

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 451 020**

51 Int. Cl.:

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/308 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A23C 9/20 (2006.01)

A61P 1/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2006 E 09011197 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2140771**

54 Título: **Método para estimular la flora intestinal en bebés alumbrados por cesárea**

30 Prioridad:

21.10.2005 EP 05023029

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

26.03.2014

73 Titular/es:

**N.V. NUTRICIA (100.0%)
EERSTE STATIONSSTRAAT 186
2712 HM ZOETERMEER, NL**

72 Inventor/es:

**BOEHM, GÜNTHER;
STAHL, BERND y
KNOL, JAN**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 451 020 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para estimular la flora intestinal en bebés alumbrados por cesárea.

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a métodos para alimentar y a composiciones para ser administradas a bebés alumbrados por cesárea.

10 Antecedentes de la invención

[0002] Al formular nutrición para bebés, se usa leche materna como el patrón de oro. Ingredientes en particular de origen no humano son normalmente combinados para imitar las características composicionales y los efectos fisiológicos de la leche materna.

15 [0003] Un aspecto importante de la leche humana es que proporciona energía y líquidos al bebé. Además de proporcionar energía, la leche materna contiene muchos componentes adicionales, cuyo objetivo es mantener la salud del bebé. La leche materna por ejemplo contiene fibra prebiótica, que estimula el desarrollo de una flora intestinal saludable. Una flora intestinal saludable tiene numerosos efectos positivos en el bebé, tal como una incidencia reducida de infecciones y un sistema inmunológico reforzado.

20 [0004] Diferentes fórmulas de leche infantil disponibles comercialmente contienen ingredientes cuyo objetivo es estimular el desarrollo de la flora intestinal. Las fórmulas infantiles pueden contener por ejemplo fibras prebióticas u organismos probióticos vivos. Las fibras prebióticas normalmente pasan sin digerir a través del tracto gastrointestinal superior y estimulan selectivamente el crecimiento de bacterias beneficiosas en el colon. Las bacterias probióticas vivas aumentan el total de conteo bacteriano específico en el intestino. La administración oral de bifidobacterias o lactobacilos a bebés alumbrados por cesárea es descrita en Bennet et al, Acta Paediatr., 1992,81: 784-787.

25 [0005] El documento EP 1105002 describe una mezcla de carbohidrato prebiótico que comprende uno o más oligosacáridos solubles y uno o más polisacáridos solubles, siendo al menos el 80 % en peso de cada uno prebiótico.

30 [0006] El documento WO 2005039319 describe una preparación que comprende *Bifidobacterium breve* y una mezcla de carbohidratos no digeribles para bebés no alimentados a pecho o solo parcialmente al igual que su uso para el tratamiento o prevención de trastornos inmunológicos en bebés no alimentados a pecho o solo parcialmente.

35 Resumen de la invención

40 [0007] Las fórmulas infantiles son normalmente elaboradas para imitar el desarrollo de una flora intestinal en un bebé que está recibiendo leche materna, con la conclusión de que todos los bebés reaccionan de modo similar a la leche materna y fórmula infantil. No obstante, los presentes inventores han descubierto una subpoblación de bebés, es decir, aquellos bebés alumbrados por cesárea, que reaccionarán de manera diferente porque su flora intestinal durante el nacimiento es completamente diferente de la flora intestinal de bebés nacidos por la vía vaginal. En particular, el perfil y contenido de especies de bifidobacterias de bebés alumbrados por cesárea es diferente del perfil intestinal y contenido de especies de Bifidobacterias de bebés alumbrados por vía vaginal.

45 [0008] Los presentes inventores han analizado la flora intestinal de recién nacidos después del parto por cesárea y recién nacidos después del parto vaginal. Sorprendentemente se descubrió que hay grandes diferencias entre los dos grupos en la composición de la flora intestinal. Particularmente los bebés nacidos por vía vaginal contienen al menos aproximadamente tres especies diferentes de Bifidobacterias, mientras que los bebés nacidos por cesárea carecen de las especies más importantes de Bifidobacterias.

50 [0009] También se descubrió que los bebés nacidos por cesárea particularmente carecen de *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium longum*. Estas especies estaban presentes en la flora de la mayoría de los bebés nacidos por vía vaginal.

55 [0010] Debido a que la flora intestinal juega un papel crucial en el desarrollo del bebé, en particular la estimulación del sistema inmunológico y resistencia contra las infecciones, es de importancia máxima estimular el desarrollo saludable de la flora intestinal de bebés nacidos por cesárea.

60 [0011] Además los recién nacidos alumbrados por cesárea carecían de una biodiversidad en su flora intestinal. Sólo una o dos especies diferentes de bifidobacterias fueron detectadas en bebés nacidos por cesárea, mientras que la flora intestinal de recién nacidos alumbrados por vía vaginal normalmente contiene varias especies de bifidobacterias. Los presentes inventores creen que estas observaciones son indicativas de una falta general de una variedad de especies en el tracto intestinal de bebés alumbrados por cesárea. La biodiversidad es de gran importancia para conseguir los efectos fisiológicos deseados y estimular de forma óptima la salud del bebé.

