

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 454 243**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2006.01)

A61P 1/12 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A23L 1/29 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2008** **E 08716958 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2014** **EP 2142198**

54 Título: **Reducción del riesgo de diarrea**

30 Prioridad:

28.03.2007 EP 07105078

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

10.04.2014

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 454 243 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).

DESCRIPCION

Reducción del riesgo de diarrea

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere al empleo de una bacteria probiótica para reducir el riesgo de diarrea en recién nacidos y niños pequeños.

10 Antecedentes de la invención

Inmediatamente antes del nacimiento, el tracto gastrointestinal de un bebé se supone que es estéril. Durante el proceso normal del nacimiento, se encuentra con bacterias del tracto digestivo, de la piel y del medio ambiente de la madre y empieza a convertirse en colonizado. La microbiota fecal de los recién nacidos sanos alimentados con leche materna, la cual puede considerarse como la microbiota óptima para este grupo de edad, está dominada por especies de *Bifidobacteria* con algunas especies de *Lactobacillus* y cantidades menores de *Bacteroides* como por ejemplo las especies de *Bacterioides fragilis*, por la exclusión de potenciales patógenos por ejemplo los *Clostridia*. Después de completado el destete aproximadamente a la edad de 2 años, queda establecido un modelo de microbiota intestinal que se parece al modelo adulto.

Debe hacerse notar que en los recién nacidos sanos, alimentados con leche materna, las bifidobacterias forman la base de la microbiota, hasta un 60-90 % de las bacterias totales en el intestino del recién nacido. La alimentación con leche materna promueve el desarrollo de la barrera intestinal, la cual, juntamente con el dominio de las bifidobacterias conduce a una absorción potenciada y por lo tanto a la utilización de la nutrición ingerida.

La leche materna está recomendada para todos los recién nacidos. Sin embargo, en algunos casos la alimentación materna es inadecuada o no tiene éxito por razones médicas o porque la madre decide no alimentar con leche materna. Las fórmulas para recién nacidos han sido desarrolladas para estas situaciones.

En un pasado reciente, ciertas cepas de bacterias han atraído considerablemente la atención a causa de que se ha descubierto que presentan valiosas propiedades para el hombre si se ingieren. En particular, se ha descubierto que cepas específicas del género *Lactobacilli* y *Bifidobacteria* son capaces de colonizar la mucosa intestinal, para reducir la capacidad de que bacterias patógenas se adhieran al epitelio intestinal, para tener efectos inmunomoduladores, y para ayudar al mantenimiento del bienestar. Dichas bacterias han sido llamadas algunas veces probióticos y ya han sido propuestas para ayudar a bacterias probióticas adecuadas en las fórmulas para recién nacidos.

Se han efectuado extensos estudios para identificar nuevas cepas probióticas. Por ejemplo, las patentes EP 0 199 535, EP 0 768 375, WO 97/00078, EP 0 577 903 y WO 00/53200, describen cepas específicas de *Lactobacilli* y *Bifidobacteria* y sus efectos beneficiosos.

Como se ha indicado más arriba, debido a su capacidad para colonizar la mucosa intestinal y reducir la capacidad de que las bacterias patógenas se adhieran al epitelio intestinal, ciertas cepas probióticas han sido propuestas para la prevención y tratamiento de la diarrea en los recién nacidos. Por ejemplo, la patente WO 01/53201 propone el empleo de cepas de *Lactobacillus* como por ejemplo el *Lactobacillus paracasei* CNCM I- 2116 para la prevención o tratamiento de la diarrea, específicamente la diarrea inducida por el rotavirus. Se describe un estudio en el cual la cepa se administró a niños pequeños durante un período de 29 días y se descubrió que el grupo de sujetos que recibieron la cepa tuvieron un nivel del 30% inferior al nivel de aparición de episodios de diarrea durante el período de estudio.

Sin embargo, la incidencia de episodios de diarrea infecciosa durante los primeros años de vida permanece como una de las principales preocupaciones tanto de los padres como de otros cuidadores y profesionales de la salud.

Resumen de la inversión

Durante un estudio diseñado primariamente para investigar el efecto sobre el crecimiento, tolerancia, y morbilidad de 3 fórmulas para recién nacidos conteniendo diferentes combinaciones de bacterias probióticas, los presentes inventores descubrieron sorprendentemente que la alimentación con una combinación específica de bacterias probióticas durante los primeros tres a cuatro meses de vida reducía la incidencia de diarrea no solamente durante el periodo en el cual se administraron las bacterias probióticas sino que también durante por lo menos 8 meses después de que la administración de las bacterias probióticas se hubiera interrumpido.

