

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 612 464**

51 Int. Cl.:

A23L 29/244	(2006.01) C08L 3/02	(2006.01)
A23L 29/30	(2006.01) A23K 10/18	(2006.01)
A23L 33/10	(2006.01) A23K 20/163	(2006.01)
A23L 33/21	(2006.01) A23K 50/40	(2006.01)
A61K 31/715	(2006.01) A23K 50/00	(2006.01)
A61K 31/721	(2006.01) A61K 31/733	(2006.01)
A61K 35/748	(2015.01) C12N 1/12	(2006.01)
A61K 36/02	(2006.01) A61K 36/06	(2006.01)
C12N 1/16	(2006.01)	
C08L 5/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2009 PCT/FR2009/051446**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2010 WO10007332**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2009 E 09737089 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.11.2016 EP 2306847**

54 Título: **Composición de maltodextrinas ramificadas y de organismos eucariotas dotados de una pared polisacáridica utilizadas en el campo del bienestar**

30 Prioridad:

18.07.2008 FR 0854924

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.05.2017

73 Titular/es:

**ROQUETTE FRERES (100.0%)
62136 Lestrem, FR**

72 Inventor/es:

**DEREMAUX, LAËTITIA y
WILS, DANIEL**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 612 464 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

Composición de maltodextrinas ramificadas y de organismos eucariotas dotados de una pared polisacáridica utilizadas en el campo del bienestar

5 La presente invención se refiere a la utilización en combinación de maltodextrinas ramificadas y de al menos un organismo eucariota dotado de una pared polisacáridica en el campo del bienestar, en la complementación alimentaria, en la mejora de la digestión y de la salud de los animales no rumiantes.

Debido a sus costumbres alimentarias comunes, la flora intestinal de los animales no rumiantes, a saber de los animales carnívoros y omnívoros, está compuesta de cepas bacterianas de los mismos géneros. Más allá, esta flora evoluciona en función de la edad y del régimen alimentario del hospedante. En el ser humano, el tracto gastrointestinal está constituido de un ecosistema microbiano complejo (de 10^{13} a 10^{15} bacterias/g), con un predominio de Bacteroides, de Bifidobacterias y de Eubacterias. Los microorganismos forman una flora intestinal que ejerce numerosas funciones bioquímicas y fisiológicas, en particular (i) un complemento de la fermentación de los nutrientes, (ii) un efecto de barrera para proteger el sistema digestivo contra las bacterias patógenas, (iii) una estimulación en el desarrollo del sistema inmunitario.

15 Esta flora intestinal está constituida de más de 500 especies diferentes conocidas. Los miembros del género *Bacteroides* representan del 25% al 60% de la población bacteriana en el intestino del ser humano adulto (MOORE W-E-C., 1978) (FINEGOLD S-M., 1983).

La técnica anterior describe que unas actividades glicanasas estarían codificadas por algunas cepas que colonizan la mucosa intestinal.

20 *Bacteroides thetaiotaomicron* codificaría para 172 glicosidrolasas, *Bifidobacterium longum* sólo cuenta con 39. Sin embargo, *in vitro*, sólo se ha descrito la expresión de algunas enzimas. Además, esta expresión sería inducible (Salysers AA *et al.*, 1977, Kopecný J, *et al.*, 2004; Robert C. *et al.*, 2007).

Así, la inducción de la flora intestinal se puede poner en evidencia por la medición de estas actividades glicolíticas tales como, en particular, unas α y β glucosidasas, β galactosidasas, β galactosidasa, cellobiohidrolasa y β -xilosidasa (MARTEAU pH *et al.*, 1990).

Las maltodextrinas ramificadas según la invención son unas fibras no digeribles solubles en agua. Son, en efecto, no hidrolizables por las enzimas sintetizadas por los animales no rumiantes, a saber los carnívoros y omnívoros y son fermentables, es decir, que son fermentadas por la flora bacteriana intestinal del hospedante, a saber los animales carnívoros u omnívoros. La fermentación libera unos ácidos grasos de cadenas cortas en el colon, que tienen por efecto disminuir el pH del medio cólico, y por lo tanto limitar el desarrollo de bacterias patógenas.

Las fibras contenidas en las maltodextrinas ramificadas se pueden determinar según el método AOAC 2001.03.

Los vegetales tienen una pared celular pectocelulósica compuesta de celulosa, de hemicelulosa, de xilanos, de mananos y de proteínas, así como de lignina en numerosos casos. Las algas y en particular las microalgas eucariotas que representan una clase particular de vegetales, comprenden en su pared, además de celulosa, unos copolímeros celulosa/mananos, quitosano y quitina.

La pared celular de los hongos está, por su parte, compuesta principalmente de quitina, mientras que la pared de algunos hongos unicelulares, tales como las levaduras, se parece a algunos vegetales ya que comprende unos glucanos y unos mananos.

40 Las paredes polisacáridicas de las microalgas eucariotas son insolubles y son poco fermentadas por la flora intestinal de los animales no rumiantes. Por lo tanto no son digeribles por los omnívoros y los carnívoros tales como los mamíferos y, en particular, los seres humanos.

Las paredes polisacáridicas de las células eucariotas se oponen a las de los procariotas, a saber unas bacterias o unas cianobacterias que están constituidas de peptidoglicanos de estructuras y de propiedades totalmente distintas.

45 Entre los vegetales, se describen: las algas, los líquenes y las plantas superiores. Por plantas superiores, se entiende "plantas de tallo" o Cormofitos. Los hongos, tales como por ejemplo las levaduras, no están considerados como vegetales pero comprenden, al igual que éstos, una pared polisacáridica.

Los vegetales y los hongos uni- o pluricelulares constituyen al mismo tiempo un potencial nutricional importante así como una fuente de agentes antioxidantes tales como la luteína, el selenio, los carotenoides o la clorofila para los vegetales.

50 Sin embargo, debido a la baja digestibilidad de sus paredes polisacáridicas para los omnívoros, los carnívoros y en particular para el ser humano, sólo se libera una baja proporción de estos nutrimentos o agentes antioxidantes en el lumen del intestino.

Así, una parte consecuente de las aportaciones nutritivas de los vegetales y de los hongos no se libera y por lo tanto no se absorbe durante la digestión. Este problema toma otra importancia en el caso de una alimentación mayoritariamente, incluso exclusivamente, vegetal.

5 A pesar de que constituye una fuente de nutrientes importante, algunos vegetales se consumen muy raramente, como es el caso de las algas. Se distinguen en las algas, las macroalgas y las microalgas.

Las macroalgas, ya sean Clorofitos, Cromofitos o Rodofitos, son conocidas por su riqueza en antioxidantes y antirradicales, tales como los carotenoides, los polifenoles, las vitaminas o los ácidos grasos poliinsaturados. En lo que se refiere a los polifenoles por ejemplo, algunas macroalgas tales como las algas marrones (Cromofitos) y en particular los fucas, comprenden unos contenidos en polifenoles que pueden alcanzar el 15% de la materia seca.

10 Las microalgas y en particular las viridiplantae, las labirintulidas, las haptofitas, las rodofitas y los alveolatos representan un amplio grupo potencialmente proveedor de compuestos que tienen unas actividades biológicas valiosas, tales como las proteínas cuya riqueza puede ir hasta el 70% en masa seca de microalgas. Se pueden citar también las vitaminas, en particular las vitaminas A, B1, B2, B6, B12, C, E, el ácido fólico o el ácido pantoténico, o los pigmentos susceptibles de tener un efecto positivo sobre la salud, tal como un efecto anti-oxidante para la clorofila, los carotenoides o las ficobiliproteínas.

15 Las ficobiliproteínas son unos pigmentos hidrosolubles de la fotosíntesis. Se encuentran en las ficobilisomas, en las rodofíceas, así como libres en el lumen de los tilacoides en las criptofíceas.

20 Se puede citar la ficocianina, cuya actividad antioxidante sería seis veces más importante que un compuesto antioxidante de referencia tal como el TROLOX[®] (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) y 20 veces superior a la del ácido ascórbico o de la vitamina C.