[0012] Natren® produce el producto probiótico Life Start® que está diseñado específicamente para bebés y es adecuado para bebés nacidos por cesárea. Life Star® está hecho con *Bifidobacterium infantis*. Debido a que el producto Life Start® contiene solo una sola especie de bifidobacterias, los beneficios para el bebé serán muy limitados.

[0013] Particularmente inesperada es también la observación de que se pueden conseguir mejoras en la salud del bebé incluso cuando los bebés se alimentan con leche materna. En el caso de que los bebés sean alumbrados por cesárea, la leche materna es (en la mayoría de los casos) la mejor alimentación para el bebé. No obstante, la leche materna no da como resultado instantáneamente una flora similar a la obtenida en bebés alumbrados por parto vaginal. El presente método es por lo tanto también usado ventajosamente cuando el bebé recibe la leche materna.

[0014] Por lo tanto, la presente invención particularmente se dirige a: a) aumentar la incidencia de especies particulares en la flora intestinal de bebés nacidos por cesárea; b) aumentar la biodiversidad de microorganismos en la flora intestinal; y/o c) estimular el crecimiento de microorganismos beneficiosos, particularmente bifidobacterias.

[0015] Por lo tanto, en un aspecto la presente invención proporciona una composición para uso tal y como se define en la reivindicación 1 para la estimulación del desarrollo saludable de la flora intestinal de bebés nacidos por cesárea.

[0016] El microorganismo aumentará la biodiversidad de la flora de bebés, mientras que los oligosacáridos indigeribles estimulan el desarrollo y crecimiento de microorganismos administrados e inherentes.

[0017] La composición para ser administrada en el presente método contiene preferiblemente múltiples especies bacterianas diferentes, preferiblemente múltiples especies de bifidobacterias. Esto da como resultado la estimulación óptima de la flora intestinal de los bebés alumbrados por cesárea.

Descripción detallada de las formas de realización preferidas

[0018] La presente invención proporciona una composición para el uso tal y como se define en la reivindicación 1 para alimentar a bebés, comprendiendo dicho método la administración por vía enteral de una composición a un bebé alumbrado por cesárea, comprendiendo dicha composición al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible.

[0019] En otro aspecto la presente invención proporciona una composición para el uso tal y como se define en la reivindicación 1 para la estimulación de la salud de un bebé alumbrado por cesárea, que comprende la administración al bebé dentro de 100 horas después del nacimiento de una composición que contiene microorganismos y oligosacáridos indigeribles.

[0020] En otro aspecto adicional la presente invención proporciona una composición para el uso tal y como se define en la reivindicación 10 para la producción de alimentación infantil adecuada para bebés nacidos por cesárea que comprende la mezcla de: A) leche materna; y B) una composición que comprende al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible.

[0021] En todavía otro aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición que comprende al menos cuatro especies de bifidobacterias, subespecies o y/o cepas seleccionadas del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium termophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum*, dicha composición comprende *B. breve* y contiene galactooligosacáridos.

[0022] En otro aspecto la presente invención proporciona una composición para el uso tal y como se define en la reivindicación 8 para estimular el desarrollo de una flora intestinal saludable en un bebé comprendiendo la etapa de: A) mezclar I) un líquido aceptable nutricional o farmacéuticamente ; y II) una composición seca, donde la composición seca II comprende al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible; y B) administrar la composición obtenida en la etapa a) a un bebé nacido por cesárea.

[0023] La composición usada en la presente invención son preferiblemente composiciones nutritivas y/o farmacéuticas y adecuadas para la administración a bebés.

Operación cesárea

[0024] La presente invención se refiere a la administración enteral de una composición que contiene un microorganismo a bebés alumbrados por operación cesárea. Una operación cesárea es un procedimiento quirúrgico donde un bebé es alumbrado a través de una incisión hecha en la pared abdominal de la madre, y después a través de la pared del útero. Una cesárea se realiza normalmente cuando es más seguro para la madre o para el bebé que un parto vaginal. Otras veces, una mujer podría elegir una cesárea antes que alumbrar al bebé por vía vaginal.

Diversidad

[0025] La presente composición contiene al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible tal y como se define en la reivindicación 1. Los microorganismos son preferiblemente bacterias y/o levaduras. Preferiblemente los microorganismos usados en la presente invención son probióticos, es decir, cuando son aplicados al hombre o animal, afectan beneficiosamente al huésped, mejorando las propiedades de la microflora autóctona. Las combinaciones anteriormente mencionadas normalmente tienen el objetivo de aumentar la diversidad y/o la cantidad de microorganismos en el intestino del bebé alumbrado por cesárea. Esto afecta beneficiosamente al bebé, demostrando muchos beneficios para la salud.

