 billones de células de la bifidobacteria por 0,2 g de cápsula sin costuras).

34 pacientes en diálisis (en lo sucesivo denominados a veces simplemente pacientes) ingirieron 0,2 g de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria así preparada diariamente durante 4 semanas. Los pacientes no tomaron ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre. Mientras seguían las instrucciones dietéticas de un dietista, no todos los pacientes tenían la misma alimentación.

Se recogió sangre antes de la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria y 1 semana, 3 semanas y 4 semanas después de la ingestión se midieron los niveles de fósforo en sangre según el método del azul de molibdeno mediante el uso de una prueba Phospha C-Test Wako para mediciones de fosfato inorgánico (elaborada por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.).

Las Tablas 1 y 2 muestran los resultados de la medición del nivel de fósforo en sangre de cada paciente. Además, la Tabla 3 muestra los resultados de la medición de los niveles de fósforo en sangre de 11 pacientes que no tomaron ni la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control).

Tabla 1

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			
	Antes de la ingestión	1 semana después del inicio de la ingestión	3 semanas después del inicio de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	6,35	5,8	5,9	4,7
Paciente 2	6,08	4,9	5,5	4,5
Paciente 3	5,53	5,1	5,0	4,1
Paciente 4	6,08	4,7	3,9	4,9
Paciente 5	5,93	5,0	4,8	4,8
Paciente 6	8,25	6,1	7,0	6,7
Paciente 7	6,53	6,2	6,3	5,8
Paciente 8	5,48	4,2	3,6	4,9
Paciente 9	6,15	5,7	5,2	5,7
Paciente 10	7,23	7,5	7,2	6,7
Paciente 11	6,58	6,1	5,9	6,1
Paciente 12	6,80	6,6	7,9	6,4
Paciente 13	5,80	6,2	6,1	5,6
Paciente 14	7,33	5,9	6,3	7,1
Paciente 15	6,48	4,4	5,6	6,3
Paciente 16	7,18	6,3	7,4	7,1
Paciente 17	8,13	4,8	-	8,1

Tabla 2

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			
	Antes de la ingestión	1 semana después del inicio de la ingestión	3 semanas después del inicio de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 18	5,80	5,5	6,1	5,8
Paciente 19	6,88	5,9	7,5	6,9
Paciente 20	6,53	5,4	5,9	6,6
Paciente 21	8,43	8,0	9,5	8,6
Paciente 22	5,68	5,8	5,5	5,8
Paciente 23	6,45	8,0	6,6	6,7
Paciente 24	5,93	5,3	5,7	6,2
Paciente 25	6,63	5,5	6,1	7,0
Paciente 26	6,15	6,2	7,6	6,5
Paciente 27	6,15	5,4	6,5	6,7
Paciente 28	6,47	7,2	6,4	7,1
Paciente 29	7,83	8,1	8,5	8,7
Paciente 30	6,40	6,9	7,1	7,3
Paciente 31	7,45	8,0	9,4	8,5
Paciente 32	5,37	6,2	6,2	6,6
Paciente 33	6,83	7,7	7,0	8,5
Paciente 34	8,23	9,6	8,8	10,9

Tabla 3

5

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			
	Antes de la ingestión	1 semana después del inicio de la ingestión	3 semanas después del inicio de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 35	8,25	8,4	9,0	9,5
Paciente 36	6,12	5,9	5,9	7,4
Paciente 37	6,96	6,7	7,4	7,5
Paciente 38	7,33	7,9	7,9	8,0
Paciente 39	7,35	7,1	7,0	8,5
Paciente 40	5,97	6,2	6,1	6,3
Paciente 41	6,20	6,7	6,6	6,9
Paciente 42	7,69	8,2	8,4	10,7
Paciente 43	6,85	6,6	6,9	8,3
Paciente 44	7,94	7,7	7,6	9,8
Paciente 45	7,92	8,0	8,7	9,2
Media	7,1	7,2	7,4	8,4
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre durante 4 semanas: 1,3 mg/dl				

Como se observa partir de los valores indicativos de los niveles de fósforo en sangre antes de la ingestión y después de 4 semanas del inicio de la ingestión de las cápsulas sin costuras que contienen la bifidobacteria presentadas en las Tablas 1 y 2, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los 34 pacientes era de -0,04 mg/dl (es decir, el nivel medio de fósforo en sangre se redujo en 0,04 mg/dl).