Por las razones anteriores, los vegetales así como los hongos se utilizan como elementos de elección para los complementos alimenticios. Sin embargo, para que sus metabolitos sean accesibles y asimilables, se recomienda generalmente una extracción por lisis celular.

25 Las técnicas clásicamente utilizadas son unas técnicas físicas por ebullición, método que presenta el inconveniente de degradar los constituyentes lábiles al calor, tales como las vitaminas por ejemplo.

30 Existen también unas técnicas químicas para la utilización de disolventes tales como el fenol, el ácido fórmico o la urea. El inconveniente de este último método es la eliminación del disolvente después de la lisis de las células y la necesidad de una verificación del carácter no tóxico de los lisados obtenidos. Esta toxicidad puede ser inducida por la presencia de compuestos procedentes de reacciones químicas no deseadas con el disolvente o inducidas por el disolvente.

35 Se puede considerar una lisis enzimática de las paredes de estos organismos eucariotas, pero impone unas condiciones estrictas, ya sea en la producción de las enzimas activas o en su purificación según el medio de producción seleccionado y el destino del producto final. Finalmente, la elección de las enzimas y la determinación de las condiciones de reacción óptimas pueden necesitar una realización laboriosa antes de obtener unas condiciones que permitan una reproductibilidad de la reacción.

Además, la lisis y la eliminación de las paredes celulares reducirían las propiedades de estas células eucariotas en la mejora de la salud y en particular en la lucha contra las enfermedades enteropatógenas.

40 En efecto, algunos vegetales o hongos unicelulares tales como las levaduras o las microalgas, se describen como teniendo unas propiedades beneficiosas frente a la salud intestinal. Así, serían particularmente aconsejadas en el tratamiento de los diferentes síndromes entéricos tales como las gastroenteritis infantiles o las diarreas. Así, su pared polisacáridica permitiría la adsorción de toxinas sintetizadas por las bacterias enteropatógenas. Esto se ha descrito para *Saccharomyces boulardii* y *Saccharomyces cerevisiae* para las toxinas sintetizadas por *Vibrio Cholerae*, *Clostridium difficile* o *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC).

45 Además, las levaduras como las microalgas estarían implicadas en la protección de la salud en general adsorbiendo unos xenobióticos tales como las micotoxinas, las dioxinas o los PBC. Más allá de la toxicidad inducida por la permeabilidad de la barrera intestinal a los xenobióticos, y a su paso en la sangre, estas toxinas estarían además implicadas en numerosas enfermedades intestinales debido a la agresión, al mismo tiempo, de la mucosa intestinal y de la flora.

50 La ingestión sin lisis previa de las levaduras o de las algas induce una protección del intestino frente a bacterias enteropatógenas y a xenobióticos. Sin embargo, en ausencia de lisis de estos organismos a lo largo del tracto, este efecto protector para la salud intestinal es menor en comparación con el potencial protector real de éstos.

En efecto, además del efecto inducido por su pared celular, estos microorganismos tales como las levaduras y más particularmente *Saccharomyces boulardii* o *Saccharomyces cerevisiae* serían capaces de expresar unos inhibidores dirigidos directamente contra unos agentes enteropatógenos, tales como *Vibrio cholerae*, *Clostridium difficile* o

Escherichia coli enteropatógeno (EPEC). Tales inhibidores pueden ser unas enzimas que lisan las toxinas o unas moléculas que inducen unos mecanismos de defensa uniéndose con unos receptores de las células intestinales. Otros microorganismos tales como las microalgas *Chlorella vulgaris*, *Chlorella saccharophila*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas reinhardtii* o *Dunaliella salina* serían capaces de expresar unos agentes antioxidantes, por ejemplo la superóxido dismutasa.

Sin embargo, la técnica anterior no describe un modo de administración de estos organismos eucariotas de pared polisacáridica contenidas en el bolo alimenticio o aportados en complemento que sea al mismo tiempo a) de obtención fácil, es decir sin preparación, purificación o extracción particular, b) que constituya una aportación en agentes nutricionales directamente asimilables y c) que induzcan un efecto protector para la salud de los animales carnívoros u omnívoros que sea de manera concomitante mejorado y de espectro más amplio (i) debido a propiedades de las paredes celulares que tiene al mismo tiempo (ii) una liberación masiva de enzimas protectoras activas o de agentes protectores no desnaturalizados o degradados por un paso previo en el estómago.

Con el fin de resolver estos diferentes problemas de la técnica anterior, la invención se refiere a una composición que comprende uno o varios organismos eucariotas de pared polisacáridica y una o varias maltodextrinas ramificadas.

Un efecto sinérgico de esta mezcla se ha puesto en evidencia (i) en la estimulación de la flora intestinal (ii) en la producción de enzimas por esta flora intestinal (iii) en la protección de la salud intestinal por la liberación masiva de agentes activos tales como, en particular, unos agentes antioxidantes o de inhibidores de agentes patógenos por la lisis del organismo eucariota de pared polisacáridica.

Los organismos eucariotas de pared polisacáridica solos no permiten tal aumento de la flora ni una liberación de su contenido intracelular. Asimismo, las maltodextrinas ramificadas solas no permiten tal aumento de la flora intestinal.

La utilización de maltodextrinas ramificadas asociadas a unos organismos eucariotas de pared polisacáridica permite obtener una mejora del bienestar intestinal aumentando la flora de un nivel superior a la simple utilización de maltodextrinas ramificadas o cualquier otra fibra no digerible soluble sola o en mezcla. Además, esta mezcla permite al mismo tiempo una aportación en nutrientes utilizables por la flora, manteniendo y exacerbando la inducción de su crecimiento, aportando al mismo tiempo unos agentes activos y unos agentes nutricionales asimilables por el intestino, debido a la misma liberación del contenido citoplásmico del organismo de pared polisacáridica.

La solicitante ha puesto en evidencia el efecto sinérgico de esta mezcla, tanto en el crecimiento de la flora como en la lisis de los organismos de pared polisacáridica. Así, según el organismo seleccionado, se puede determinar su efecto sobre la salud. Este efecto puede ser el resultado de una aportación de agentes antioxidantes tales como el selenio, la superóxido dismutasa, los carotenoides, las vitaminas, la clorofila o las ficobiliproteínas, o de una aportación de agentes desintoxicantes, antiinflamatorios, o inhibidores de la adhesión de agentes patógenos (bacterias, virus, parásitos). El efecto buscado puede ser simplemente un bienestar intestinal mediante un aumento de la flora, aumento superior al observado por la simple absorción de maltodextrinas ramificadas solas.

El carácter particularmente ventajoso de esta composición no reside en la simple adición de una maltodextrina ramificada soluble en un organismo eucariota de pared polisacáridica, y por lo tanto en la simple adición de los efectos de cada uno de los compuestos de la mezcla. De hecho, se trata de una verdadera cooperación entre estos dos compuestos de la mezcla, en la obtención de un efecto sinérgico en la inducción al mismo tiempo del crecimiento de la flora y de la expresión de enzimas glicolíticas. Este efecto es la consecuencia de dos efectos inesperados y consecutivos. El primero es la inducción de la expresión de enzimas glicolíticas dirigidas contra las paredes de las células eucariotas en cantidad suficiente para inducir una primera lisis de las células. El segundo efecto es sorprendente por que, mediante una aportación masiva de nutrientes y de residuos de paredes, las células lisadas exacerbaban al mismo tiempo el crecimiento de la flora y la inducción de la expresión de enzimas glicolíticas. De manera sorprendente, estas mismas enzimas serán responsables del mantenimiento de este fenómeno induciendo una lisis masiva de las células que han conservado su integridad.