[0026] El término "diferentes microorganismos" como es usado para la presente invención se refiere a microorganismo que pertenece a un género y/o especies diferentes. Preferiblemente los microorganismos diferentes son bacterias diferentes. Preferiblemente, los microorganismos diferentes son especies diferentes. Por ejemplo y preferiblemente, la presente composición comprende o consiste en *Bifidobacterium breve* (*B. Breve*) y *Bifidobacterium catenulatum* (*B. Catenulatum*). *B. breve* y *B. catenulatum* son aquí considerados como dos especies bacterianas diferentes. Las especies bacterianas no son consideradas diferentes si estas son subespecies diferentes. Por ejemplo, *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *delbrueckii* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* no son consideradas dos especies diferentes. La presente composición contiene al menos dos microorganismos diferentes, preferiblemente al menos dos especies bacterianas diferentes. Preferiblemente la presente composición contiene al menos tres especies diferentes, más preferiblemente al menos cuatro especies diferentes. Preferiblemente el microorganismo o especies bacterianas usadas son probióticos.

[0027] En una forma de realización la presente composición contiene al menos dos especies, subespecies o cepas de bifidobacterias diferentes. La presente composición comprende preferiblemente al menos una, más preferiblemente al menos dos, incluso más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible posible al menos cuatro cepas diferentes de bifidobacteria. La presente composición comprende preferiblemente al menos una, más preferiblemente al menos dos, incluso más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible posible al menos cuatro subespecies de bifidobacterias diferentes. Por ejemplo *Bifidobacterium animalis* subespecie *animalis* y *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis* son subespecies diferentes. *B. breve* M16V y *B. breve* R0070 son cepas diferentes.

Microorganismos

[0028] Preferiblemente la presente composición además contiene al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en bacterias de ácido láctico, bacilos y levaduras, preferiblemente al menos una bacteria del ácido láctico seleccionada del grupo que consiste en *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* y *Bifidobacteria*. La presente composición contiene preferiblemente al menos dos, más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible posible al menos cuatro microorganismos diferentes.

[0029] La presente composición contiene al menos una especie seleccionada del género Bifidobacterias, más preferiblemente al menos dos, incluso más preferiblemente al menos tres, más preferiblemente al menos cuatro, de la forma más preferible al menos cinco especies del género de Bifidobacterias. Las bifidobacterias son bacterias gram positivas, anaeróbicas, en forma de barra. Las presentes especies de bifidobacterias tienen preferiblemente al menos 95 % de identidad de la secuencia 16 S rRNA cuando se compara con la cepa del tipo de la especie respectiva de bifidobacteria, más preferiblemente al menos 97% de identidad tal y como se define en manuales sobre este tema, por ejemplo Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989), Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2ª ed., Cold Spring Harbor (N.Y.) Laboratory Press. Las Bifidobacterias usadas preferiblemente son también descritas por Scardovi, V. Genus Bifidobacterium. p.1418 - p.1434. En: Bergey's manual of systematic Bacteriology. Vol. 2. Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe y J.G. Holt (ed.). Baltimore: Williams & Wilkins. 1986. 635 p.

[0030] La presente composición comprende al menos uno, más preferiblemente al menos dos, incluso más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro especies de bifidobacteria preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infants*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum*. Más preferiblemente la presente composición preferiblemente comprende al menos uno, más preferiblemente al menos dos, incluso más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro especies de Bifidobacteria, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infants*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium longum*. De la forma más preferible la presente composición contiene *Bifidobacterium breve* y *Bifidobacterium catenulatum*.

[0031] La presente composición comprende al menos uno, más preferiblemente al menos dos, incluso más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro subespecies de bifidobacteria. En aún otra forma de realización preferida, la presente composición comprende al menos uno, más preferiblemente al menos dos, incluso más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro cepas de bifidobacteria.

[0032] En otra forma de realización preferida, la presente composición contiene además bacterias de ácido láctico, preferiblemente al menos una bacteria seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacilli*, *Lactococci* y *Streptococci*. Más preferiblemente la presente composición contiene al menos una bacteria seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus paracasei*. La biodiversidad aumentada en mayor medida tendrá un efecto estimulador en la salud del recién nacido.

[0033] La presente composición contiene preferiblemente entre 10^1 y 10^{13} unidades formadoras de colonias (CFU) de microorganismos por gramo de peso en seco de la presente composición, preferiblemente entre 10^2 y 10^{12} , más preferiblemente entre 10^3 y 10^{10} . Preferiblemente, la presente composición contiene entre 10^1 y 10^{13} unidades formadoras de colonias (CFU) de bifidobacterias por g de peso en seco de la presente composición, más preferiblemente entre 10^2 y 10^{12} , de la forma más preferible entre 10^3 y 10^{12} .

