

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 057**

51 Int. Cl.:

**A61P 1/12** (2006.01)

**A61K 35/74** (2015.01)

**A23L 33/00** (2006.01)

**A23L 33/135** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.01.2014** **PCT/CH2014/000006**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.07.2014** **WO2014110685**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.01.2014** **E 14700426 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2017** **EP 2945494**

54 Título: **Composición de alimento infantil que comprende bacterias viables productoras de ácido propiónico y bacterias viables productoras de ácido láctico**

30 Prioridad:

**21.01.2013 EP 13000283**

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

**27.06.2017**

73 Titular/es:

**ETH ZÜRICH (50.0%)**

**Rämistrasse 101**

**8092 Zürich, CH y**

**UNIVERSITÄT ZÜRICH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CHASSARD, CHRISTOPHE;**

**LACROIX, CHRISTOPHE y**

**BRAEGGER, CHRISTIAN**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 620 057 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 alimento infantil que comprende bacterias viables productoras de ácido propiónico y bacterias viables productoras de ácido láctico

5 La presente invención se refiere a composiciones, particularmente composiciones de alimentos infantiles, que comprenden bacterias viables productoras de ácido láctico de una o más cepas de bacterias vivas, y bacterias viables productoras de ácido propiónico que utilizan lactato de una o más cepas de bacterias vivas, a su fabricación y al uso en el tratamiento de enfermedades digestivas, particularmente para el tratamiento de cólicos infantiles (IC).

10 Es bien conocido que la leche humana procedente de madres sanas y bien alimentadas proporciona una nutrición adecuada para lactantes durante los primeros meses de vida, y también reduce significativamente el riesgo de enfermedades agudas y crónicas durante este período crítico de desarrollo. Para productos nutricionales para lactantes, la composición química de la leche humana sirvió como una guía para la formación de fórmulas para lactantes. En años recientes, resultados fisiológicos seleccionados han ganado aceptación a la hora de documentar la funcionalidad de nuevos ingredientes, incluyendo algunas entidades químicas no encontradas en la leche humana.

15 Callaghan et al (Infant Formulae, en: Encyclopedia of Dairy Sciences (2ª Ed), Editor: John W. Fuquay, Elsevier Ltd, p. 135-145, incorporado como referencia) resume las normativas que gobiernan la fabricación, composición y etiquetado de productos nutricionales para lactantes. Estas normativas aseguran la seguridad y eficiencia de los productos, pero también proporcionan limitaciones para nuevos productos nutricionales.

20 Hay comercialmente disponible un número de productos nutricionales para lactantes, que comprenden probióticos. Estos productos implican productores de lactato seleccionados (Bifidobacterium o Lactobacillus): Nestle Good start® suplementado con Bifidobacterium lactis; Lactogen 3® suplementado con Lactobacillus reuteri; Guigoz croissance 3® suplementado con Lactobacillus reuteri. Además, un número de documentos se refiere a productos nutricionales que comprenden bacterias y que tienen un uso terapéutico.

25 El documento WO2004/085628 describe bacterias que utilizan ácido láctico y su uso terapéutico, particularmente para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

El documento WO011/020780 describe composiciones nutricionales que comprenden cepas de lactococos y su uso terapéutico, particularmente para el tratamiento de síntomas de la alergia. El documento US2010/0166721 describe composiciones probióticas y, en términos muy generales, su uso como suplemento alimentario para la normalización de la flora gastrointestinal.

30 El documento EP1374878 describe métodos y composiciones para prevenir o aliviar síntomas de mala absorción del tubo digestivo.

El documento US2004/0062758 describe una combinación de probióticos y su uso para estimular el sistema inmunitario y para la mejora de la salud general.

35 El documento WO2012/059502 describe una composición en polvo a base de cereal que comprende microorganismos probióticos, y su uso para fortalecer el sistema inmunitario o el tratamiento de trastornos inflamatorios. El documento se refiere específicamente a microorganismos no replicantes. El documento US2012/0171166 describe una combinación simbiótica de oligosacáridos específicos para promover el crecimiento de microflora beneficiosa, y su uso para tratar trastornos gastrointestinales. El documento se refiere específicamente a bacterias productoras de butirato.