La presente invención como está definida en las reivindicaciones, proporciona por lo tanto el empleo de un probiótico de *Lactobacillus rhamnosus* y un probiótico de *Bifidobacterium longum* en la fabricación de un medicamento de composición nutritiva terapéutica para la administración a un recién nacido durante por lo menos los tres primeros meses de vida para la profilaxis a largo plazo de la diarrea.

Debe tenerse en cuenta que la profilaxis a largo plazo de la diarrea durante este importante periodo para el desarrollo de los recién nacidos y niños pequeños pueden tener beneficios a largo plazo para la salud del individuo por encima de la incomodidad y de la inconveniencia asociados a los propios episodios de diarrea.

5 Descripción detallada de la invención

En esta especificación, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

"Recién nacido" significa un niño con una edad inferior a los 6 meses.

10 "Profilaxis a largo plazo de la diarrea" significa una reducción de los episodios de diarrea durante por lo menos ocho meses después de que la administración del probiótico haya finalizado.

15 "Probiótico" significa preparaciones celulares microbianas o componentes de células microbianas con un efecto beneficioso sobre la salud o bienestar del anfitrión (Salminen S., Ouwehand A., Benno Y. et al., "Probiotics: how should they be defined" ("Probióticos: como deben ser definidos") Trends Food Sci. Technol. 1999: 10 107-10);

"Niño pequeño" significa un niño con una edad entre 6 y 36 meses.

20 Todas las referencias de porcentajes son porcentajes en peso a no ser que se diga otra cosa.

25 El probiótico *Lactobacillus rhamnosus* puede ser cualquier especie de *Lactobacillus rhamnosus* con las características probióticas establecidas. Las especies preferidas incluyen el *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 que puede obtenerse *inter alia* a partir de las firmas Valio Oy de Finlandia con el nombre registrado de LGG y el *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724.

El probiótico *Bifidobacterium longum* es el *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999 que puede obtenerse de la firma Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón con el nombre registrado de BB536.

30 Una dosis diaria adecuada de la bacteria probiótica es desde 10^5 hasta 10^{11} unidades formadoras de colonias (cfu), con más preferencia desde 10^7 hasta 10^{10} cfu.

35 Los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium longum* se administran al recién nacido durante por lo menos los primeros tres meses de vida, con mayor preferencia durante los primeros cuatro a seis meses de vida del recién nacido.

40 La bacteria probiótica puede administrarse directamente al recién nacido o, si la madre lo alimenta con el pecho, por medio de la madre. Si la bacteria probiótica tiene que ser administrada por medio de la madre, puede suministrarse a la madre como un suplemento en forma de comprimidos, cápsulas, pastillas, goma de mascar o un líquido, por ejemplo. El suplemento puede contener además hidrocoloides protectores (como por ejemplo, gomas, proteínas, almidones modificados), aglutinantes, agentes formadores de película, agentes / materiales encapsuladores, materiales pared/cáscara, compuestos de matriz, revestimientos, emulsionantes, agentes surfactantes, agentes solubilizantes (aceites, grasas, ceras, lecitinas, etc.), adsorbentes, soportes, cargas, co-compuestos, agentes dispersantes, agentes humectantes, auxiliares de proceso (disolventes), agentes de flujo, agentes enmascaradores del sabor, agentes para dar peso, agentes gelificantes, agentes formadores de gel, antioxidantes y antimicrobianos. El suplemento puede contener también aditivos y coadyuvantes farmacéuticos convencionales, excipientes y diluyentes, incluyendo, pero sin ser limitantes, agua, gelatina de cualquier origen, gomas vegetales, ligninsulfonato, talco, azúcares, almidón, goma arábica, aceites vegetales, polialquilenglicoles, agentes saborizantes, conservantes, estabilizantes, agentes emulsionantes, tampones, lubricantes, colorantes, agentes humectantes, cargas, y similares. En todos los casos dichos componentes se seleccionarán teniendo en cuenta su idoneidad para el receptor en cuestión.