Absorbidos solos, los organismos eucariotas de pared polisacáridica tales como, por ejemplo, las microalgas, los hongos o los vegetales, son considerados por la técnica anterior como no digeribles para el ser humano, así como para los demás animales omnívoros o carnívoros y por lo tanto poco o nada asimilables. Por lo tanto, no conllevan solos una estimulación de la síntesis de enzimas glicolíticas de la flora. Por el contrario, de manera sorprendente, la composición según la invención resuelve este problema y puede por lo tanto ser utilizada como complemento alimentario, ya que los nutrientes contenidos en los organismos eucariotas de pared polisacáridica son, según la invención, liberados en el lumen del intestino, y se vuelven por lo tanto disponibles para ser asimilados o activos frente a la flora o la mucosa intestinal. Un método para el mantenimiento y la mejora de la salud intestinal que comprende una etapa de absorción de la composición según la invención es eficaz, en particular frente a síndromes entéricos o cánceres relacionados con diversas agresiones de la flora o de la mucosa intestinal por unos agentes patógenos, unos radicales libres o unos xenobióticos. En efecto, el crecimiento de la flora observada es más elevada que con unas composiciones que comprenden únicamente unas maltodextrinas ramificadas. Esta composición puede ser indicada sola o en complemento en la prevención o el tratamiento de síndromes intestinales, de cánceres intestinales o de inflamaciones intestinales. Se pueden considerar también la toma de esta mezcla a fin de mejorar la

digestibilidad y por lo tanto la biodisponibilidad de los nutrimentos de origen vegetal ingeridos independientemente por un individuo.

Según una variante ventajosa, la composición según la invención comprende unas maltodextrinas ramificadas que presentan entre:

- 5 - el 15 y el 50% de uniones glucosídicas 1-6, preferiblemente entre el 22% y el 45%, más preferiblemente entre el 27 y el 34%,
- una cantidad en azúcares reductores inferior al 20%, preferiblemente comprendida entre el 2 y el 20%, más preferiblemente entre el 3 y el 16%, aún más preferiblemente entre el 3 y el 12%,
- 10 - un índice de polimolecularidad inferior a 5, preferiblemente comprendido entre 0,5 y 4, más preferiblemente entre 1 y 3,5, y
- una masa molecular media en número Mn inferior a 4500 g/mol, preferiblemente comprendida entre 600 y 4000 g/mol, más preferiblemente comprendida entre 1000 y 2700 g/mol.

15 Las uniones contenidas en estas fibras serían muy parecidas estructuralmente a las encontradas en las paredes celulares de las células eucariotas y podrían facilitar la inducción de la flora en la síntesis de enzimas dirigidas contra sus paredes. Los organismos eucariotas de pared polisacáridica son seleccionados entre las levaduras y las microalgas. El artículo de Bomba *et al.* British Journal of Nutrition vol 88, nº Supplement 1, 2002-09-01 p. S 95-S99 sugiere la mejora del efecto probiótico de bacterias (*Lactobacillus paracasei*) por el hecho de que estas bacterias utilizan para su desarrollo unas maltodextrinas particulares, las maltodextrinas KMS X-70.

20 No se hace referencia de ninguna manera en este documento a una composición que comprende uno o varios organismos eucariotas de pared polisacáridica seleccionados entre las levaduras o las microalgas.

El documento FR2884422 a nombre de la solicitante, divulga la utilización de maltodextrinas ramificadas, sin embargo no se menciona en este documento ninguna asociación con unas microalgas o levaduras como en la presente invención.

25 El documento WO 2006/112364A a nombre de DAINIPPON se refiere al cultivo de bacterias lácticas en un medio que contiene unas microalgas y, eventualmente unos GOS.

No se menciona de ninguna manera en este documento una composición que comprende al mismo tiempo al menos unas microalgas y al menos una maltodextrina ramificada, y aún menos a una composición que comprende al mismo tiempo al menos una levadura y al menos una maltodextrina ramificada.

30 Se ha puesto en evidencia un aumento de la producción por la flora intestinal de α -glucosidasa, de β glucosidasa, de β -galactosidasa, de esterasa de celobiohidrolasa y de β -xilosidasa tras la ingestión de la composición según la invención. Estas enzimas son unos marcadores de una inducción importante de la flora asociada a un aumento en masa de la flora, signo de un crecimiento concomitante de ésta. Así, la particularidad de la composición según la invención es la presencia de estos organismos que sirven al mismo tiempo de sustratos a las enzimas producidas y por lo tanto de inductores del crecimiento de la flora, pero también de inductores de la producción de enzimas glicolíticas en asociación con las maltodextrinas ramificadas. La composición según la invención permite inducir específicamente unas enzimas glicolíticas capaces de hidrolizar las paredes de las algas y de las levaduras. Por lo tanto, este amplio espectro de aplicación permite una capacidad de adaptación de la composición según la invención al efecto deseado, para llenar la carencia.

40 Según la presente invención, los organismos eucariotas de pared polisacáridica son unos organismos unicelulares. Entre los hongos, los organismos eucariotas unicelulares son, según la invención, las levaduras. Entre los vegetales, los organismos eucariotas unicelulares son, según la invención, las microalgas. Ventajosamente, las microalgas se seleccionan entre las viridiplantae, los labirintulidos, las haptofitas, las rodófitas y los alveolatos, y sus combinaciones, preferiblemente, la clorofita y los labirintulidos y su combinación, y aún más preferiblemente *chlorella*, *Scenedesmus*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* y sus combinaciones.

45 El efecto ventajoso de las microalgas está relacionado con su carácter unicelular y con su condición de cultivo relativamente fácil. Así, estos organismos son utilizables sin tratamiento previo, sin creación de desechos y en su totalidad. Por oposición a las plantas con tallos, toda la materia seca es utilizable: no hay partes no utilizables debido a una característica inherente a una diferenciación celular, a una especialización de un órgano o de una reducción de expresión de una proteína.

50 Según la invención, la lisis de las microalgas permite una liberación masiva de su contenido intracelular no observada en el caso de la utilización de las microalgas solas. Estas microalgas son particularmente indicadas por su capacidad para fijar unas toxinas, por su riqueza en anti-oxidantes, pero también en nutrimentos. Esta utilización permite por lo tanto optimizar el efecto observado durante la absorción sola del organismo eucariota de pared polisacáridica.

Estas microalgas son particularmente nutritivas por su riqueza en proteínas, en ácidos grasos poliinsaturados de tipo omega 3 de cadenas largas con respecto a los vegetales terrestres.

Según una segunda variante de la invención, los organismos eucariotas de pared polisacáridica son unas levaduras seleccionadas entre *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia*.

- 5 Estas levaduras son particularmente ventajosas por que son particularmente ricas en proteínas, en ácidos nucleicos y por que están implicadas en la mejora de la salud intestinal.

De manera preferida, la composición comprende una relación en peso de organismos eucariotas de pared polisacáridica/maltodextrinas ramificadas que va de 5/95 a 90/10, preferiblemente de 20/80 a 80/20 y más preferiblemente de 25/75 a 75/25.

- 10 De manera ventajosa, las maltodextrinas ramificadas pueden estar en mezcla con unas dextrinas, unos galacto-oligosacáridos (GOS), unos fructo-oligosacáridos (FOS), unos oligosacáridos oleaginosos o proteaginosos, fructano, inulina, polidextrosa, gluco-oligosacáridos, lactosacarosa, y sus mezclas.

- 15 De manera preferida, la composición según la invención comprende además un compuesto seleccionado del grupo que comprende las dextrinas, los galacto-oligosacáridos (GOS), los fructo-oligosacáridos (FOS), los oligosacáridos oleaginosos o proteaginosos, el fructano, la inulina, la polidextrosa, los gluco-oligosacáridos, la lactosacarosa y sus mezclas.

Las maltodextrinas ramificadas, más aún que las otras fibras no digeribles solubles, exacerban debido a sus uniones atípicas y variadas, una inducción de las diversas enzimas hidráulicas de la flora intestinal.

- 20 Entre los oligosacáridos solubles de origen oleaginoso o proteaginoso, se puede citar la soja, la colza o el guisante, cuyos oligosacáridos solubles son particularmente ventajosos debido a la presencia de uniones oligosacáridicas variadas.

- 25 En las asociaciones maltodextrinas ramificadas/organismos eucariotas de pared polisacáridica, los organismos eucariotas de pared polisacáridica preferidas son: entre las plantas, las microalgas tales como *Chlorella*, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* o sus mezclas; entre los hongos, las levaduras tales como *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia*.