Según se muestra en la Tabla 1, puede entenderse que para los 17 pacientes, los niveles de fósforo en sangre 4 semanas después de la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria disminuyeron en comparación con sus niveles de fósforo en sangre antes de la ingestión de las cápsulas sin costuras que contienen la bifidobacteria.

Por otro lado, según se muestra en la Tabla 2, para el resto de los 17 pacientes, los niveles de fósforo en sangre no disminuyeron por la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria. Sin embargo, dado que el nivel medio de fósforo en sangre se redujo en un 0,04 mg/dl para los 34 pacientes, puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Para el grupo de control, los niveles de fósforo en sangre tras el tratamiento eran significativamente mayores que los niveles antes del tratamiento (prueba de la *t* para datos emparejados: $p < 0,01$), aunque no se observó un aumento significativo para el grupo tratado. Por lo tanto, puede entenderse que la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria obtenida en el Ejemplo 1 inhibió significativamente una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Ejemplo 2

Se suspendió el polvo de células de la bifidobacteria (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217) en una cantidad de 50 g en 300 g de aceite de colza para preparar el contenido fluido de una cápsula blanda. A continuación se añadieron 400 g de gelatina y 100 g de glicerol a 200 g de agua destilada y se disolvieron mediante agitación a 60 °C, y la disolución se moldeó en una lámina para obtener películas de gelatina. A continuación las películas de gelatina fueron suministradas entre un par de moldes metálicos de cilindros rotatorios mientras el contenido fluido era inyectado en las películas de gelatina con una bomba que opera en concierto con los moldes con objeto de preparar la cápsula blanda (2 billones de células de la bifidobacteria por cápsula blanda).

30 pacientes en diálisis ingirieron 1 cápsula blanda que contiene la bifidobacteria así preparada diariamente durante 4 semanas. La condición de la ingestión era la misma que la de los Ejemplos 1. Los pacientes no tomaron ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre. Mientras seguían las instrucciones dietéticas de un dietista, no todos los pacientes tenían la misma alimentación.

Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión de la cápsula blanda que contiene la bifidobacteria y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 4 muestra los resultados.

Para 15 pacientes que no tomaron ni la cápsula blanda que contiene la bifidobacteria ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 7,10 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 8,30 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,21 mg/dl).

Tabla 4

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)	
	Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión		Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	5,7	5,1	Paciente 16	7,3	8,7
Paciente 2	8,1	7,5	Paciente 17	6,0	7,3
Paciente 3	8,3	7,9	Paciente 18	8,2	9,6
Paciente 4	6,3	5,9	Paciente 19	6,1	7,6
Paciente 5	7,1	7,0	Paciente 20	5,7	7,2
Paciente 6	8,0	7,9	Paciente 21	7,0	8,6
Paciente 7	7,2	7,2	Paciente 22	8,3	10,0
Paciente 8	7,0	7,0	Paciente 23	7,6	9,3
Paciente 9	6,0	6,5	Paciente 24	7,5	9,3

Paciente 10	6,7	7,4	Paciente 25	5,5	7,3
Paciente 11	6,0	6,7	Paciente 26	6,0	7,9
Paciente 12	6,0	6,8	Paciente 27	6,7	8,6
Paciente 13	7,6	8,4	Paciente 28	7,2	9,2
Paciente 14	7,2	8,2	Paciente 29	8,0	10,0
Paciente 15	8,4	9,6	Paciente 30	5,9	8,0
Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido: 20 % (6 pacientes)					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los pacientes 1 a 30: 0,97 mg/dl					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 1,21 mg/dl					

Según se muestra en la Tabla 4, puede entenderse que 6 (los pacientes 1 a 6) de los 30 pacientes habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula blanda que contiene la bifidobacteria. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula blanda que contiene la bifidobacteria en el resto de los 24 pacientes. El aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 0,97 mg/dl para los 30 pacientes en comparación con el incremento en el grupo de control de 1,21 mg/dl, y puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Ejemplo 3

Se aplicó un recubrimiento en la cápsula blanda obtenida en el Ejemplo 2 según el procedimiento descrito en la Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2003-230363.