40 El documento US2007/0258953 describe composiciones probióticas que comprenden nuevas bacterias viables que utilizan ácido láctico, así como su uso como un medicamento.

El documento US2005/0180963 describe composiciones probióticas que comprenden nuevas propionibacterias viables, así como su uso en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales.

45 Ninguno de los documentos anteriores aborda el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos seleccionados del grupo que consiste en cólicos, malestar intestinal, dolor intestinal, sensibilidad visceral y retortijón intestinal, particularmente el tratamiento de cólicos infantiles. Incluso más, se cree que no hay un tratamiento establecido de los cólicos infantiles conocido actualmente. En consecuencia, existe una necesidad clínica no satisfecha.

50 De este modo, es un objeto de la presente invención abordar esta necesidad clínica y superar al menos algunos de estos inconvenientes del estado de la técnica. En particular, es un objeto de la presente invención proporcionar composiciones alimentarias/farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades digestivas, tales como IC, así como métodos para el tratamiento de los trastornos anteriores.

Estos objetivos se logran mediante la composición como se define en la reivindicación 1. Otros aspectos de la invención se describen en la memoria descriptiva y reivindicaciones independientes; las realizaciones preferidas se describen en la memoria descriptiva y las reivindicaciones dependientes.

La presente invención se describirá con más detalle a continuación. Se entiende que las diversas realizaciones, preferencias e intervalos como se proporcionan/describen en esta memoria descriptiva se pueden combinar a voluntad. Además, dependiendo de la realización específica, pueden no aplicarse definiciones, realizaciones o intervalos seleccionados.

5 Excepto que se establezca de otro modo, las siguientes definiciones se aplicarán en esta memoria descriptiva:

Como se usa aquí, se ha de interpretar que el término “un”, “una”, “el/la”, y términos similares usados en el contexto de la presente invención (específicamente en el contexto de las reivindicaciones) cubre tanto el singular como el plural excepto que se indique de otro modo aquí o se contradiga claramente por el contexto.

10 Como se usa aquí, las expresiones “que incluye”, “que contiene” y “que comprende” se usan aquí en su sentido abierto, no limitante.

El término “tratamiento” también debe incluir el retraso de la progresión así como la prevención (profilaxis).

15 Las expresiones “enfermedades digestivas” y “trastornos digestivos” son bien conocidas, y describen enfermedades/trastornos que pertenecen al tubo digestivo, particularmente el intestino. Se incluyen particularmente los cólicos infantiles (“IC”). Los criterios de diagnóstico para IC deben incluir todos los siguientes en lactantes desde el nacimiento hasta los 4 meses de edad: 1. Paroxismos de irritabilidad, desazón o llanto que comienza y se detiene sin causa obvia, 2. Episodios que duran 3 o más horas/día y que aparecen al menos 3 días/semanas durante al menos 1 semana, 3. No hay ganancia insuficiente de peso o pérdida de peso inapropiada. IC es también conocido como cólico del lactante, ICD-10: R10.4.

20 La expresión “bacterias productoras de ácido propiónico” se refiere a un grupo de bacterias que producen propionato como producto principal a partir del metabolismo del carbono.

25 La expresión “bacterias de ácido propiónico”, sinónima de “Propionibacteria”, es bien conocida y está aceptada en el campo; se nombran por su metabolismo único que conduce a ácido propiónico como producto final principal del metabolismo. Tales bacterias pueden fermentar un gran número de sustratos, incluyendo lactato. Los productos finales principales de la fermentación propiónica son ácidos propiónico, acético y succínico, y CO<sub>2</sub>. Los sustratos de azúcar (principalmente glucosa) se oxidan en primer lugar a piruvato vía glicolisis o vía la ruta de fosfato de pentosa, que genera ATP y coenzimas reducidas. El piruvato es catalizado posteriormente vía dos rutas principales, que producen propionato o acetato y CO<sub>2</sub>. El lactato se puede metabolizar a propionato mediante la ruta de acrilato, en la que se elimina agua de lactato para formar acrilato con reducción subsiguiente a propionato (Microbial Physiology. Albert G. Moat, John W. Foster y Michael P. Spector, Wiley-Liss, Inc.