[0034] El presente método comprende preferiblemente la administración de una ración que contiene entre 10^1 y 10^{13} cfu de microorganismos más preferiblemente entre 10^2 y 10^{11} , de la forma más preferible entre 10^3 y 10^{10} . El presente método preferiblemente comprende la administración de una ración que contiene entre 10^1 y 10^{13} cfu de bifidobacterias, más preferiblemente entre 10^2 y 10^{12} , de la forma más preferible entre 10^3 y 10^{11} .

Oligosacáridos

[0035] El término "oligosacáridos indigeribles" como se usa en la presente invención se refiere a oligosacáridos/carbohidratos que no son digeridos o sólo parcialmente en el intestino por la acción de ácidos o enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo humano superior (intestino delgado y estómago) pero que son fermentados por la flora intestinal humana. Preferiblemente el presente oligosacárido indigerible tiene un grado de polimerización (DP) de 2 a 100, preferiblemente un DP de 2 a 50. Preferiblemente el presente oligosacárido indigerible es una fibra prebiótica. El término "fibra prebiótica" se refiere a fibras no digeribles que afectan beneficiosamente al huésped por estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de especies bacterianas en el colon. Los efectos sobre la salud de prebióticos, también en combinación con probióticos, son descritos en Collins, Am J. Clin. Nutr. 1999 (69(suppl.): 10525 - 10575).

Preferiblemente el presente oligosacárido indigerible es soluble. El término "soluble" como se utiliza en este caso, cuando se hace referencia a un polisacárido, fibra u oligosacárido, significa que la sustancia es al menos 50% soluble según el método descrito por L Proski et al., J. Assoc. Off. Anal Chem. 71,1017-1023 (1988).

[0036] Preferiblemente, la presente composición contiene al menos un oligosacárido seleccionado del grupo que consiste en galactooligosacáridos, dextrinas indigeribles, xilooligosacáridos, arabinooligosacáridos, glucooligosacáridos, mano-oligosacáridos, isomalto-oligosacárido y fructopolisacárido, donde la composición contiene galactooligosacáridos.

[0037] El término "fructopolisacárido" como se utiliza en este caso se refiere a un carbohidrato polisacárido que comprende una cadena de al menos 3 unidades de fructosa β -enlazadas, con un DP entre 3 y 300, preferiblemente entre 20 y 150. Preferiblemente se usa inulina. La inulina está disponible bajo el nombre comercial, "Raftilin HP®" (Orafti). El DP medio del fructopolisacárido es preferiblemente al menos 15, más preferiblemente al menos 20 o más, hasta 300. En la inulina las unidades de fructosa se enlazan con un enlace β (2 $\rightarrow$ 1).

[0038] Polidextrinas indigeribles se refieren a (malto)dextrinas resistentes a la digestión o polidextrosa resistente a la digestión que tienen un DP de 10 a 50, preferiblemente entre 10 y 20. Las polidextrinas indigeribles comprenden uniones glucosídicas α (1 $\rightarrow$ 4), α (1 $\rightarrow$ 6) y enlaces 1 $\rightarrow$ 2 y 1 $\rightarrow$ 3. Las polidextrinas indigeribles están por ejemplo disponibles bajo el nombre comercial "Fibersol 2®" de Matsutami Inductries o Litess® de Danisco.

[0039] Los presentes inventores descubrieron que los galactooligosacáridos pueden ser usados ventajosamente en la presente composición, porque estos oligosacáridos eran particularmente eficaces en la estimulación del crecimiento de Bifidobacterias. Por lo tanto, la presente composición contiene galactooligosacáridos. El término "galactooligosacárido" como se utiliza en este caso se refiere a un sacárido indigerible, donde al menos 30 % de las unidades de sacáridos son unidades de galactosa, preferiblemente al menos 50%, más preferiblemente al menos 60%. Preferiblemente los sacáridos del galactooligosacárido están β -enlazados, como es el caso de la leche humana.

[0040] Preferiblemente la presente composición contiene un galactooligosacárido seleccionado del grupo que consiste en transgalactooligosacáridos, lacto-N-tetraosa (LNT) y lacto-N-neotetraosa (neo-LNT). En una forma de realización particularmente preferida el presente método comprende la administración de transgalactooligosacárido ([galactosa]_n-glucosa; donde n es un número entero entre 1 y 60, es decir 2, 3, 4, 5, 6, ..., 59, 60; preferiblemente n es seleccionado de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10). Transgalactooligosacáridos (TOS) son por ejemplo vendidos bajo la marca Vivinal™ (Borculo Domo Ingredients, Países Bajos). Preferiblemente los sacáridos de los transgalactooligosacáridos están β -enlazados.

[0041] La presente composición contiene preferiblemente 0,5 a 75 gramos de oligosacáridos solubles indigeribles por 100 gramos de peso en seco, preferiblemente entre 0,5 y 50 gramos. La presente composición comprende preferiblemente 0,1 a 95 gramos de galactooligosacáridos por 100 de peso en seco, preferiblemente entre 0,1 y 50 gramos.