- 30 A título ilustrativo, se administrará preferentemente del orden de 2 a 100 g de maltodextrinas ramificadas para 0,3 a 20 g de organismos eucariotas de pared polisacáridica por día para una persona, preferiblemente de 5 g a 20 g de maltodextrinas ramificadas para 1,5 g a 6 g de organismos eucariotas de pared polisacáridicas por día, para una relación en peso de organismos eucariotas de pared polisacáridica/maltodextrinas ramificadas que va de 5/95 a 90/10, preferiblemente de 20/80 a 80/20 y más preferiblemente de 25/75 a 75/25.

Según la invención, la composición comprende del 0,5 al 30%, preferentemente del 5 al 15% en peso seco de la combinación maltodextrinas ramificadas/organismos eucariotas de pared polisacáridica.

La administración oral puede ser puntual, para tratamiento de varios días o varias semanas, o ser crónica.

- 35 La composición según la invención está preferentemente en una forma seleccionada entre las formas sólidas, de polvo, de comprimido, de supositorio, líquida, de una emulsión o de un jarabe.

Ventajosamente, la composición conforme a la invención puede presentarse en forma lista para el uso, en forma sólida tal como, por ejemplo de polvo, de comprimido, de supositorio o también en forma líquida, de una emulsión o de un jarabe o en forma de bebida, como un zumo de frutas, una sopa, o también en forma de yogur o incorporado en los cereales del desayuno.

- 40 Las preparaciones para administración oral pueden comprender cualquier excipiente o vehículo habitual. Pueden consistir en polvos, granulados, soluciones u otros, y eventualmente incorporar otros principios medicinales o principios activos.

- 45 Ventajosamente, la composición conforme a la invención puede comprender además al menos un agente activo o un nutrimento destinado a la prevención y/o el tratamiento de síndromes intestinales tales como el síndrome de colon irritable, la diarrea del viajero, de inflamaciones intestinales, de enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, de cánceres intestinales, de enfermedades relacionadas con la alimentación, para la prevención de enfermedades relacionadas con la edad, a la complementación alimentaria, a la inducción de la flora intestinal, al aumento de la resistencia al esfuerzo, para la mejora de la digestibilidad de nutrimentos de origen vegetal, para la obtención de un efecto protector para la salud intestinal de un animal omnívoro o carnívoro.

- 50 Según otro aspecto de la presente invención, la composición según la presente invención se puede utilizar como medicamento.

5 Ventajosamente, la composición según la presente invención se puede utilizar para la prevención y/o el tratamiento de síndromes intestinales, tales como el síndrome del colon irritable, la diarrea del viajero, de inflamaciones intestinales, de enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, de cánceres intestinales, de enfermedades relacionadas con la alimentación, para la prevención de enfermedades relacionadas con la edad, para la complementación alimentaria, en particular en el caso de carencias, de un animal omnívoro o carnívoro.

Según otro aspecto de la presente invención, la composición según la presente invención se puede utilizar de manera no terapéutica para la inducción de la flora intestinal, para el aumento de la resistencia al esfuerzo, para la mejora de la digestibilidad de nutrimentos de origen vegetal, para la obtención de un efecto protector para la salud intestinal y para la complementación alimentaria, en un animal sano omnívoro o carnívoro.

10 Ventajosamente, la invención se refiere además a un método de liberación controlada y localizada de nutrimentos o de agentes activos en el colon de un animal omnívoro o carnívoro que comprende una flora intestinal, comprendiendo dicho método una etapa de ingestión concomitante o simultánea de maltodextrinas ramificadas y de organismos eucariotas de pared polisacáridica que contiene dichos nutrimentos o agentes activos. La ingestión de las maltodextrinas ramificadas y de los organismos eucariotas de pared polisacáridica induce la lisis de las paredes celulares de los organismos eucariotas de pared polisacáridica en el lumen del intestino del animal. Así, este método permite aumentar la digestibilidad de los organismos eucariotas de pared polisacáridica, potencializar sus efectos sobre la salud, aumentando al mismo tiempo su potencial nutricional.

De manera preferida, los organismos eucariotas de pared polisacáridica se modifican genéticamente o proceden de una selección.

20 Por agentes activos, se entienden unos agentes proteicos, glicánicos, bioquímicos o unos ácidos nucleicos que tienen un efecto beneficioso para la salud tales como unas enzimas o moléculas antioxidantes, unas enzimas o moléculas que tienen un efecto anti-inflamatorio o inhibidor para algunos microorganismos que sintetizan unos principios enteropatógenos, unas moléculas protectoras para la flora intestinal o la mucosa intestinal.

25 Por otro lado, la invención se refiere también a la utilización de al menos un organismo eucariota de pared polisacáridica en combinación con unas maltodextrinas ramificadas para inducir el crecimiento de la flora intestinal de un animal omnívoro o carnívoro y/o como complemento alimentario.

30 La invención se refiere también a un método para el mantenimiento y/o la mejora de la salud de un animal omnívoro o carnívoro que consiste en una primera etapa de administración de maltodextrinas ramificadas y una segunda etapa concomitante o separada de administración de al menos un organismo eucariota de pared polisacáridica seleccionado entre las levaduras y las microalgas.

La invención tiene también por objeto un método de complementación alimentaria de un animal omnívoro o carnívoro que comprende una primera etapa de administración de maltodextrinas ramificadas y una segunda etapa concomitante o separada de administración de organismos eucariotas de pared polisacáridica preferiblemente seleccionados entre los vegetales, los hongos y sus combinaciones.

35 La invención se refiere también a un kit para el tratamiento terapéutico o profiláctico de un animal omnívoro o carnívoro que comprende:

a) una primera composición según la invención; y

40 b) una segunda composición que comprende al menos un agente activo o un nutrimento, preferiblemente, dicho agente activo está destinado a la inducción de la flora intestinal, al mantenimiento de la salud, a la complementación alimentaria o a la prevención de enfermedades relacionadas con la edad de un animal omnívoro o carnívoro.

45 Dicha composición se puede utilizar en el hombre, pero también en el animal y más particularmente en el gato, el perro, el cerdo, el conejo o los otros animales que son sensibles a la inflamación intestinal, unos animales que presentan una disminución de su inmunidad, o unos animales cuya actividad o resistencia al esfuerzo necesita una aportación en nutrimentos tales como los caballos o los perros de carreras. Dicha composición se puede considerar como complemento alimenticio para unos animales criados fuera de su medio natural, tales como los peces por ejemplo.

50 Esta composición está propuesta para la complementación alimentaria para prevenir o para complementar el tratamiento de enfermedades relacionadas con la alimentación o con la edad, de síndromes metabólicos, de enfermedades inflamatorias crónicas del intestino (o MICI), de síndromes tales como el síndrome del colon irritable, para la prevención o el tratamiento de personas que padecen diarrea del viajero, de dolores abdominales cuya etiología es frecuentemente desconocida, de personas que sufren o están sujetas a carencias alimenticias, tales como vegetarianos o veganos, incluso personas mayores, personas con salud frágil o convalecientes.

Dicha composición es finalmente particularmente adecuada para los sujetos estresados cuyo estrés se manifiesta a nivel digestivo.

La invención se entenderá mejor a partir de la lectura de los ejemplos siguientes y que son ilustrativos y no limitativos.

Ejemplo 1:

5 Se estudia el efecto de diferentes fibras solubles o insolubles sobre las actividades glucosidasas de la flora intestinal en la rata de laboratorio. Las fibras solubles son unas maltodextrinas ramificadas según la invención, unos FOS y polidextrosa, las fibras insolubles son unas fibras de celulosa.

Las maltodextrinas ramificadas seleccionadas en este ejemplo presentan entre el 15 y el 35% de uniones glucosídicas 1→6, un contenido en azúcares reductores comprendido entre el 2 y el 5%, un índice de polimolecularidad inferior a 5 y una masa molecular media en número Mn comprendida entre 2000 y 3000 g/mol:

10

Azúcares reductores	2,3
Mn (g/mole)	2480
Mw (g/mole)	5160
Unión 1,2 (%)	10
Unión 1,3 (%)	12
Unión 1,4 (%)	49
Unión 1,6 (%)	29

Presentan además un porcentaje de fibras totales del 90% en seco, determinado según el método AOAC (nº 2001-03).