En primer lugar se preparó un fluido de inmersión que contenía 20 partes en peso de shellac, 2 partes en peso de citrato de trietilo y 78 partes en peso de etanol. A continuación, la cápsula blanda obtenida en el Ejemplo 2 se sumergió en el fluido de inmersión así preparado, y se sometió a un secado al aire aproximadamente a entre 15 y 20 °C, de forma que el recuento de células viables de la bifidobacteria no se redujera. El tratamiento de inmersión y de secado se repitió 3 veces, con objeto de preparar una cápsula blanda recubierta con shellac que contiene la bifidobacteria (cápsula blanda entérica que contiene la bifidobacteria).

30 pacientes en diálisis ingirieron 1 cápsula de la cápsula blanda entérica que contiene la bifidobacteria así preparada diariamente en las mismas condiciones de ingestión que en el Ejemplo 1. Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión de la cápsula blanda entérica que contiene la bifidobacteria, y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 5 muestra los resultados.

Para los 15 pacientes que no tomaron ni la cápsula blanda entérica que contiene la bifidobacteria ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 6,86 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 8,02 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,15 mg/dl).

Tabla 5

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)	
	Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión		Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	6,0	4,7	Paciente 16	7,4	7,7
Paciente 2	7,5	6,1	Paciente 17	5,9	6,3
Paciente 3	5,7	4,4	Paciente 18	7,8	8,3
Paciente 4	7,7	6,6	Paciente 19	7,9	8,7
Paciente 5	6,6	5,6	Paciente 20	8,1	9,1
Paciente 6	8,0	7,0	Paciente 21	5,5	6,5
Paciente 7	5,5	4,6	Paciente 22	7,7	8,7

Paciente 8	8,2	7,4	Paciente 23	7,1	8,2
Paciente 9	8,1	7,2	Paciente 24	7,7	8,8
Paciente 10	5,4	4,7	Paciente 25	5,8	7,1
Paciente 11	6,4	5,7	Paciente 26	7,6	8,9
Paciente 12	6,4	5,7	Paciente 27	8,3	9,7
Paciente 13	7,9	7,7	Paciente 28	8,0	9,4
Paciente 14	8,3	8,2	Paciente 29	6,8	8,3
Paciente 15	7,8	8,0	Paciente 30	5,7	7,2
Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido: 47 % (14 pacientes)					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los pacientes 1 a 30: 0,13 mg/dl					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 1,15 mg/dl					

Según se muestra en la Tabla 5, puede entenderse que 14 (los pacientes 1 a 14) de los 30 pacientes habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula blanda entérica que contiene la bifidobacteria. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula blanda que contiene la bifidobacteria para el resto de los 16 pacientes. El aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 0,13 mg/dl para los 30 pacientes en comparación con el incremento en el grupo de control de 1,15 mg/dl, y puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Para el grupo de control, los niveles de fósforo en sangre después del tratamiento eran significativamente mayores que los niveles antes del tratamiento (prueba de la *t* para datos emparejados: $p < 0,01$), aunque no se observó un aumento significativo para el grupo tratado. Por lo tanto, puede entenderse que la cápsula blanda entérica que contiene la bifidobacteria obtenida en el Ejemplo 3 inhibió significativamente una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Ejemplo 4

Se cargó polvo de células de la bifidobacteria (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217) en una cápsula dura comercial con un tamaño de 5 según la Farmacopea Japonesa con 2 billones de células de la bifidobacteria por 1 cápsula dura, para preparar la cápsula dura que contiene la bifidobacteria.

A continuación se colocaron 100 g de la cápsula dura así preparada en un granulador por volteo y se pulverizó una disolución preparada mediante la disolución de 10 g de shellac y 1 g de aceite de ricino en 400 g de una mezcla de metanol y acetato de etilo (proporción en volumen de 1:1) por toda la superficie de la cápsula dura hasta un espesor de recubrimiento de 0,3 mm, con objeto de preparar 100 g de la cápsula dura con un recubrimiento resistente a los ácidos (cápsula dura entérica que contiene la bifidobacteria).

30 pacientes en diálisis ingirieron 1 cápsula de la cápsula dura entérica que contiene la bifidobacteria así preparada diariamente en las mismas condiciones de ingestión que en el Ejemplo 1. Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión de la cápsula dura entérica que contiene la bifidobacteria, y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 6 muestra los resultados.

Para los 15 pacientes que no tomaron ni la cápsula dura entérica que contiene la bifidobacteria ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 7,02 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 8,01 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 0,99 mg/dl).