Alternativamente, la bacteria probiótica puede administrarse a la madre en forma de una composición nutritiva terapéutica. La composición puede ser una forma nutritivamente completa.

55 Una fórmula nutritivamente completa para su administración a mujeres embarazadas de acuerdo con la invención, puede comprender una fuente de proteínas. Cualquier proteína dietética adecuada puede emplearse, por ejemplo, las proteínas animales (como por ejemplo las proteínas de la leche, las proteínas de la carne y las proteínas del huevo); proteínas vegetales (como por ejemplo la proteína de la soja, la proteína del trigo, la proteína del arroz, y la proteína de guisantes; mezclas de ácidos aminoácidos libres; o combinaciones de los mismos. Las proteínas de la leche como por ejemplo la caseína y el suero de leche de vaca, y las proteínas de la soja son particularmente preferidas. La composición puede contener también una fuente de hidratos de carbono y una fuente de grasas.

65 Si la fórmula incluye una fuente de grasas además del DHA, la fuente de grasas proporciona de preferencia desde un 5% hasta un 40% de la energía de la fórmula; por ejemplo desde un 20% hasta un 30% de la energía. Un perfil

de grasa adecuado puede obtenerse empleando una mezcla de aceite de canola, aceite de maíz y aceite de girasol con un alto contenido de ácido oleico.

Puede añadirse a la fórmula una fuente de hidratos de carbono. Este proporciona de preferencia, desde un 40% hasta un 80% de la energía de la fórmula. Puede emplearse cualquier hidrato de carbono adecuado, por ejemplo la sacarosa, la lactosa, la glucosa, la fructosa, los sólidos del jarabe de maíz, la maltodextrina, y mezclas de los mismos. Puede también añadirse fibra dietética si se desea. La fibra dietética pasa a través del intestino delgado sin digerir por las enzimas, y funciona como un agente de carga natural y laxante. La fibra dietética puede ser soluble o insoluble y en general se prefiere una mezcla de los dos tipos. Las fuentes adecuadas de fibra dietética incluyen la soja, el guisante, la avena, la pectina, la goma guar, la goma arábiga, los fructooligosacáridos, los galactooligosacáridos, la sialil-lactosa y los oligosacáridos derivados de leches animales. Una mezcla de fibra preferida es una mezcla de inulina con fructo-oligosacáridos de cadena corta. De preferencia, si la fibra está presente, el contenido en fibra está entre 2 y 40 g/litro de la fórmula consumida, con mayor preferencia entre 4 y 10 g/litro.

La fórmula puede contener también minerales y micronutrientes como por ejemplo trazas de elementos y vitaminas de acuerdo con las recomendaciones de los organismos gubernamentales como por ejemplo la USRDA. Por ejemplo, la fórmula puede contener por dosis diaria uno o más de los siguientes micronutrientes en los márgenes siguientes: desde 300 hasta 500 mg de calcio, desde 50 hasta 100 mg de magnesio, desde 150 hasta 250 mg de fósforo, desde 5 hasta 20 mg de hierro, desde 1 hasta 7 mg de zinc, desde 0,1 hasta 0,3 mg de cobre, desde 50 hasta 200 de yodo, desde 5 hasta 15 de selenio, desde 1000 hasta 3000 µg de betacaroteno, desde 10 hasta 80 mg de vitamina C, desde 1 hasta 2 mg de vitamina B1, desde 0,5 hasta 1,5 mg de vitamina B6, desde 0,5 hasta 2 mg de vitamina B2, desde 5 hasta 18 mg de niacina, desde 0,5 hasta 2,0 µg de vitamina B12, desde 100 hasta 800 µg de ácido fólico, desde 30 hasta 70 µg de biotina, desde 1 hasta 5 µg de vitamina D, desde 3 hasta 10 UI de vitamina E.

Pueden incorporarse uno o más emulsionantes de calidad alimenticia a la fórmula, si se desea; por ejemplo, los ésteres del ácido diacetiltartárico de mono y diglicéridos, lecitina y mono- y di-glicéridos. De manera similar pueden incluirse sales y estabilizantes adecuados.

La fórmula se administra de preferencia por vía entérica; por ejemplo en forma de un polvo, el cual puede ser reconstituido con leche o agua.

Alternativamente, o en el caso de recién nacidos que no son alimentados con leche materna, el probiótico puede administrarse como un suplemento, por ejemplo como una dosis diaria de 10^9 cfu, disuelto en agua y administrado en una cuchara.