15 Se distribuyen 40 ratas OFA de origen Sprague Dawley en 4 grupos que reciben en su alimentación un régimen alimenticio cuyo detalle aparece en la tabla 1 siguiente.

El grupo 4 recibe una alimentación complementada por unos fructo-oligosacáridos ((FOS)(RAFTILOSE® P95 comercializado por la compañía ORAFTI).

Los grupos 5 y 6 reciben una alimentación complementada respectivamente por polidextrosa y celulosa.

Tabla 1

Lote	Alimento y producto ensayado
1	Alimento AO4C
2	Alimento AO4C + 10% glucosa
3	Alimento AO4C + 10% MDB
4	Alimento AO4C + 10% FOS
5	Alimento AO4C + 10% polidextrosa
6	Alimento AO4C + 10% celulosa

20

Después de una semana de aislamiento durante la cual los animales reciben una alimentación estándar y agua potable, las ratas consumen la comida durante 36 días.

A D₀, los animales se dejan en ayunas durante 24 horas. La bebida se da *ad libitum*. A D₁, se recogen las heces.

Se da a los animales el régimen descrito en la tabla 2.

25 A D₂₈, los animales se dejan en ayunas durante 24h. La bebida se da *ad libitum*.

A D₂₉, se recogen de nuevo las heces.

ES 2 612 464 T3

A D₃₆ se sacrifican los animales.

Se realiza una observación macroscópica general de los órganos. El ciego se liga y se extrae. Se pesan el ciego lleno, los contenidos cecales y el ciego vacío son pesados.

También se evalúan las actividades enzimáticas de las heces (α -glucosidasa y β -glucosidasa).

- 5 La tabla 2 reúne las actividades enzimáticas de las heces determinadas respectivamente a D₀ y a D₂₉.

Tabla 2

Lote	D ₀		D ₂₉	
	α -glucosidasa (Uabs/min/g de heces)	β -glucosidasa (Uabs/min/g de heces)	α -glucosidasa (Uabs/min/g de heces)	β -glucosidasa (Uabs/min/g de heces)
1	3,23 ± 1,17	4,40 ± 2,86	5,62 ± 1,24	6,08 ± 1,39
2	3,19 ± 1,72	3,86 ± 2,03	5,97 ± 2,60	6,74 ± 3,38
3	3,37 ± 1,85	2,55 ± 1,11	23,09 ± 7,29	24,21 ± 9,10
4	3,10 ± 1,37	2,94 ± 1,19	15,32 ± 3,91	9,94 ± 3,05
5	3,15 ± 1,67	2,64 ± 1,10	13,22 ± 4,03	10,02 ± 2,94
6	3,22 ± 1,64	3,55 ± 2,10	6,08 ± 2,02	6,68 ± 2,98

- 10 A D₀, las actividades de los lotes son idénticas al lote de control 1. A D₂₉, las actividades glucosidasas son muy fuertemente aumentadas por la administración del 10% de MDB. Se observa por el contrario un aumento más ligero para los animales que reciben el 10% de FOS o de povidexrosa. En el caso de la celulosa, no se observa ningún aumento significativo.

En efecto, se observan unos aumentos del 310% y del 298% para respectivamente la α -glucosidasa y la β -glucosidasa del lote que recibe MDB con respecto al lote control, mientras que los aumentos son sólo respectivamente del 172 y del 63% para el lote FOS y del 135% y del 64% para el lote povidexrosa.

- 15 Las MDB tienen unas características mucho más interesantes que los FOS o la povidexrosa y permiten una inducción de la actividad de las glucosidasas mucho más importante. Por el contrario, las fibras insolubles no tienen ninguna incidencia sobre la actividad glucosidasa.

Ejemplo 2:

- 20 El metabolismo de una microalga, la clórela y de un hongo, la levadura, se ha estudiado en la rata en comparación con una maltodextrina ramificada (MDB) y povidexrosa (POLY) durante 28 días. La MDB y la povidexrosa son idénticas a las del ejemplo anterior. En paralelo, las clórelas o levaduras se han asociado a la maltodextrina ramificada para estudiar los efectos de la asociación de un organismo eucariota de pared polisacáridica y de una fibra no digerible soluble.

- 25 Los productos ensayados son introducidos en un alimento estándar para ratas de laboratorio a razón de una dosis fija del 5%, solos o en mezcla con otro producto, según la tabla 3 presentada a continuación.

Tabla 3

Nº de lote	Productos ensayados
Lote 1 (control)	-
Lote 2 (C)	5% de clorellas
Lote 3 (MDB)	5% de MDB
Lote 4 (Y)	5% de levaduras
Lote 5 (MDB+C)	5% de MDB + 5% de clorellas
Lote 6 (MDB+Y)	5% de MDB + 5% de levaduras

ES 2 612 464 T3

Nº de lote	Productos ensayados
Lote 7 (POLY)	5% de POLY
Lote 8 (POLY+C)	5% de POLY + 5% de clorellas
Lote 9 (POLY+Y)	5% de POLY + 5% de levaduras

La chlorella testada es una *Chlorella Vulgaris*. La levadura testada es una *Saccharomyces Cerevisiae*.

Después de una semana de cuarentena durante la cual los animales reciben una alimentación estándar y agua potable, las ratas son aleatorizadas en base a su peso y asignadas a un lote de estudio.

- 5 Las ratas que participan en este estudio son unas ratas OFA origen Sprague-Dawley, machos. Su peso está comprendido entre 100 y 125 g a la recepción. Se acogen por 2 en jaulas Makrolon.

Durante el estudio, se evalúan diferentes parámetros: observación clínica, evolución ponderal, consumo de alimento, consumo de bebida.

- 10 A D-1 y D20, los animales se colocan individualmente en jaulas de metabolismo durante 24 horas. Durante este periodo, están en ayunas y reciben agua potable a voluntad.

A D0 y D21, se recogen las heces durante 24 horas. Se pesan húmedas e inmediatamente se congelan a -20°C. Se liofilizarán después por un periodo de 48 a 72 horas, se pesarán secas después de la liofilización y se triturarán. Los diferentes análisis se realizarán en las 24 horas sobre estas heces trituradas.

- 15 A D14, se recogen unas heces directamente a nivel del ano de los animales. Se recoge una cantidad mínima de 3 gramos por cada animal. Estas heces se pesan húmedas y después se congelan inmediatamente a -20°C en espera de ser analizadas.

- 20 En las heces liofilizadas (recogidas a D-1 y D20), las actividades enzimáticas de las α -glucosidasas, β -glucosidasas, β -galactosidasas, esterasas, celobiohidrolasas y β -xilosidasas son realizadas mediante el método espectrofotométrico. Los sustratos utilizados son respectivamente: p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido, p-nitrofenil- β -D-glucopiranosido, p-nitrofenil- β -D-galactopiranosido, p-nitrofenilacetato, p-nitrofenilcelobiosido, p-nitrofenil-xilopiranosido. Antes de cuantificar estas actividades enzimáticas, las enzimas son extraídas por una sucesión de etapas de agitación, de centrifugación, de lavado. Los resultados de actividades enzimáticas son expresados en unidad de absorbancia por minuto (u hora para las actividades celobiohidrolasas y β -xilosidasas) y por gramo de heces secas.

- 25 En las heces congeladas (recogidos a D14), la actividad antioxidante se realiza mediante el método de ensayo TEAC (Trolox Equivalent Antioxydante Capacity). El objetivo de este ensayo es generar un radical libre (ABTS•+ de color azul-verde) a partir de una mezcla de una solución de ABTS incoloro con persulfato de potasio. La decoloración de la esperanza radicalar por la reacción con los antioxidantes de las heces ensayadas permite determinar una capacidad antioxidante global. Esta decoloración va seguida de una espectrofotometría. Los resultados se expresan en porcentaje de inhibición TEAC con respecto a un control negativo que no conlleva la decoloración.