Tabla 6

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)	
	Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión		Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	6,3	4,9	Paciente 16	6,7	6,6
Paciente 2	7,0	5,8	Paciente 17	8,2	8,3
Paciente 3	6,1	4,9	Paciente 18	6,8	7,0

Paciente 4	5,6	4,4	Paciente 19	6,9	7,3
Paciente 5	7,4	6,2	Paciente 20	5,8	6,3
Paciente 6	7,6	6,6	Paciente 21	7,1	7,7
Paciente 7	7,5	6,7	Paciente 22	7,4	7,9
Paciente 8	8,0	7,4	Paciente 23	7,8	8,5
Paciente 9	6,6	6,0	Paciente 24	8,3	9,0
Paciente 10	6,2	5,7	Paciente 25	7,5	8,3
Paciente 11	7,0	6,5	Paciente 26	8,2	9,1
Paciente 12	6,5	6,1	Paciente 27	6,9	8,1
Paciente 13	6,6	6,3	Paciente 28	6,2	7,4
Paciente 14	5,8	5,6	Paciente 29	7,0	8,4
Paciente 15	6,0	5,9	Paciente 30	7,4	9,0
Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido: 53 % (16 pacientes)					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los pacientes 1 a 30: 0,01 mg/dl					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 0,99 mg/dl					

Según se muestra en la Tabla 6, puede entenderse que 16 (los pacientes 1 a 16) de los 30 pacientes habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula dura entérica que contiene la bifidobacteria. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula blanda que contiene la bifidobacteria para el resto de los 14 pacientes. El aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 0,01 mg/dl para los 30 pacientes en comparación con el incremento en el grupo de control de 0,99 mg/dl, y puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Para el grupo de control, los niveles de fósforo en sangre después del tratamiento eran significativamente mayores que los niveles antes del tratamiento (prueba de la *t* para datos emparejados: $p < 0,01$), aunque no se observó un aumento significativo para el grupo tratado. Por lo tanto, puede entenderse que la cápsula dura entérica que contiene la bifidobacteria obtenida en el Ejemplo 4 inhibió significativamente una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Ejemplo 5

Con objeto de preparar la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria, se siguió el procedimiento del Ejemplo 1 excepto porque se preparó el polvo de células de la bifidobacteria inactivo (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217) mediante el tratamiento de 100 g del polvo de las células viables a 500 W durante 10 minutos en un horno de microondas.

30 pacientes en diálisis ingirieron 0,2 g de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria inactiva así preparada diariamente en las mismas condiciones de ingestión que en el Ejemplo 1. Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria inactiva y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 7 muestra los resultados.

Para los 15 pacientes que no tomaron ni la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria inactiva ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 7,19 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 8,55 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,36 mg/dl).

Tabla 7

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)	
	Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión		Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	6,6	6,4	Paciente 16	5,7	6,7
Paciente 2	5,6	5,4	Paciente 17	7,5	8,7
Paciente 3	7,7	7,5	Paciente 18	8,1	9,3
Paciente 4	6,2	6,1	Paciente 19	5,9	7,3
Paciente 5	7,9	7,9	Paciente 20	6,8	8,3

Paciente 6	6,3	6,4	Paciente 21	6,5	8,0
Paciente 7	7,8	7,9	Paciente 22	5,5	7,1
Paciente 8	6,5	6,6	Paciente 23	5,8	7,4
Paciente 9	7,9	8,1	Paciente 24	7,8	9,6
Paciente 10	8,3	8,6	Paciente 25	8,3	10,1
Paciente 11	7,7	8,0	Paciente 26	7,8	9,8
Paciente 12	8,4	8,7	Paciente 27	6,1	8,2
Paciente 13	6,5	6,9	Paciente 28	8,3	10,4
Paciente 14	6,9	7,4	Paciente 29	7,4	9,7
Paciente 15	7,4	8,4	Paciente 30	8,3	10,9
Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido: 13 % (4 pacientes)					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los pacientes 1 a 30: 0,94 mg/dl					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 1,36 mg/dl					

Según se muestra en la Tabla 7, puede entenderse que 4 (los pacientes 1 a 4) de los 30 pacientes habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria inactiva. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria inactiva para el resto de los 26 pacientes. El aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 0,94 mg/dl para los 30 pacientes en comparación con el incremento en el grupo de control de 1,36 mg/dl, y puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Ejemplo 6

30 pacientes en diálisis ingirieron el polvo de células de la bifidobacteria (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217) según se usó en el Ejemplo 1 sin encapsulación en 2 billones de células de la bifidobacteria diariamente durante 4 semanas. La condición de ingestión era la misma que la del Ejemplo 1. Los pacientes no tomaron ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre. Mientras seguían las instrucciones dietéticas de un dietista, no todos los pacientes tenían la misma alimentación. Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión del polvo de células de la bifidobacteria, y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 8 muestra los resultados.