[0042] El presente método comprende preferiblemente la administración de una ración que contiene entre 0,05 y 25 gramos de oligosacárido indigerible, preferiblemente entre 0,1 y 5 gramos. El presente método comprende preferiblemente la administración de una ración que contiene entre 0,05 y 25 gramos de galactooligosacáridos, preferiblemente entre 0,1 y 5 gramos de galactooligosacáridos.

[0043] Los presentes inventores han descubierto también que una mezcla de oligosacáridos indigeribles de cadena larga y oligosacáridos indigeribles de cadena corta estimulan sinérgicamente el crecimiento de una flora intestinal saludable, particularmente bifidobacterias. Por lo tanto la presente composición contiene preferiblemente al menos dos oligosacáridos con diferente promedio de grado de polimerización (DP) donde la composición contiene galactooligosacáridos. Preferiblemente las proporciones en peso:

- a. (oligosacáridos indigeribles con DP 2 a 5): (oligosacáridos indigeribles con DP 6, 7, 8, y/o 9) > 1 y
- b. (oligosacáridos indigeribles con DP 10 a 60): (oligosacáridos indigeribles con DP 6, 7, 8, y/o 9) > 1,

Preferiblemente ambas proporciones en peso están por encima de 2, incluso más preferiblemente por encima de 5.

[0044] Para otra mejora adicional, el oligosacárido tiene preferiblemente un contenido relativamente alto de oligosacáridos de cadena corta puesto que estos estimulan fuertemente el crecimiento de bifidobacterias. Por lo tanto, preferiblemente al menos 10 % en peso de los oligosacáridos en la presente composición tiene un DP de 2 a 5 (es decir, 2, 3, 4, y/o 5) y al menos 5 % en peso tiene un DP de 10 a 60. Preferiblemente al menos 50 % en peso, más preferiblemente al menos 75 % en peso de los oligosacáridos tienen un DP de 2 a 9 (es decir, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y/o 9).

[0045] Para mejorar la biodiversidad y estimular el crecimiento de múltiples organismos intestinales, la presente composición que contiene galactooligosacáridos preferiblemente comprende dos oligosacáridos con una estructura diferente. La presente composición comprende al menos dos oligosacáridos diferentes, donde los oligosacáridos tienen una homología en unidades de sacáridos por debajo de aproximadamente 90%, preferiblemente debajo de 50%, incluso más preferiblemente debajo de 25%, incluso más preferiblemente debajo de 5%. El término "homología" como se usa en la presente invención es el acumulativo del porcentaje de misma unidad sacárida en los diferentes oligosacáridos. Por ejemplo, oligosacárido 1 (OL1) tiene la estructura fruc-fruct-glu-gal, y así comprende 50% fruc, 25% gal y 25% glu. Oligosacárido 2 (OL2) tiene la estructura fruc-fruc-glu, y así comprende 66% fruc, 33% glu. Los oligosacáridos diferentes tienen por tanto una homología de 75% (50% fruc + 25% glu).

[0046] Preferiblemente la presente composición contiene galactooligosacáridos y fructopolisacáridos.

Aplicación

[0047] La presente composición es preferiblemente administrada por vía enteral, más preferiblemente por vía oral. La presente composición es por lo tanto preferiblemente un líquido. El término "enteral" es usado aquí también para comprender una administración anal o rectal.

[0048] Cuando los bebés reciben fórmula de leche infantil, la presente composición con microorganismos e incluyendo al menos un oligosacárido indigerible tal y como se define en la reivindicación 1 está preferiblemente incluida en la fórmula nutritiva. El prebiótico y probiótico pueden ser añadidos separadamente a la fórmula infantil. Cuando los recién nacidos reciben alimentación a través de un tubo, los microorganismos pueden ser incluidos adecuadamente en la alimentación administrada a través de tubo. Estimular la diversidad es de gran importancia, por tanto, la presente invención también proporciona una composición nutritiva que comprende entre 5 y 25 en% de proteína; entre 25 y 60 en% de grasa; entre 30 y 70 en% de carbohidrato; al menos dos especies diferentes de bifidobacterias y al menos una especie de *Lactobacillus*.

[0049] Cuando los bebés reciben leche materna, la presente composición puede ser mezclada adecuadamente con leche materna. La presente invención consecuentemente también proporciona un método para la producción de alimentación infantil adecuada para un bebé nacido por cesárea que comprende la mezcla de: A) leche materna; y B) una composición que comprende al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible tal y como se define en la reivindicación 1. Las características preferidas de la composición B) son como está especificado anteriormente.