- 35 El análisis estadístico de los resultados se ha realizado mediante un ensayo de homogeneidad de las variancias (ensayo de Barlett) seguido de un análisis de la variancia por una ANOVA si el resultado era no significativo o un ensayo de Kruskal y Wallis y un ensayo de Mann y Withney si el resultado era significativo. Los lotes se han comparado entre sí y con respecto al lote control. Sólo las comparaciones siguientes estarán presentadas:

- Lote 1 (control) frente a todos los lotes
- Lote 5 (MDB+C) frente a Lote 2 (C)
- Lote 5 (MDB+C) frente a Lote 3 (MDB)
- Lote 6 (MDB+Y) frente a Lote 4 (Y)
- 40 - Lote 6 (MDB+Y) frente a Lote 3 (MDB)
- Lote 8 (POLY+C) frente a Lote 2 (C)
- Lote 8 (POLY+C) frente a Lote 7 (POLY)
- Lote 9 (POLY+Y) frente a Lote 4 (Y)

- Lote 9 (POLY+Y) frente a Lote 7 (POLY)

En las tablas, una cifra es anotada :, indica el lote frente al cual el resultado es significativo. Los símbolos T, *, **, *** indican el nivel de significatividad, respectivamente: tendencia, p<0,05, p<0,01, p<0,001.

5 Los resultados muestran que la evolución ponderal, el consumo de alimento y el consumo de bebida evolucionan de manera idéntica entre los lotes. No se ha observado ninguna observación clínica particular durante el estudio.

Los resultados de las actividades enzimáticas de las α -glucosidasas (α -Glc), β -glucosidasas (β -Glc), β -galactosidasas (β -Gal), esterasas, celobiohidrolasas (CBH) y β -xilosidasas (β -Xil) medidas a D0 se resumen en la tabla 4 siguiente:

Tabla 4

Lote	α -Glc	β -Glc	β -Gal	esterasas	CBH	β -Xil
1 control	6,6±1,4	9,2±2,5	28,2±7,8	121,3±33,0	158,8± 78,9	319,9± 95,5
2 C	7,7±1,8	9,1±2,9	28,0±7,7	121,6±33,6	127,9± 53,9	311,6± 61,6
3 MDB	7,1±1,5	9,2±2,8	26,0±7,9	110,9±27,2	156,7± 50,4	344,9± 122,1
4	7,5±2,	10,6±4,	27,7±6	114,4±21,	161,6±	360,6±
Y	0	2	,3	2	69,5	120,2
5 MDB+C	7,1±1,7	10,4±3,1	26,1±8,4	113,9±22,6	183,3± 100,3	398,2± 139,6
6 MDB+Y	6,5±0,8	7,6±3,0	23,4±7,9	103,6±28,8	90,9±4 8,8	250,3± 93,4
7 POLY	6,9±1,3	8,7±2,1	25,0±6,2	115,0±35,2	150,0± 53,9	302,1± 97,7
8 POLY+C	7,2±0,9	9,4±1,3	27,0±7,1	121±29,7	141,7± 50,9	315,7± 101,2
9 POLY+Y	7,4±1,5	9,1±2,3	28,0±7,9	111,3±27,9	125,1± 60,7	334,6± 115,5

10

El análisis estadístico de estos datos no muestra diferencias significativas entre los lotes. En principio de estudio a D0, los animales de los diferentes lotes tienen todos la misma línea de base en términos de actividades enzimáticas fecales. Los resultados de las actividades enzimáticas de las α -glucosidasas (α -Glc), β -glucosidasas (β -Glc), β -galactosidasas (β -Gal), esterasas, celobiohidrolasas (CBH) y β -xilosidasas (β -Xil) medidas a D21 se resumen en la tabla 5 siguiente.

15

Tabla 5

Lote	α -Glc	β -Glc	β -Gal	esterasas	CBH	β -Xil
1 control	6,7±1,4	9,3±3,1	27,5±10,4	111,5±24,2	170,2±66,1	332,6±129,2
stat	3***-4***-5***-6***-8** ^{-7*}	3***-4** ^{-5***-6***-7*-8***}	5***-6***-8***	5***-6***-8***	3** ^{-4***-5***-6***-7**^{-8**}}	4 ^{1-5***-6**^{-8*}}
2 C	6,7±2,4	11,5±4,4	22,7±4,5	99,2±18,8	191,0±66,0	245,5±71,3
stat	5***-8***	5***-8**	5***-8**	5***-8**	5***-8**	5***-8**
3 MDB	14,4±5,7	22,1±7,2	28,4±10,6	101,6±21,8	544,7±270,3	391,4±98,3
stat	1***-5 ^{1-6**}	1***-5*-6*-7**	5***-6***-8**	5***-6***-8**	1** ^{-5*-6**^{-8**}}	5*-6** ^{-8*}
4 Y	11,8±2,3	16,3±3,8	31,4±8,3	123,0±19,4	327,8±78,5	435,2±126,5
stat	1***-6***	1** ^{-6***}	6***	6**	1***-6***	1 ^{1-6*}
5 MDB+C	18,9±4,8	31,4±7,1	56,3±11,3	162,9±26,8	792,6±169,4	593,2±226,5
stat	1***-2***-3 ^{1-7*}	1***-2***-3*-7*-8*	1***-2***-3***-7** ^{-8^T}	1***-2***-3***-7***	1***-2***-3*-7*	1** ^{-2***-3*-7*}
6 MDB+Y	34,6±14,1	42,9±15,6	56,4±11,5	170,0±26,9	989,3±208,6	647,4±208,9

Lote	α -Glc	β -Glc	β -Gal	esterasas	CBH	β -Xil
<i>stat</i>	1***-3**-4***-7**	1***-3**-4***-7*	1***-3***-4***-7**	1***-3***-4**-7**	1***-3**-4***-7**	1**-3**-4*-7**
7 POLY	9,2±2,2	14,7±2,7	28,1±7,8	110,9±29,7	321,2±104,7	353,7±57,2
<i>stat</i>	1*-5*-6**-9*	1*-3**-5*-6*-8'-9'	5**-6**-8*	5***-8*-6**	1**-5*-6*-8*	5*-6*-8'-9'
8 POLY+C	15,2±3,7	26,2±5,4	44,7±3,4	145,8±28,7	521,3±93,5	501,9±74,3
<i>stat</i>	1**-2***	1***-2**-5*-7'	1***-2**-3**-5'-7*	1***-2**-3**-7*	1**-2**-3**-5*-7*	1*-2**-3*-7'
9 POLY+Y	16,4±3,5	27,7±7,2	43,1±4,1	140,7±33,3	601,7±111,1	500,7±54,7
<i>stat</i>	1**-7*	1**-4'-6*-7'	1***-3***-4**	1***-3***-4**-6*	1**-3**-4***-6**	1*-3**-4*-6*-7'

La tabla 6 siguiente representa el factor de multiplicación de las actividades enzimáticas de los diferentes lotes en comparación del lote 1 (control). El valor representa la relación: (actividad enzimática de un lote dado)/(actividad enzimática del lote control).

- 5 Un resultado superior a 1 muestra por lo tanto que la actividad enzimática del lote dado es superior a la actividad enzimática del lote control.

Tabla 6

Lote	α -Glc	β -Glc	β -Gal	esterasas	CBH	β -Xil
2 C	0	1,23	0,83	0,88	1,12	0,73
3 MDB	2,14	2,37	1,03	0,91	3,20	1,17
4 Y	1,76	1,75	1,14	1,10	1,92	1,30
5 MDB+C	2,82	3,37	2,04	1,46	4,65	1,78
6 MDB+Y	5,16	4,61	2,05	1,52	5,81	1,94
7 POLY	1,37	1,58	1,02	0,99	1,89	1,06
8 POLY+ C	2,27	2,81	1,62	1,31	3,06	1,51
9 POLY+ Y	2,45	2,98	1,57	1,26	3,54	1,51

- 10 La tabla 7 siguiente representa el factor de multiplicación de las actividades enzimáticas del lote "maltodextrina ramificada + chlorellas" en comparación con los lotes "maltodextrinas ramificadas" y "clórelas" o el factor de multiplicación del lote "polidextrosa + chlorellas" en comparación con los lotes "polidextrosa" y "chlorellas". El valor representa la relación: (actividad enzimática del lote "producto ensayado+chlorellas")/(actividad enzimática del lote "producto ensayado") o la relación (actividad enzimática del lote "producto ensayado + chlorellas")/(actividad enzimática del lote "chlorellas").