Para los 15 pacientes que no tomaron ni el polvo de células de la bifidobacteria ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 6,75 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 7,97 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,21 mg/dl).

Tabla 8

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)	
	Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión		Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	6,3	6,1	Paciente 16	7,8	9,1
Paciente 2	6,3	6,2	Paciente 17	5,9	7,3
Paciente 3	5,9	5,9	Paciente 18	7,2	8,6
Paciente 4	8,0	8,0	Paciente 19	6,3	7,7
Paciente 5	6,3	6,4	Paciente 20	8,2	9,7
Paciente 6	5,7	5,9	Paciente 21	7,7	9,3
Paciente 7	7,8	8,2	Paciente 22	6,5	8,3
Paciente 8	6,3	6,7	Paciente 23	8,1	10,1
Paciente 9	7,2	7,7	Paciente 24	8,5	10,6
Paciente 10	6,6	7,2	Paciente 25	7,4	9,6
Paciente 11	7,7	8,4	Paciente 26	6,8	9,0
Paciente 12	6,3	7,0	Paciente 27	5,6	7,9
Paciente 13	8,5	9,2	Paciente 28	8,1	10,4

Paciente 14	8,3	9,2	Paciente 29	6,4	8,7
Paciente 15	7,0	8,3	Paciente 30	5,5	8,1
Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido: 7 % (2 pacientes)					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los pacientes 1 a 30: 1,15 mg/dl					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 1,21 mg/dl					

Según se muestra en la Tabla 8, puede entenderse que 2 (los pacientes 1 y 2) de los 30 pacientes habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión del polvo de células de la bifidobacteria. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión del polvo de células de la bifidobacteria para el resto de los 28 pacientes. El aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,15 mg/dl para los 30 pacientes en comparación con el incremento en el grupo de control de 1,21 mg/dl, y puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Ejemplo comparativo 1

Con objeto de preparar la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria, se siguió el procedimiento del Ejemplo 1 excepto porque se usó el polvo de células de la bifidobacteria (*Bifidobacterium bifidum* JCM1255) en lugar de el de la bifidobacteria (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217).

20 pacientes en diálisis ingirieron 0,2 g de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria así preparada diariamente en las mismas condiciones de ingestión que en el Ejemplo 1. Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria, y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 9 muestra los resultados.

Para los 15 pacientes que no tomaron ni la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 6,75 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 7,97 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,21 mg/dl).

Tabla 9

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)	
	Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión		Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	5,93	3,87	Paciente 11	7,21	7,23
Paciente 2	6,47	5,10	Paciente 12	7,06	7,25
Paciente 3	7,04	6,25	Paciente 13	6,28	6,49
Paciente 4	6,36	5,62	Paciente 14	6,44	6,69
Paciente 5	6,61	6,06	Paciente 15	7,03	7,36
Paciente 6	5,91	5,40	Paciente 16	6,56	6,92
Paciente 7	8,39	7,97	Paciente 17	5,48	6,11
Paciente 8	7,13	6,75	Paciente 18	6,38	7,03
Paciente 9	6,31	5,96	Paciente 19	8,21	9,04
Paciente 10	6,65	6,47	Paciente 20	5,10	6,46
Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido: 50 % (10 pacientes)					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los pacientes 1 a 20: 0,13 mg/dl					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 1,21 mg/dl					

Según se muestra en la Tabla 9, puede entenderse que 10 (los pacientes 1 a 10) de los 20 pacientes habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria para el resto de los 10 pacientes. El aumento medio en el nivel de fósforo en sangre

era de 0,13 mg/dl para los 20 pacientes en comparación con el incremento en el grupo de control de 1,21 mg/dl, y puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

5 Para el grupo de control, los niveles de fósforo en sangre después del tratamiento eran significativamente mayores que los niveles antes del tratamiento (prueba de la *t* para datos emparejados: $p < 0,01$), aunque no se observó un aumento significativo para el grupo tratado. Por lo tanto, puede entenderse que la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria obtenida en el Ejemplo Comparativo 1 inhibió significativamente una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