[0050] En otra forma de realización preferida la presente composición se administra al bebé en un volumen muy pequeño, por ejemplo por "inoculación" del bebé. Preferiblemente, la presente composición se administra al bebé con una jeringa, pipeta o tubo, preferiblemente directamente después del nacimiento. En otra forma de realización preferida, la presente composición es administrada por vía rectal o anal al bebé alumbrado por cesárea, preferiblemente en forma de un supositorio, píldora o comprimido. Por lo tanto, la presente invención también proporciona un supositorio, píldora o

comprimido adecuado para administración rectal a un bebé de edad inferior a un año, donde dicho supositorio, píldora o comprimido contiene microorganismos y oligosacáridos indigeribles, preferiblemente la presente composición como se describe anteriormente.

[0051] En otra forma de realización preferida la presente invención proporciona un método que estimula la flora intestinal de un bebé que comprende la administración por vía rectal a un niño de edad inferior 3 años de una composición que comprende microorganismo y/o oligosacárido indigerible. Preferiblemente el bebé tiene una edad inferior a 1 año, más preferiblemente inferior a 2 semanas. Preferiblemente el bebé es alumbrado por cesárea. Preferiblemente esta composición para administración por vía rectal contiene la composición descrita anteriormente.

[0052] Este procedimiento tiene la ventaja de que no interfiere con la práctica de la lactancia normal y tiene un grado de similitud elevado con la inoculación vaginal, que ocurre durante el nacimiento. La presente invención también proporciona un método para estimular la salud de un bebé alumbrado por cesárea, que comprende la administración al bebé y dentro de las 100 horas después del nacimiento, preferiblemente dentro de las 72 horas después del nacimiento, preferiblemente dentro de las 48 horas después del nacimiento, una composición que contiene microorganismos y oligosacáridos indigeribles tal y como se define en la reivindicación 1.

[0053] La composición es preferiblemente adecuada para su administración directamente después del nacimiento. Por lo tanto, en otra forma de realización preferida, la presente invención proporciona un recipiente que comprende una composición líquida con un volumen entre 0,5 y 50 ml, que contiene la presente composición. El líquido con el presente microorganismo combinado con oligosacáridos indigeribles, puede ser usado adecuadamente en el presente método. Preferiblemente el líquido tiene un volumen entre 0,5 y 25 ml. Este volumen es preferiblemente pequeño, porque de otra manera podría interferir con el apetito y comportamientos en cuanto a la forma de beber del bebé.

[0054] De forma similar y comprendido por esta invención está un recipiente con una composición seca reconstituible que contiene la presente composición, donde el recipiente tiene un volumen de entre 0,5 y 50 ml. Este recipiente está preferiblemente acompañado de una instrucción para reconstituir el polvo en un volumen pequeño de líquido, por ejemplo agua.

[0055] La presente invención por tanto también proporciona un método para estimular el desarrollo de una flora intestinal saludable en un bebé que comprende etapa A: la mezcla de I) un líquido en particular nutricionalmente y farmacéuticamente aceptable; y II) una composición seca, donde la composición seca II comprende al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible o tal y como se define en la reivindicación 1; y etapa B) administrar la composición obtenida en la etapa a) a un bebé nacido por cesárea.

[0056] La presente composición es preferiblemente administrada al bebé en el primer año de vida, preferiblemente dentro de las dos semanas después del nacimiento, incluso más preferiblemente dentro de una semana después del nacimiento, de la forma más preferible dentro de las 48 horas después del nacimiento.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Caracterización molecular de microbiota intestinal en bebés alumbrados por vía vaginal vs. alumbrados por cesárea

[0057] En el presente estudio la influencia del modo de alumbramiento (alumbramiento por cesárea versus alumbramiento por vía vaginal) en la composición microbiana intestinal en el tercer día de vida usando PCR-electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE) y PCR-electroforesis en gel con gradiente de temperatura (TGGE). Tanto los análisis DGGE como TGGE han sido utilizados, con las amplificaciones específicas para diez especies de bifidobacteria.

[0058] Después de la obtención del consentimiento informado por escrito de los padres, veintitrés recién nacidos por parto por cesárea y parto vaginal han sido inscritos en el estudio. Las muestras fecales fueron obtenidas en el tercer día de vida. El ADN microbiano fue extraído y analizado según Favier et al, Environ Microbiol 2002,68:219-226 y Satokari et al, Appl Environ Microbiol 2001,67:504-513; Satokari et al System Appl Microbiol 2003,26:572-584.

[0059] Los resultados de las bifidobacterias detectadas en muestras fecales de recién nacidos después del parto por cesárea al tercer día de vida se exponen en la tabla 1. La tabla 2 expone las bifidobacterias detectadas en muestras fecales de recién nacidos después del parto vaginal obtenidas el tercer día de vida.

[0060] Se puede observar que la flora microbiana de un bebé nacido por cesárea muestra muchas diferencias con un bebé nacido por vía vaginal. El reconocimiento de estas diferencias a nivel de las especies permitió a los presentes inventores diseñar las presentes composiciones y métodos.

[0061] Estos resultados son indicativos del uso ventajoso de la composición y método según la presente invención, por ejemplo, un método para alimentar a bebés nacidos por cesárea, estimulando una flora intestinal saludable y previniendo consecuentemente la infección y estimulando un sistema inmunológico saludable.