Para los recién nacidos que no se alimentan con leche materna, las bacterias probióticas pueden administrarse convenientemente en una fórmula para recién nacidos.

Una fórmula para recién nacidos para emplear de acuerdo con lo presente invención puede contener una fuente de proteínas en una cantidad no superior a los 2,0 g/100 kcal, de preferencia 1,8 a 2,0 g/100 kcal. El tipo de proteína empleado no se cree que sea crítico para la presente invención siempre que se satisfagan las necesidades mínimas del contenido esencial de aminoácidos y se asegure un crecimiento satisfactorio, aunque es preferible que, por encima del 50% en peso de la fuente de proteínas, sea suero de leche de vaca. Así, las fuentes de proteína a base de suero de leche de vaca, caseína, y mezclas de los mismos, pueden emplearse también como fuentes de proteínas a base de soja. Por lo que se refiere a las proteínas de suero de leche de vaca, la fuente de proteínas puede ser el suero ácido de leche de vaca o el suero dulce de leche de vaca o mezclas de los mismos y puede incluir alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina en cualesquiera proporciones que se desee.

Las proteínas pueden ser intactas o pueden ser hidrolizadas o pueden ser una mezcla de proteínas intactas e hidrolizadas. Puede ser deseable suministrar proteínas parcialmente hidrolizadas (grado de hidrólisis entre 2 y 20%), por ejemplo, para recién nacidos, los cuales se sospecha que están en riesgo de desarrollar alergia a la leche de vaca. Si las proteínas hidrolizadas son necesarias, el proceso de hidrólisis puede efectuarse cuando se desee y es ya conocido en la técnica. Por ejemplo, puede prepararse un hidrolizado de proteína de suero de leche de vaca mediante la hidrólisis enzimática de la fracción de suero de leche de vaca en uno o más pasos. Si la fracción de suero de leche de vaca empleada como material de partida está substancialmente libre de lactosa, se ha descubierto que la proteína sufre mucho menos el bloqueo de la lisina durante el proceso de hidrólisis. Esto permite que el grado de bloqueo de la lisina se reduzca desde aproximadamente un 15% en peso del total de la lisina a menos de aproximadamente un 10% en peso de la lisina, por ejemplo alrededor del 7% en peso de lisina, lo cual mejora en gran manera la calidad nutritiva de la fuente de proteínas.

La fórmula para recién nacidos puede contener una fuente de hidratos de carbono. Puede emplearse cualquier fuente de hidratos de carbono convencionalmente empleada en las fórmulas para recién nacidos, como la lactosa, la sacarosa, la maltodextrina, el almidón y mezclas de los mismos, aunque la fuente preferida de hidratos de carbono es la lactosa. De preferencia, las fuentes de hidratos de carbono contribuyen entre un 35 y un 65% al total de energía de la fórmula.

La fórmula para recién nacidos puede contener una fuente de lípidos. La fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa que sea conveniente para emplear en las fórmulas para recién nacidos. Las fuentes preferidas de grasa incluyen la oleína de palma, el aceite de girasol rico en oleico y el aceite de cártamo rico en oleico. Los ácidos grasos esenciales como por ejemplo el ácido linoleico y el ácido α -linolénico, puede añadirse también, así como también pequeñas cantidades de aceites que contienen altas cantidades de ácido araquidónico preformado y ácido docosahexaenoico como por ejemplo, los aceites de pescado o los aceites microbianos. En total, el contenido en grasa está de preferencia entre un 30 y un 55% de la energía total de la fórmula. La fuente de grasas tiene de preferencia un ratio entre los ácidos grasos n-6 y los ácidos grasos n-3, desde aproximadamente 5:1 hasta aproximadamente 15:1; por ejemplo, desde aproximadamente 8 : 1 hasta aproximadamente 10:1.

La fórmula para recién nacidos puede contener también todas las vitaminas y minerales que se entiende son esenciales en la dieta diaria y en cantidades nutritivamente significativas. Se han establecido unas mínimas necesidades para ciertas vitaminas y minerales. Ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes opcionalmente presentes en la fórmula para recién nacidos incluyen la vitamina A, la vitamina B1, la vitamina B2, la vitamina B6, la vitamina B12, la vitamina E, la vitamina K, la vitamina C, la vitamina D, el ácido fólico, el inositol, la niacina, la biotina, el ácido pantoténico, la colina, el calcio, el fósforo, el yodo, el hierro, el magnesio, el cobre, el zinc, el manganeso, el cloruro, el potasio, el sodio, el selenio, el cromo, el molibdeno, la taurina y la L-carnitina. Los minerales se añaden habitualmente en forma de sal. La presencia y las cantidades de minerales específicos y otras vitaminas variarán en función de la población de recién nacidos prevista.