10 **Ejemplo Comparativo 2**

Con objeto de preparar la cápsula sin costuras que contiene la bacteria ácida láctica, se siguió el procedimiento del Ejemplo 1 excepto porque se usó el polvo de células de la bacteria ácida láctica (*Lactobacillus acidophilus* JCM1132) en lugar de el de la bifidobacteria (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217)

15 20 pacientes en diálisis ingirieron 0,2 g de la cápsula sin costuras que contiene la bacteria ácida láctica así preparada diariamente en las mismas condiciones de ingestión que en el Ejemplo 1. Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bacteria ácida láctica, y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 10 muestra los resultados.

20 Para los 15 pacientes que no tomaron ni la cápsula sin costuras que contiene la bacteria ácida láctica ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 6,75 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 7,97 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,21 mg/dl).

Tabla 10

	Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)			Nivel de fósforo en sangre (mg/dl)	
	Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión		Antes de la ingestión	4 semanas después del inicio de la ingestión
Paciente 1	6,17	4,48	Paciente 11	7,07	7,23
Paciente 2	6,61	5,21	Paciente 12	6,20	6,43
Paciente 3	5,74	4,50	Paciente 13	5,76	6,05
Paciente 4	8,79	7,63	Paciente 14	6,77	7,29
Paciente 5	7,13	6,45	Paciente 15	5,69	6,30
Paciente 6	6,55	5,90	Paciente 16	7,12	7,74
Paciente 7	6,43	6,00	Paciente 17	6,29	6,95
Paciente 8	7,24	7,04	Paciente 18	6,30	7,00
Paciente 9	8,92	8,76	Paciente 19	6,15	7,56
Paciente 10	6,44	6,47	Paciente 20	5,18	6,73
Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido: 45 % (9 pacientes)					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para los pacientes 1 a 20: 0,04 m g/dl					
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 1,21 m g/dl					

30 Según se muestra en la Tabla 10, puede entenderse que 9 (los pacientes 1 a 9) de los 20 pacientes habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bacteria ácida láctica. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bacteria ácida láctica para el resto de los 11 pacientes. El aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 0,04 mg/dl para los 20 pacientes en comparación con el incremento en el grupo de control de 1,21 mg/dl, y puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

35 Para el grupo de control, los niveles de fósforo en sangre después del tratamiento eran significativamente mayores que los niveles antes del tratamiento (prueba de la *t* para datos emparejados: $p < 0,01$), aunque no se observó un aumento significativo para el grupo tratado. Por lo tanto, puede entenderse que la cápsula sin costuras que contiene

la bacteria ácida láctica obtenida en el Ejemplo Comparativo 2 inhibió significativamente una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Ejemplo 7 y Ejemplos Comparativos 3 a 10

Excepto porque se usó un polvo de células de la bifidobacteria (*Bifidobacterium bifidum* JCM1255: Ejemplo Comparativo 3), la bifidobacteria (*Bifidobacterium animalis* JCM10602: Ejemplo 7), la bifidobacteria (*Bifidobacterium infantis* JCM7007: Ejemplo Comparativo 4), la bifidobacteria (*Bifidobacterium dentium* JCM1195: Ejemplo Comparativo 5), bacteria ácida láctica (*Lactobacillus casei* JCM1134: Ejemplo Comparativo 6), bacteria ácida láctica (*Lactobacillus plantarum* JCM11125: Ejemplo Comparativo 7), bacteria ácida láctica (*Lactococcus lactis* subespecie *lactis* JCM7638: Ejemplo Comparativo 8), bacteria ácida láctica (*Enterococcus faecium* JCM5804: Ejemplo Comparativo 9) y bacteria ácida láctica (*Enterococcus faecalis* JCM5803: Ejemplo Comparativo 10) en lugar de el de la bifidobacteria (*Bifidobacterium longum* subespecie *longum* JCM1217), se siguió el procedimiento del Ejemplo 1 con objeto de preparar la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria o la bacteria ácida láctica.

20 pacientes en diálisis ingirieron 0,2 g de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria o la bacteria ácida láctica así preparada diariamente en las mismas condiciones de ingestión que en el Ejemplo 1. Se recogió sangre antes y 4 semanas después del inicio de la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria o la bacteria ácida láctica, y se midieron los niveles de fósforo en sangre. La Tabla 11 muestra los resultados.