15

Tabla 7

Lote	α -Glc	β -Glc	β -Gal	Esterasas	CBH	β -Xil
(MDB+C)/ C	2,82	2,73	2,48	1,64	4,14	2,41
(MDB+C)/ MDB	1,31	1,42	1,98	1,60	1,45	1,51
(POLY+C) /C	2,27	2,28	1,97	1,47	2,73	2,04
(POLY+C) /POLY	1,65	1,78	1,59	1,31	1,62	1,42

5 La tabla 8 siguiente representa el factor de multiplicación de las actividades enzimáticas del lote “producto ensayado + levaduras” en comparación con los lotes “producto ensayado” y “levaduras”. El valor representa la relación: (actividad enzimática del lote “producto ensayado + levaduras”)/(actividad enzimática del lote “producto ensayado”) o la relación (actividad enzimática del lote “producto ensayado + levaduras”)/(actividad enzimática del lote “levaduras”).

Tabla 8

Lote	α -Glc	β -Glc	β -Gal	esterasas	CBH	β -Xil
(MDB+Y)/Y	2,40	1,94	1,98	1,67	1,81	1,65
(MDB+Y)/MDB	2,93	2,63	1,79	1,38	3,01	1,48
(POLY+Y)/Y	1,39	1,70	1,37	1,14	1,83	1,15
(POLY+Y)/POLY	1,78	1,88	1,53	1,27	1,87	1,42

10 Para las actividades α -glucosidasas β -glucosidasas y celobiohidrolasas, el análisis estadístico muestra que las actividades de todos los lotes, salvo el lote “chlorellas” aumentan significativamente con respecto al lote control. Excluyendo el lote “chlorellas”, el factor de multiplicación de las actividades está comprendido entre 1,37 y 5,16 (α -glucosidasas) entre 1,58 y 4,61 (β -glucosidasas) y entre 1,02 y 5,81 (celobiohidrolasas) con respecto al lote control.

15 Estas actividades son estadísticamente más importantes para el lote “maltodextrina ramificada + chlorellas” en comparación con el lote “maltodextrina ramificada” solo, o del lote “chlorellas” solo. Los factores de multiplicación son, respectivamente de 1,31-2,82 para α -glucosidasa, 1,42-2,73 para β -glucosidasa, 1,45-4,14 para celobiohidrolasa.

Asimismo, estas actividades son estadísticamente más importante para el lote “maltodextrina ramificada + levaduras” en comparación con el lote “maltodextrina ramificada” solo o del lote “levaduras” solo. Los factores de multiplicación son, respectivamente de 2,40-2,93 para α -glucosidasa, 1,94-2,63 para β -glucosidasa, 1,81-3,01 para celobiohidrolasa.

20 Para las actividades β -galactosidasas, esterasas y β -xilosidasas, los lotes “maltodextrina ramificada + chlorellas” y “maltodextrina ramificada + levaduras” ven sus actividades aumentar estadísticamente con respecto al lote control. Para estos dos lotes, el factor de multiplicación de las actividades es de 2,04/2,05 (β -galactosidasas), 1,46/1,52 (esterasas) y 1,78/1,94 (β -xilosidasas) con respecto al lote control.

25 Estas actividades son estadísticamente más importantes para el lote “maltodextrina ramificada + chlorellas” en comparación con el lote “maltodextrina ramificada” solo o del lote “chlorellas” solo. Los factores de multiplicación son, respectivamente de 1,98-2,48 para β -galactosidasa, 1,60-1,64 para esterasa, 1,51-2,41 para β -xilosidasa.

30 Asimismo, estas actividades son estadísticamente más importantes para el lote “maltodextrina ramificada + levaduras” en comparación con el lote “maltodextrina ramificada” solo o del lote “levaduras” solo. Los factores de multiplicación son, respectivamente, de 1,98-1,79 para la β -galactosidasa, 1,67-1,38 para la esterasa, 1,65-1,48 para la β -xilosidasa. El conjunto de los resultados está menos marcado para la polidextrosa ensayada sola o en mezcla con clórela o levaduras.

Con el fin de demostrar el efecto sinérgico de los productos y no el efecto acumulativo, la tabla 9 siguiente representa la diferencia de actividad enzimática calculada entre un lote dado y el lote control. En esta misma tabla, se han calculado los “resultados teóricos”:

35 - la actividad teórica del lote 5 representa la suma de la actividad obtenida para el lote 2 adicionada de la actividad del lote 3;

- la actividad teórica del lote 6 representa la suma de la actividad obtenida para el lote 3 adicionada de la actividad del lote 4;

40 - la actividad teórica del lote 8 representa la suma de la actividad obtenida para el lote 2 adicionada de la actividad del lote 7;

- la actividad teórica del lote 9 representa la suma de la actividad obtenida para el lote 7 adicionada de la actividad del lote 4.

La tabla 9 muestra claramente que, sea cual sea la actividad enzimática medida, las actividades obtenidas para los productos ensayados en mezcla son muy ampliamente superiores a las actividades enzimáticas teóricas calculadas.

ES 2 612 464 T3

Los efectos son por lo tanto unos efectos sinérgicos y no unos efectos aditivos.

Tabla 9

	α -Glc	β -Glc	β -Gal	esterasas	CBH	β -Xil
2	0	2,2	-4,8	-12,3	20,8	-87,1
C						
3	7,7	12,8	0,9	-9,9	374,5	58,8
MDB						
4	5,1	7,0	3,9	11,5	157,5	102,6
Y						
5	12,2	22,1	28,8	51,4	622,4	260, E
MDB+C						
5 teórico	7,7	15,0	-3,9	-22,2	395,3	-28,3
MDB+C						
6	27,9	33,6	28,9	58,5	819,1	314,8
MDB+Y						
6 teórico	12,8	19,8	4,8	1,6	532,1	161,4
MDB+Y						
7	2,5	5,4	1,0	-0,6	151,0	21,1
POLY						
8	8,5	16,9	17,2	34,3	351,1	169,3
POLY+C						
8	2,5	7,6	-3,8	-12,9	171,8	-66,0
teórico						
POLY+C						
9	9,7	18,4	15,6	29,2	431,5	168,1
POLY+Y						
9	7,6	12,4	4,9	10,9	308,5	123,7
teórico						
POLY+Y						

5 Con el fin de poner en evidencia la lisis celular de los microorganismos, se ha efectuado un análisis de un marcador intracelular. Por oposición a la levadura, la clórela se describe como conteniendo numerosos agentes antioxidantes tales como la clorofila y las vitaminas, por ejemplo. El estudio de este marcador específico de la lisis de la clórela en las heces, tanto en ratas que han ingerido clórela (lote 2 y 5) como levaduras (lote 4 y 6), permite distinguir la lisis de la clórela de cualquier otro efecto artefactual y no específico al organismo eucariota, clórela o levadura, asociado a la fibra.

10 Los resultados de las actividades antioxidantes de las heces medidas a D14 son resumidos en la tabla 10.

Tabla 10

Lote	% de inhibición
1	409,7±28,6
control	
<i>stat</i>	5***
2	413,9±37,6
C	
<i>stat</i>	5***
3	426,1±43,4
MDB	
<i>stat</i>	5**
4	380,6±23,6
Y	
<i>stat</i>	-
5	497,0±51,9
MDB+C	
<i>stat</i>	1***-2***-3**
6	419,5±30,5
MDB+Y	
<i>stat</i>	-
7	422,4±37,9
POLY	
<i>stat</i>	-
8	451,7±52,2
POLY+C	
<i>stat</i>	-
9	430,9±32,1
POLY+Y	
<i>stat</i>	-

5 La capacidad antioxidante de las heces de los animales del lote “maltodextrina ramificada + chlorellas” está estadísticamente aumentada con respecto al lote control, con respecto al lote “maltodextrina ramificada” y con respecto al lote “chlorellas”.