30 Las bacterias de ácido propiónico tienen un estatus generalmente reconocido como seguro (GRAS) en los Estados Unidos de América, y un estatus de presunción cualificada de seguridad (QPS) en Europa.

Las bacterias de ácido propiónico se clasifican en la clase de Actinobacteria con otras bacterias grampositivas con un contenido de GC mayor que 50%.

35 Las expresiones “bacterias productoras de ácido propiónico que utilizan lactato” y “bacterias productoras de ácido láctico” se definen más abajo.

El término “probiótico” es bien conocido y está bien aceptado en el campo, y se refiere particularmente a preparaciones de células microbianas o componentes de células microbianas que tienen un efecto beneficioso sobre la salud y el bienestar de seres humanos. En consecuencia, el término probiótico engloba las bacterias definidas anteriormente.

40 El término “prebiótico” es bien conocido y está aceptado en el campo, y se refiere particularmente a un ingrediente alimentario no digestible que afecta beneficiosamente a los seres humanos al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon, y de este modo mejora la salud humana.

45 En términos más generales, en un primer aspecto, la invención se refiere a nuevas composiciones que comprenden, como un primer componente, bacterias viables productoras de ácido propiónico que utilizan lactato. Estas composiciones de la invención se pueden adaptar a composiciones alimentarias, particularmente composiciones de alimentos infantiles, y/o a composiciones farmacéuticas. Este aspecto de la invención se explicará más abajo con más detalle:

50 Composición alimentaria: Las composiciones de la invención pueden estar en forma de cualquier composición alimentaria. Preferiblemente, las composiciones se adaptan a la nutrición infantil, particularmente lactantes. En consecuencia, la composición alimentaria puede estar en forma de una fórmula de iniciación infantil, una fórmula de continuación, una fórmula de alimento infantil, una fórmula de cereal infantil o una leche de crecimiento. Tales composiciones alimentarias son conocidas y se describen, por ejemplo, en Callaghan et al (Infant Formulae, en: Encyclopedia of Dairy Sciences (2ª Ed), Editor: John W. Fuquay, Elsevier Ltd, p. 135-145, incorporada como

referencia)). Típicamente, tales composiciones alimentarias comprenden aditivos y elementos que potencian el crecimiento, como se describe más abajo. La expresión composición alimentaria también engloba una composición nutricional para adultos o una bebida para adultos a base de proteína de la leche, para individuos que necesitan terapia. Preferiblemente, dicha composición alimentaria es una fórmula infantil de iniciación, tal como leche para lactantes o polvo de leche para lactantes.

Composiciones farmacéuticas: Las composiciones de la invención pueden estar en forma de cualquier formulación farmacéutica, tal como formulación sólida, semisólida o líquida. Además, las composiciones alimentarias anteriores también se pueden usar como una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas también comprenden, próximas a la composición a administrar, instrucciones para la administración ("inserto del envase").

Bacterias viables (vivas): Se cree que el uso de bacterias viables (vivas) es una característica clave de la presente invención, que la distingue de la técnica anterior y que permite los usos descritos aquí. Según la invención, las bacterias son viables (vivas), es decir, son metabólicamente activas y/o son capaces de colonizar el intestino de un mamífero, particularmente un ser humano. La expresión incluye tanto (i) bacterias capaces de dividirse y formar una colonia como (ii) bacterias que no se replican.