Si es necesario, la fórmula para recién nacidos puede contener emulsionantes y estabilizantes, como por ejemplo, la lecitina de soja, los ésteres del ácido cítrico de mono y diglicéridos, y similares.

La fórmula para recién nacidos puede contener opcionalmente otras sustancias que pueden tener un efecto beneficioso, como por ejemplo, las fibras, la lactoferrina, los nucleótidos, los nucleósidos, y similares.

Tanto la fórmula para recién nacidos así como la fórmula nutritiva descrita más arriba pueden prepararse de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, se pueden preparar mezclando juntamente la proteína, la fuente de hidratos de carbono y la fuente de grasas en proporciones apropiadas. Si se emplean, los emulsionantes pueden ser incluidos en este momento. Las vitaminas y minerales pueden añadirse en este momento pero se añaden habitualmente más tarde para evitar la degradación térmica. Cualesquiera vitaminas lipofílicas, emulsionantes y similares pueden disolverse en la fuente de grasas antes de la mezcla. El agua, de preferencia agua que ha sido sometida a la ósmosis inversa, puede mezclarse a continuación en forma de una mezcla líquida. La temperatura del agua es convenientemente aproximadamente de 50 °C a aproximadamente 80 °C para ayudar a la dispersión de los ingredientes. Pueden emplearse licuefactores comercialmente asequibles para formar la mezcla líquida. La mezcla líquida se homogeneiza a continuación; por ejemplo en dos etapas.

La mezcla líquida puede a continuación, tratarse térmicamente para reducir la carga bacteriana, tratando rápidamente la mezcla líquida a una temperatura en el margen de aproximadamente 80 °C hasta aproximadamente 150 °C durante aproximadamente 5 segundos hasta aproximadamente 5 minutos, por ejemplo. Esto puede ser efectuado mediante inyección de vapor, en autoclave o mediante un intercambiador de calor, por ejemplo un intercambiador térmico de placa.

A continuación, la mezcla líquida puede enfriarse hasta aproximadamente 60 °C hasta aproximadamente 85 °C; por ejemplo, mediante un enfriamiento flash. La mezcla líquida puede a continuación homogeneizarse de nuevo; por ejemplo en dos etapas, desde aproximadamente 10 MPa hasta aproximadamente 30 MPa, en la primera etapa y aproximadamente desde 2 MPa hasta aproximadamente 10MPa, en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada puede a continuación, enfriarse de nuevo para añadir cualquier componente sensible al calor como por ejemplo las vitaminas y los minerales. El pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada se ajusta convenientemente en este momento.

La mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado adecuado, como por ejemplo, un secador por pulverización o un secador por congelación y es convertido en polvo. El polvo debe tener un contenido en humedad inferior a aproximadamente un 15% en peso.

Las bacterias probióticas pueden cultivarse de acuerdo con cualquier método adecuado y prepararse para la adición a la fórmula nutritiva o de recién nacidos mediante secado por congelación o secado por pulverización por ejemplo. Alternativamente, las preparaciones bacterianas pueden ser adquiridas en suministradores especialistas como por ejemplo en la firma Morinaga y Valio ya preparadas en una forma adecuada para ser añadidas a los productos alimenticios como por ejemplo las fórmulas nutritivas y las fórmulas para recién nacidos. Las bacterias probióticas pueden añadirse a la fórmula en una cantidad entre 10^9 y 10^{12} cfu/g de polvo con mayor preferencia.