Los factores de multiplicación para el lote “maltodextrina ramificada + chlorellas” son de:

- 1,21 con respecto al lote control

- 1,20 con respecto al lote “chlorellas”

- 1,16 con respecto al lote “maltodextrina ramificada”. Los resultados obtenidos para la polidextrosa son claramente

menos acentuados.

Con el fin de demostrar el efecto sinérgico de los productos y no el efecto acumulativo, la tabla 11 siguiente representa la diferencia de capacidad antioxidante calculada entre un lote dado y el lote control. En esta misma tabla, se han calculado los "resultados teóricos":

- 5 - la actividad teórica del lote 5 representa la suma de la capacidad antioxidante obtenida para el lote 2 adicionada de la capacidad antioxidante del lote 3;
- la actividad teórica del lote 6 representa la suma de la capacidad antioxidante obtenida para el lote 3 adicionada de la capacidad antioxidante del lote 4.

Tabla 11

		% de inhibición
2	C	4,2
3	MDB	16,4
4	Y	-29,1
5	MDB+C	87,3
5 teórico	MDB+C	20,6
6	MDB+Y	9,8
6 teórico	MDB+Y	-12,7
7	POLY	12,7
8	POLY+C	42,0
8 teórico	POLY+C	16,9
9	POLY+Y	21,2
9 teórico	POLY+Y	-16,4

10 Esta tabla muestra claramente que la capacidad antioxidante obtenida para la mezcla maltodextrina ramificada y chlorellas es muy ampliamente superior a la capacidad antioxidante teórica calculada. Los efectos son por lo tanto unos efectos sinérgicos y no unos efectos aditivos. Esta observación no es válida para el lote MDB + Y.

15 Estos resultados muestran bien que la hidrólisis de la pared de la Chlorella permite la liberación de los antioxidantes mientras que no se observa para los animales que consumen Chlorella sola.

A fin de reforzar las observaciones efectuadas en MDB, se han ensayado otros MDB (tabla 12) y se han obtenido unos resultados similares.

Tabla 12

	MDB1	MDB2	MDB3
Mn (g/mole)	1189	1232	2504
Mw (g/mole)	3996	4004	4602
Mn/Mw	3,4	3,2	1,8
unión 1-6	33	32	31-35
Azúcares reductores	10,4	9,6	4,1

20 Estos resultados son extremadamente interesantes, ya que demuestran un efecto sinérgico y no aditivo, entre la maltodextrina ramificada y las chlorellas o levaduras. En el caso de la polidextrosa, se observa de la misma manera

5 un efecto sinérgico entre la povidexrosa y las chlorellas o levaduras. Sin embargo, permitiendo la povidexrosa una activación de las glucosidasas menos importante que las maltodextrinas ramificadas, el efecto global observado es menos intenso. Así, la solicitante ha mostrado mediante el estudio de las actividades enzimáticas en las heces de ratas, un efecto sinérgico de la mezcla de fibras solubles no digeribles y de organismos eucariotas de pared polisacáridica, sobre el crecimiento de la flora intestinal. La solicitante ha demostrado además, mediante el estudio de las actividades antioxidantes de las heces, un efecto sinérgico de la mezcla de fibras solubles no digeribles y de organismo eucariota de pared polisacáridica sobre la lisis de los organismos de pared polisacáridica. Según parece, las bacterias de la flora intestinal, tras la inducción debido a la ingestión de la mezcla, segregarían unas enzimas capaces de hidrolizar la pared de las chlorellas y de las levaduras liberando diversos compuestos, en particular 10 nitrogenados que favorecen el crecimiento de otras bacterias que ellas mismas producirán unas enzimas.

Salyers AA, Palmer JK, Wilkins TD. Laminarinase (beta-glucanase) activity in Bacteroides from the human colon. Appl Environ Microbiol. Mayo de 1977;33(5):1118-24.

Robert C, Chassard C, Lawson PA, Bernalier-Donadille A. Bacteroides cellulolyticus sp. nov., a cellulolytic bacterium from the human gut microbial community. Int J Syst Evol Microbiol. Julio de 2007;57(Pt 7):1516-20.

15 Kopečný J, Hajer J, Mrázek J. Detection of cellulolytic bacteria from the human colon. Folia Microbiol (Praha). 2004;49(2):175-7.

Marteau P, Pochart P, Flourié B, Pellier P, Santos L, Desjeux JF, Rambaud JC. Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum on metabolic activities of the colonic flora in humans. Am J Clin Nutr. Octubre de 1990;52(4):685-8.

20

REIVINDICACIONES

1. Composición, caracterizada por que comprende:
 - uno o varios organismos eucariotas de pared polisacáridica, seleccionado entre las levaduras y las microalgas, y
 - una o varias maltodextrinas ramificadas.
- 5 2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que las maltodextrinas ramificadas presentan entre:
 - el 15 y el 50% de uniones glucosídicas 1-6, preferiblemente entre el 22% y el 45%, más preferiblemente entre el 27 y el 34%,
 - un contenido en azúcares reductores inferior al 20%, preferiblemente comprendido entre el 2 y el 20%, más preferiblemente entre el 3 y el 16%, aún más preferiblemente entre el 3 y el 12%,
- 10 - un índice de polimolecularidad inferior a 5, preferiblemente comprendido entre 0,5 y 4, más preferiblemente entre 1 y 3,5, y
 - una masa molecular media en número Mn inferior a 4500 g/mol, preferiblemente comprendida entre 600 y 4000 g/mol, más preferiblemente comprendida entre 1000 y 2700 g/mol.
- 15 3. Composición según una u otra de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizada por que los organismos eucariotas de pared polisacáridica son unos organismos unicelulares.
 4. Composición según la reivindicación 3, caracterizada por que los organismos eucariotas unicelulares de pared polisacáridica son unas microalgas seleccionadas entre las *viridiplantae*, los labirintulidos, las haptofitas, las rodófitas y los alveolatos, o sus combinaciones, preferiblemente las clorofitas, los labirintulidos y sus mezclas.
 - 20 5. Composición según la reivindicación 4, caracterizada por que los organismos eucariotas unicelulares de pared polisacáridica son unas levaduras seleccionadas entre *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia*.
 6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que comprende una relación en peso organismos eucariotas de pared polisacáridica/maltodextrinas ramificadas que va de 5/95 a 90/10.
 - 25 7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que la composición comprende además un compuesto seleccionado del grupo que comprende las dextrinas, los galacto-oligosacáridos (GOS), los fructo-oligosacáridos (FOS), los oligosacáridos oleaginosos o proteaginosos, el fructano, la inulina, la polidextrosa, los gluco-oligosacáridos, la lactosacarosa, o sus mezclas.
 - 30 8. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que están en una forma seleccionada entre las formas sólida, de polvo, de comprimido, de supositorio, líquida, de una emulsión o de un jarabe.
 - 35 9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada por que comprende además al menos un agente activo o un nutrimento destinado a la prevención y/o al tratamiento de síndromes intestinales tales como el síndrome del colon irritable, la diarrea del viajero, de inflamaciones intestinales, de enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, de cánceres intestinales, de enfermedades relacionadas con la alimentación, a la prevención de enfermedades relacionadas con la edad, a la complementación alimentaria, a la inducción de la flora intestinal, al aumento de la resistencia al esfuerzo, a la mejora de la digestibilidad de nutrimentos de origen vegetal, a la obtención de un efecto protector para la salud intestinal de un animal omnívoro o carnívoro.
 - 40 10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para la utilización como medicamento.
 11. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para la utilización en la prevención y/o el tratamiento de síndromes intestinales tales como el síndrome del colon irritable, la diarrea del viajero, de inflamaciones intestinales, de enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, de cánceres intestinales, de enfermedades relacionadas con la alimentación, a la prevención de enfermedades relacionadas con la edad, a la complementación alimentaria, en particular en el caso de carencias, de un animal omnívoro o carnívoro.
 - 45 12. Utilización no terapéutica de la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para la inducción de la flora intestinal, el aumento de la resistencia al esfuerzo, la mejora de la digestibilidad de nutrimentos de origen vegetal, la obtención de un efecto protector para la salud intestinal y la complementación alimenticia, en un animal sano omnívoro o carnívoro.