Las bacterias del grupo (i) son capaces de dividirse y formar una colonia en un medio nutriente apropiado para el crecimiento de las bacterias, o son capaces de incrementar la turbidez del medio de crecimiento líquido tras la inoculación con diferentes concentraciones de preparaciones bacterianas y la incubación en condiciones apropiadas (atmósfera aerobia y/o anaerobia durante al menos 24 h). Tales métodos clásicos de siembra en placas son conocidos y se describen, por ejemplo, en Jay et al (Modern Food Microbiology. 7ª Edición, Springer, 2005). Las bacterias del grupo (ii) incluyen bacterias vivas pero que no se replican, que se han enumerado con manchas fluorescentes dirigidas a potenciales de membranas bacterianas o actividades enzimáticas que permiten la diferenciación entre células bacterianas viables, metabólicamente activas, dañadas, durmientes, viables pero no cultivables, y muertas. Para estimar las células viables en productos probióticos, se aplicaron con éxito herramientas moleculares como la hibridación fluorescente in situ (FISH) y la citometría de flujo.

En una realización preferida, la invención se refiere a composiciones que comprenden bacterias del grupo (i).

En una realización alternativa, la invención se refiere a composiciones que comprenden adicionalmente bacterias del grupo (ii).

En una realización alternativa, la invención se refiere a composiciones que comprenden solamente bacterias del grupo (ii).

La cantidad de tales bacterias puede variar a lo largo de un amplio intervalo, y la persona experta en la técnica puede determinar una cantidad eficaz en experimentos habituales. Las cantidades eficaces para este fin dependerán de un número de factores conocidos por los expertos en la técnica, tales como el peso y el estado de salud general del ser humano a tratar, y del efecto de la matriz alimentaria. Típicamente, la cantidad eficaz en las composiciones de la presente invención está en el intervalo de  $10^2$  a  $10^{12}$  cfu/g, más preferiblemente  $10^4$  a  $10^9$  cfu/g, lo más preferible  $10^7$  a  $10^9$  cfu/g de composición o por ml de la composición.

Bacterias productoras de ácido propiónico que utilizan lactato:

Según la invención, las bacterias productoras de ácido propiónico se seleccionan del grupo de "bacterias productoras de ácido propiónico que utilizan lactato". Las bacterias del intestino que utilizan lactato para producir propionato a través de las rutas de acrilato incluyen Propionibacteria y relacionadas, Veillonella y relacionadas, Solomonas y relacionadas, Megasphaera y relacionadas, y cualesquiera otras bacterias productoras de propionato que utilizan lactato aisladas del ecosistema intestinal infantil. La ruta del acrilato es conocida y se describe en la bibliografía, por ejemplo Hosseini et al. (Nutr. Rev. 9:245-258, 2011), particularmente la fig. 2, que se incorpora como referencia en su totalidad.

En una realización preferida adicional, las bacterias productoras de ácido propiónico se seleccionan de las 13 especies actualmente conocidas.

En una realización preferida adicional, las bacterias productoras de ácido propiónico se seleccionan del grupo de P. freudenreichii, P. acidipropionici, P. jensenii, P. thoenii, P. cyclohexanicum, y P. microaerophilum.

En consecuencia, la invención proporciona una composición, particularmente una composición alimentaria o una composición farmacéutica, que comprende (i) bacterias viables productoras de ácido propiónico que utilizan lactato procedentes de una o más cepas de bacterias vivas, particularmente de cepas como se identifican aquí; (ii) opcionalmente una fuente de proteínas; (iii) opcionalmente una fuente de hidratos de carbono; (iv) opcionalmente una fuente de lípidos; (v) opcionalmente una fuente de vitaminas y minerales; (vi) opcionalmente aditivos; (vii) opcionalmente agua.

La composición según la presente invención contiene típicamente una fuente de proteínas. Son adecuadas las cantidades no mayores que 2,0 g/100 kcal, preferiblemente 1,8 a 2,0 g/100 kcal. No se cree que el tipo de proteína

sea crítico para la presente invención, con la condición de que se cumplan los requisitos mínimos para el contenido de aminoácidos esenciales y se asegure el crecimiento satisfactorio, aunque se prefiere que alrededor de 50% en peso de la fuente de proteínas sea suero lácteo. De este modo, se pueden usar fuentes de proteínas a base de suero lácteo, caseína y sus mezclas, así como fuentes de proteínas a base de soja. Por lo que respecta a las proteínas de suero lácteo, la fuente de proteínas se puede basar en suero lácteo ácido o suero lácteo dulce, o mezclas de los mismos, y puede incluir alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina en cualesquiera proporciones que se deseen.