Tabla 1: Cesárea

Recién nacido	<i>B. breve</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. dentium</i>	<i>B. angulatum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>B. catenulatum group</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. gallium</i>
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(-) = sin amplificación (+/-) = amplificación débil (+) = amplificación positiva (++) = amplificación fuerte										

Tabla 2: Normal

Recién nacido	<i>B. breve</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. dentium</i>	<i>B. angulatum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>B. catenulatum group</i>	<i>B. adolescents</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. gallicum</i>
1a	-	+	-	-	-	-	-	-	++	-
2a	+/-	-	-	-	++	-	++	-	++ -	-
3a	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4a	+/-	-	-	-	-	-	++	+	+	-
5a	+/-	-	-	-	++	-	++	-	++	++
6a	-	-	-	-	+/-	-	++	-	++	-
7a	-	-	-	-	+/-	-	++	++	-	-
8a	++	++	-	-	-	-	+	++	-	-
9a	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-
10a	++	-	-	-	-	-	+	+	-	-
11a	++	-	-	-	++	-	++	-	++	-
12a	+	+	-	-	+	-	+	-	++	-
13a	+/-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
16a	-	-	-	-	-	-	++	-	+	-
17a	+/-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
18a	+/-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
19a	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
20a	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
21a	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-
22a	-	+	-	-	-	-	++	-	+	-
23a	+	-	-	-	++	-	++	-	+	-

(-) = sin amplificación
 (+/-) = amplificación débil
 (+) = amplificación positiva
 (++) = amplificación fuerte

Ejemplo 2: fermentación *in vitro* de galacto-oligosacárido por heces de bebé

[0062] Objetivo: la capacidad de galactooligosacáridos (GOS) y una combinación de GOS e inulina para favorecer la actividad de bacterias de ácido láctico fue evaluada utilizando un sistema de fermentación *in vitro* semidinámico por

lotes usando heces de bebé. La cantidad de lactato estaba determinada, puesto que ésta está en el producto de fermentación de bacterias de ácido láctico incluidas las bifidobacterias.

[0063] Método: las heces frescas se obtuvieron de bebés alimentados de modo saludable por biberón. El material fecal fresco de bebés en el rango de 1 a 4 meses de edad fue agrupado y dispuesto en un medio conservante (peptona tamponada 20,0 g/l, L-Cisteína-HCl 0,5 g/l, tioglicolato de sodio 0,5 g/l, 1/1 comprimido de resazurina, pH 6.7) en 1 h y almacenado a 4 °C para como mucho 2 h antes del comienzo del experimento de fermentación.

[0064] La solución conservada de heces fue centrifugada a 13.000 r.p.m. durante 15 min. El sobrenadante fue quitado y las heces fueron mezcladas con McBain & MacFarlane (agua de peptona tamponada 3,0 g/l, extracto de levadura 2,5 g/l, mucina (bordes de cepillo) 0,8 g/l, triptona 3,0 g/l, L-Cisteína-HCl 0,4 g/l, sales de bilis 0,05 g/l, K₂HPO₄·3H₂O 2,6 g/l, NaHCO₃ 0,2 g/l, NaCl 4,5 g/l, MgSO₄·7H₂O 0,5 g/l, CaCl₂ 0,228 g/l, FeSO₄ 0,005 g/l), que es representativo del entorno intestinal, en una proporción en peso de 1:5.

[0065] Siendo t = 0, 15 ml de la suspensión fecal fue combinada con 500 mg de prebiótico en un biberón y mezclada íntegramente. Como control no fue añadido ningún prebiótico. Los prebióticos añadidos fueron como sigue:

Medio:	1	2	3
GOS:	0	500	450
Inulina	0	0	50

[0066] Como una fuente de GOS, se usó Vivinal GOS (Borculo Domo). Como una fuente de inulina se usó RaftilinHP (Orafti).

[0067] 15 ml fueron transferidos a un tubo de diálisis en un biberón de 250 ml lleno de 250 ml de medio tamponado (K₂HPO₄·3H₂O 2,6 g/l, NaHCO₃ 0,2 g/l, NaCl 4,5 g/l, MgSO₄·7H₂O 0,5 g/l, CaCl₂ 0,228 g/l, FeSO₄·7H₂O 0,005 g/l, pH 6,3(?)). El biberón fue cerrado e incubado a 37 °C. Muestras de 1 ml fueron tomadas del tubo de diálisis y del tampón de diálisis con una jeringa hipodérmica después de 3 h y almacenadas a -18 °C. Los experimentos fueron realizados por duplicado. El lactato fue determinado enzimáticamente, usando un kit de detección de ácido de L-lactato con D- y L-lactato-deshidrogenasa (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania).