La invención puede ahora ilustrarse más, con referencia a los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1

A continuación se facilita un ejemplo de la composición de una fórmula para recién nacidos adecuada para ser empleada en la presente invención:

Nutriente	Por 100 kcal	Por litro
Energía (kcal)	100	670
Proteína (g)	1,83	12,3
Grasa (g)	5,3	35,7
Ácido linoleico (g)	0,79	5,3
Ácido α -linolénico (mg)	101	675
Lactosa (g)	11,2	74,7
Minerales (g)	0,37	2,5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn (μ g)	8	50
Se (μ g)	2	13
Vitamina A (μ g RE)	105	700
Vitamina D (μ g)	1,5	10
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,4
Vitamina K1 (μ g)	8	54
Vitamina C (mg)	10	67
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)	0,15	1,0
Niacina (mg)	1	6,7
Vitamina B6 (mg)	0,075	0,50
Acido fólico (μ g)	9	60
Acido pantoténico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 (μ g)	0,3	2
Biotina (μ g)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
Y (μ g)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5
<i>L. rhamnosus</i> ATCC 53103	2.10 ⁷ cfu/g de polvo, bacterias vivas	
<i>B. longum</i> ATCC BAA-999	2.10 ⁷ cfu/g de polvo, bacterias vivas	

5 Ejemplo 2

284 recién nacidos sanos, de hasta 14 días de edad, cuyas madres habían elegido la alimentación no con leche materna, fueron enrolados en un total de cinco lugares de estudio en Francia y randomizados en uno de cuatro grupos de estudio en un estudio prospectivo doble ciego.

10 El primer grupo estaba formado por 70 recién nacidos que recibieron una fórmula para recién nacidos (adquirible comercialmente como Nestlé NAN ® fórmula de partida) conteniendo 2.10⁷ cfu/g de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 y 2. 10⁷ cfu/g de *Bifidobacterium longum* ATCC BA-999).

15 El segundo grupo estaba formado por 70 recién nacidos que recibieron la misma fórmula para recién nacidos con los mismos probióticos y una mezcla de fibras prebióticas (10% de fructo-oligosacáridos de cadena corta, 90% de galactooligosacáridos) a 4 g por litro de fórmula preparada.

20 El tercer grupo estaba formado por 74 recién nacidos que recibieron la misma fórmula para recién nacidos con las mismas fibras prebióticas y 2. 10⁷ cfu/g de *Lactobacillus casei* CNCM I-2116 y 2. 10⁷ cfu/g de *Bifidobacterium longum* ATCC BA-999) de probióticos.

El cuarto grupo (grupo de control) recibió solamente la fórmula para recién nacidos sin suplementar.

25 Todos los grupos se alimentaron exclusivamente con su fórmula asignada hasta la edad de 16 semanas. Se registró el peso a la edad de 16 semanas, la longitud en posición reclinada y la circunferencia de la cabeza. Se abrió un diario para cada recién nacido para registrar la producción de heces, la flatulencia, la producción de saliva, los vómitos, la frecuencia y duración de los cólicos, la frecuencia de los episodios de morbilidad (número de visitas de

profesionales del cuidado de la salud, otras enfermedades). Se efectuó un seguimiento de los individuos hasta los 12 meses de edad. Se encontró que los recién nacidos del primer grupo habían tenido una incidencia estadísticamente menor de un año de diarrea que los recién nacidos de los grupos dos a cuatro ($OR = 0,22$, $95\%CI = [0,07, 0,69]$, $p = 0,027$), especialmente durante el período desde los 4 hasta los 12 meses de edad.

REIVINDICACIONES

- 5 1. El empleo de un probiótico *Lactobacillus rhamnosus* y de un probiótico *Bifidobacterium longum* en la preparación de un medicamento o composición terapéutica nutritiva para la administración a un recién nacido durante por lo menos los primeros tres meses de vida para la profilaxis a largo plazo de la diarrea, en donde el probiótico *Bifidobacterium longum* es el *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999.
- 10 2. El empleo de la reivindicación 1, en donde el probiótico *Lactobacillus rhamnosus* es el *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 ó el *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1. 3724.
- 15 3. El empleo de la reivindicación 1, en donde el medicamento o composición nutritiva terapéutica se administra al recién nacido durante los primeros 4 a 6 meses de vida.
4. El empleo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el probiótico se administra al recién nacido por vía de la alimentación con leche materna.
- 20 5. El empleo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la composición nutritiva terapéutica es una fórmula para recién nacidos.
6. El empleo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el medicamento comprende un total entre 10^5 y 10^{11} cfu de bacterias probióticas por dosis diaria.
7. El empleo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición nutritiva terapéutica comprende un total entre 10^3 y 10^{12} cfu de bacterias probióticas por gramo de composición (peso seco)