Las composiciones según la presente invención contienen típicamente una fuente de hidratos de carbono. Se puede usar cualquier fuente de hidratos de carbono encontrada convencionalmente en fórmulas infantiles, tal como lactosa, sacarosa, maltodextrina, almidón, y sus mezclas, aunque la fuente preferida de hidratos de carbono es lactosa. Preferiblemente, las fuentes de hidratos de carbono contribuyen entre 35 y 65% de la energía total de la composición.

La composición según la presente invención contiene típicamente una fuente de lípidos. La fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa que sea adecuada para uso en fórmulas infantiles. Las fuentes de grasas preferidas incluyen oleína de palma, aceite de girasol rico en ácido oleico y aceite de alazor rico en ácido oleico. También se pueden añadir ácidos grasos esenciales como ácido linoleico y ácido [alfa]-linolénico, como también se pueden añadir pequeñas cantidades de aceites que contienen cantidades elevadas de ácido araquidónico y ácido docosahexenoico preformados, tales como aceites de pescado o aceites microbianos. En total, el contenido de grasas es preferiblemente tal que contribuye entre 30 y 55% de la energía total de la fórmula. La fuente de grasas tiene preferiblemente una relación de ácidos grasos n-6 a n-3 de alrededor de 5:1 a alrededor de 15:1, por ejemplo alrededor de 8:1 a alrededor de 10:1.

La composición según la invención contiene típicamente todas las vitaminas y minerales que se entiende que son esenciales en la dieta diaria, y en cantidades nutricionalmente significativas. Se han establecido requisitos mínimos para ciertas vitaminas y minerales. Los ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes opcionalmente presentes en la fórmula infantil incluyen vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantoténico, colina, calcio, fósforo, yodo, hierro, magnesio, cobre, cinc, manganeso, cloruro, potasio, sodio, selenio, cromo, molibdeno, taurina, y L-carnitina. Los minerales se añaden habitualmente en forma de sal. La presencia y cantidades de minerales específicos y de otras vitaminas variarán dependiendo de la población infantil a la que se destina.

La composición según la invención es seca. Esto asegura una composición estable que comprende bacterias vivas como se define aquí. Sin embargo, puede ser aceptable un bajo contenido de agua, típicamente por debajo de 5%, y de este modo está comprendido en la presente invención.

La composición según la invención puede contener además otros componentes que pueden tener un efecto beneficioso tales como fibras, lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos, y similares.

La composición según la invención puede contener además emulsionantes y estabilizantes tales como lecitina de soja, ésteres de ácido cítrico con mono- y diglicéridos, y similares. Este es especialmente el caso si la composición se proporciona en forma líquida.

La composición según la invención puede contener además estabilizantes (o "agentes estabilizantes"). Esta expresión se refiere a compuestos o materiales que se añaden a la composición para incrementar la viscosidad de la formulación húmeda, o para formar un hidrogel. Los ejemplos de un agente estabilizante adecuado incluyen, pero no se limitan a, polisacáridos, tales como acetato-ftalato de celulosa (CAP), carboximetilcelulosa, pectina, alginato de sodio, sales de ácido algínico, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), metilcelulosa, carrageenano, goma guar, goma arábica, goma de xantana, goma de algarrobilla, quitosano y derivados de quitosano, colágeno, ácido poliglicólico, almidones y almidones modificados, ciclodextrinas y oligosacáridos (inulina, maltodextrinas, rafinosa, dextranos, etc.), y combinaciones de los mismos.