[0068] Resultados y Conclusiones: Los resultados se expresan como cantidades de lactato formadas por g de prebiótico añadido. Los resultados muestran que la cantidad de lactato aumenta cuando la microflora del bebé fermenta GOS o una mezcla de GOS e inulina. Cuando no se añadió ningún prebiótico, no fue observada la producción de lactato. Solo con GOS se produjeron 0,1801 mmol/g de lactato prebiótico. Cuando se añadió una combinación de GOS e inulina el lactato producido es 0,2119 mmol por g de prebiótico

[0069] Los resultados indican que los oligosacáridos estimulan el crecimiento y/o actividad de bacterias de ácido láctico en bebés, incluyendo bifidobacterias. Estos resultados son indicativos del uso ventajoso de los oligosacáridos indigeribles, particularmente galactooligosacáridos, en la presente composición y método según la presente invención, es decir, en un método para alimentar a bebés nacidos por cesárea.

Ejemplo 3: Método para alimentar a bebés nacidos por cesárea

[0070] Dentro de los dos días siguientes al nacimiento del bebé por cesárea, se administra una composición nutritiva que contiene por 100 ml de fórmula lista para ingerir: 1,6 gramos de proteínas, 3,6 gramos de grasa, 6,4 gramos de carbohidratos digeribles (principalmente lactosa), 0,8 gramos de carbohidratos no digeribles de los cuales 0,60 gramos de transgalactooligosacáridos, 0,07 gramos de inulina, 1 x 10⁹ cfu de *Bifidobacterium breve*, 1 x 10⁹ cfu de *Bifidobacterium catenulatum*, 1 x 10⁹ cfu de *Bifidobacterium longum* y 1 x 10⁹ cfu de *Lactobacillus paracasei*.

Ejemplo 4: composición envasada

[0071] Composición envasada donde el envase indica que el producto es particularmente adecuado para bebés de alimentación oral nacidos por cesárea, dicha composición que comprende *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacteria bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, galactooligosacáridos e inulina.

Ejemplo 5: Composición envasada

[0072] Composición como en el Ejemplo 4, donde la composición tiene un volumen de 10 ml y se envasa en una jeringa.

Ejemplo 6: Administración rectal

[0073] PII adecuado para administración rectal a un bebé dentro de las dos semanas siguientes al nacimiento, comprendiendo galactooligosacáridos y *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*.

REIVINDICACIONES

1. Composición para uso en la administración enteral a un bebé alumbrado por cesárea, dicha composición comprendiendo al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible; donde la composición contiene al menos una especie de bifidobacterias seleccionada del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum*, donde la composición comprende *Bifidobacterium breve*, y donde la composición contiene galactooligosacáridos.
2. Composición para uso según la reivindicación 1, para estimular el desarrollo de una flora intestinal saludable en un bebé alumbrado por cesárea mediante la administración enteral de dicha composición.
3. Composición para uso según la reivindicación 1 o 2, donde dicha composición es administrada por vía oral, y donde dicha composición está en forma de una fórmula de leche infantil o una composición seca reconstituible; o donde dicha composición se administra por vía rectal, y donde dicha composición está en forma de un supositorio, una píldora o un comprimido.
4. Composición para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la composición comprende al menos dos especies diferentes de bifidobacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum*.
5. Composición para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la composición comprende *Bifidobacterium breve* y *Bifidobacterium catenulatum*.
6. Composición para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la composición se administra a un bebé recibiendo leche materna humana.
7. Composición para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la composición se administra al bebé dentro de una semana después del nacimiento.
8. Composición para uso en la estimulación del desarrollo de una flora intestinal saludable en un bebé nacido por cesárea, dicho uso comprendiendo las etapas de:
 - a) mezclar I) un líquido nutricionalmente o farmacéuticamente aceptable; y II) una composición seca, donde la composición seca II comprende al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible; donde la composición contiene al menos una especie de bifidobacteria seleccionada del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum*; donde la composición comprende *Bifidobacterium breve*, y donde la composición contiene galactooligosacáridos
 - b) administrar la composición obtenida en la etapa a) al bebé.
9. Composición para uso en la estimulación de la flora intestinal en un bebé nacido por cesárea, que comprende administrar dicha composición al bebé, dicha composición comprendiendo al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible; donde la composición contiene al menos una especie de bifidobacterias seleccionada del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum* donde la composición comprende *Bifidobacterium breve*, y donde la composición contiene galactooligosacáridos, donde dicha composición se administra al bebé dentro de 100 horas después del nacimiento; o donde dicha composición se administra por vía rectal al niño con menos de 3 años de edad.
10. Método para la producción de una alimentación de bebé adecuada para bebé nacido por cesárea que comprende mezclar:
 - a. leche materna; y
 - b. una composición que comprende al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible; donde la composición contiene al menos una especie de bifidobacterias seleccionada del grupo que consiste en *Bifidobacterium*

breve, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum* donde la composición comprende *Bifidobacterium breve*, y donde la composición contiene galactooligosacáridos.