Tabla 11

	Nombre de la cepa usada	Índice de pacientes con un nivel de fósforo en sangre reducido (%)	Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre (mg/dl)
Ejemplo Comparativo 3	<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM1255	55	-0,02
Ejemplo 7	<i>Bifidobacterium animalis</i> JCM10602	50	-0,10
Ejemplo Comparativo 4	<i>Bifidobacterium infantis</i> JCM7007	40	0,01
Ejemplo Comparativo 5	<i>Bifidobacterium dentium</i> JCM1195	40	0,19
Ejemplo Comparativo 6	<i>Lactobacillus casei</i> JCM1134	35	0,62
Ejemplo Comparativo 7	<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM11125	35	0,45
Ejemplo Comparativo 8	<i>Lactococcus lactis</i> subespecie <i>lactis</i> JCM7638	35	0,14
Ejemplo Comparativo 9	<i>Enterococcus faecium</i> JCM5804	45	0,21
Ejemplo Comparativo 10	<i>Enterococcus faecalis</i> JCM5803	30	0,26
Aumento medio en el nivel de fósforo en sangre para el grupo de control: 1,32 mg/dl			

Para los 15 pacientes que no tomaron ni la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria o la bacteria ácida láctica, ni ningún otro agente reductor del nivel de fósforo en sangre (grupo de control), el nivel medio de fósforo en sangre antes del tratamiento era de aproximadamente 6,48 mg/dl, y el nivel medio de fósforo en sangre cuatro semanas después del tratamiento era de aproximadamente 7,59 mg/dl (para el grupo de control, el aumento medio en el nivel de fósforo en sangre era de 1,32 mg/dl).

Según se muestra en la Tabla 11, puede entenderse que en el Ejemplo 6 y en el Ejemplo Comparativo 3 habían disminuido los niveles de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria. Por otro lado, no se observó la disminución del nivel de fósforo en sangre tras la ingestión de la cápsula sin costuras que contiene la bifidobacteria o la bacteria ácida láctica de los Ejemplos Comparativos 4 a 10. En comparación con el incremento en el grupo de control de 1,32 mg/dl, puede entenderse que se inhibió una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

5 Para el grupo de control, los niveles de fósforo en sangre después del tratamiento eran significativamente mayores que los niveles antes del tratamiento (prueba de la t para datos emparejados: $p < 0,01$), aunque no se observó un aumento significativo en el grupo tratado. Por lo tanto, puede entenderse que la cápsula sin costuras que contiene la bacteria o la bacteria ácida láctica obtenida en el Ejemplo 6 y en los Ejemplos Comparativos 3 a 10 inhibió significativamente una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

10 A partir de los resultados experimentales presentados anteriormente está claro que las bacterias ácidas lácticas tienen el efecto de inhibir una elevación en el nivel de fósforo en sangre. Adicionalmente, puede entenderse que las bacterias ácidas lácticas, cuando se ingieren en forma de una cápsula entérica, inhiben notablemente una elevación en el nivel de fósforo en sangre.

Aplicabilidad industrial

15 El inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre de la presente invención es muy seguro, es fácilmente administrable, y puede inhibir suficientemente una elevación en el nivel de fósforo en sangre. Por lo tanto, el inhibidor de la elevación del nivel de fósforo en sangre de la presente invención es aplicable como un producto alimenticio, un complemento nutricional o similares, que puede inhibir una elevación en el nivel de fósforo en sangre para personas tales como pacientes en diálisis y pacientes con insuficiencia renal.

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una bacteria ácida láctica seleccionada de entre el grupo que consiste en *B. longum* y *B. animalis* para su uso en el tratamiento de la hiperfosfatemia.
2. La bacteria ácida láctica para su uso según la reivindicación 1, en donde la bacteria ácida láctica se prepara en una forma de dosificación oral.
- 10 3. La bacteria ácida láctica para su uso según la reivindicación 2, en donde la forma de dosificación oral es una cápsula seleccionada de entre el grupo que consiste en cápsulas blandas, cápsulas duras y cápsulas sin costuras
4. La bacteria ácida láctica para su uso según la reivindicación 3, en donde la cápsula es resistente a los ácidos.
- 15 5. La bacteria ácida láctica para su uso según la reivindicación 3, en donde la cápsula es entérica.
6. La bacteria ácida láctica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en donde la cápsula comprende adicionalmente un oligosacárido.

Fig. 1