La composición según la invención puede contener además agentes protectores (o "agentes de protección" o "protectores"). Esta expresión se refiere a compuestos o materiales que se añaden para asegurar o incrementar la estabilidad de las bacterias viables durante el proceso de secado y posterior, o para la estabilidad del almacenamiento a largo plazo del producto en polvo seco. Los protectores adecuados son generalmente muy solubles en una disolución, y no se espesan o polimerizan al contacto con el agua. Los protectores adecuados se describen más abajo, e incluyen, pero no se limitan a, proteínas tales como seroalbúmina humana y bovina, proteína de suero lácteo, proteína de soja, caseinato, gelatina, inmunoglobulinas, hidratos de carbono que incluyen monosacáridos (galactosa, D-manosa, sorbosa, etc.), disacáridos (lactosa, trehalosa, sacarosa, etc.), un aminoácido tal como glutamato monosódico, lisina, glicina, alanina, arginina o histidina, así como aminoácidos hidrófobos (triptófano, tirosina, leucina, fenilalanina, etc.); una metilamina tal como betaína; una sal excipiente tal como sulfato de magnesio; un poliol tal como alcoholes de azúcar trihidroxilados o superiores (por ejemplo, glicerina, eritritol, glicerol, arabitol, xilitol, sorbitol, y manitol); propilenglicol; polietilenglicol; pluronics; tensioactivos; y combinaciones de los mismos.

La composición según la invención puede contener además aditivos prebióticos. Esta expresión se refiere a compuestos/materiales usados para estimular el crecimiento de microbios específicos del intestino, tales como las bacterias viables como se definen aquí. Los prebióticos adecuados son conocidos por la persona experta en la técnica, y son ingredientes alimentarios no digestibles que afectan beneficiosamente al hospedante al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon. Tales ingredientes son no digestibles en el sentido de que no se rompen ni se absorben en el estómago o en el intestino delgado y de este modo pasan intactos al colon donde son fermentados selectivamente por las bacterias beneficiosas. Los ejemplos de prebióticos adecuados incluyen ciertos oligosacáridos, tales como fructooligosacáridos (FOS), goma arábica y galactooligosacáridos (GOS). Se puede usar una combinación de prebióticos, tal como GOS de cadena corta con FOS de cadena larga, tal como el producto vendido con la marca Immunofortis® (Arslanoglu S et al. J Nutr 2008; 138: 1091-5)

En una realización preferida, la invención proporciona una composición que comprende una combinación de bacterias viables como se definen aquí y prebióticos como se definen aquí. Una combinación de ambos componentes mejora significativamente los efectos terapéuticos y/o profilácticos como se describen aquí (sinergia).

La composición de la presente invención comprende además bacterias viables productoras de ácido láctico.

Preferiblemente, las bacterias productoras de ácido láctico se seleccionan del grupo que consiste en bacterias de ácido láctico y bifidobacterias. Preferiblemente, las bacterias productoras de ácido láctico se seleccionan de las cepas que consisten en Bifidobacteria, Lactobacilli, Lactococci, Streptococci, Enterococci, Leuconostoc, Weissella. Se encontró que la combinación de bacterias productoras de ácido láctico y bacterias que utilizan lactato es particularmente beneficiosa para composiciones alimentarias como se definen aquí. Nuevamente, estas bacterias productoras de ácido láctico son viables como se define aquí.

La composición de la invención se puede proporcionar como composición líquida lista para ser administrada (es decir, una "fórmula para lactantes", "leche para lactantes"), o como composición seca (es decir, un "polvo de leche para lactantes", "suplemento") para ser reconstituída con agua antes del uso. Para conservar la viabilidad durante el almacenamiento y hasta el consumo del producto que contiene el probiótico, el probiótico se puede suministrar solamente en una forma seca con la fórmula (ya sea líquida o en polvo).

En el caso de una composición líquida, las bacterias viables se suministran de forma separada del producto en una forma seca (un "suplemento"), que se pueden añadir antes del uso. En esta realización, la invención proporciona un kit de partes, siendo la primera parte una forma de dosificación sólida que comprende las bacterias vivas, y siendo la segunda parte un producto líquido (tal como una leche para lactantes) libre de bacterias vivas.

En el caso de una composición seca (tal como un polvo de leche), se prefiere que la composición de la fórmula seca para lactantes que contiene las bacterias viables tenga una actividad acuosa por debajo de 0,2, preferiblemente por debajo de 0,15, para incrementar adicionalmente la estabilidad durante el almacenamiento. Una actividad acuosa baja reduce la velocidad de degradación de los polvos, y bloquea el crecimiento y actividad de los microbios. Los valores de la actividad acuosa por debajo de 0,2, que corresponden a un contenido de agua de aprox. 5%, preferiblemente menor en el intervalo de 2,5 a 3,5%, o menores, se usan típicamente para bloquear la cristalización de la lactosa, y disminuyen considerablemente la velocidad de las reacciones químicas y enzimáticas en polvos de leche.

En un segundo aspecto, la invención se refiere al uso de la composición de la invención como sustancias farmacéuticas, particularmente para el tratamiento de enfermedades digestivas. Las composiciones descritas aquí proporcionan un consorcio bacteriano útil capaz de promover o reestablecer una colonización intestinal sana en seres humanos, particularmente en lactantes. Este aspecto de la invención se explicará con más detalle más abajo.

Las composiciones de la invención tienen efectos terapéuticos y/o preventivos, y se pueden usar especialmente para el tratamiento de enfermedades digestivas en lactantes o pacientes que lo necesiten, o para reducir el riesgo de enfermedades digestivas en lactantes o pacientes que lo necesiten, o para reducir la gravedad de las enfermedades digestivas en lactantes o pacientes que lo necesiten.

En consecuencia, la invención también proporciona una composición como se describe aquí como sustancia farmacéutica.

La invención proporciona además

- el uso de una composición como se describe aquí para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos;
- el uso terapéutico de una composición como se describe aquí;
- un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno digestivo, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición como se describe aquí a un sujeto que lo necesite;

- una composición como se describe aquí para el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos;
- una composición como se describe aquí para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos.

Las composiciones de la invención comprenden bacterias viables como se definen aquí en una cantidad suficiente para promover al menos parcialmente un beneficio de salud. Una cantidad para lograr esto se define como una "dosis terapéuticamente eficaz". Las cantidades eficaces para este fin dependerán de un número de factores conocidos por los expertos en la técnica, tales como el peso y el estado de salud general del ser humano a tratar, y del efecto de la matriz alimentaria. En aplicaciones profilácticas, las composiciones de la invención se administran a un consumidor susceptible a o de otro modo en riesgo de un trastorno, en una cantidad que es suficiente para reducir al menos parcialmente el riesgo de desarrollar un trastorno como se define aquí. Tal cantidad se define como una "dosis eficaz profiláctica". Las cantidades eficaces para este fin dependerán de un número de factores conocidos por los expertos en la técnica, tales como el peso y el estado de salud general del ser humano a tratar, y del efecto de la matriz alimentaria.

Sin estar atados por la teoría, se cree que la razón científica detrás de la presente invención se puede resumir como sigue:

(1) La microflora intestinal del lactante contiene una población grande y muy diversa de bacterias productoras de lactato (principalmente Bifidobacteria, Lactobacilli, Streptococci y Staphylococci). Muchas otras especies que determinan la comunidad que utiliza lactato (LUB) también colonizan el intestino de los lactantes en una etapa temprana, que comprenden bacterias reductoras de sulfato (SRB) y no SRB (= LUB). En lactantes, la población de LUB está dominada principalmente por *E. hallii* y *Veillonella*. Por lo tanto, se produce una competición intensa por el lactato en el tubo digestivo que implica a *E. hallii*, *Veillonella* y SRB. SRB y *E. hallii* dominan la microflora intestinal del lactante durante los primeros 3 meses de vida, junto con *Veillonella*, cuya población aumenta adicionalmente en el 4º mes.

(2) Grandes poblaciones de LUB se encuentran y se estratifican por los gritos. Las LUB son promovidas en estos lactantes, y hay una probabilidad de una gran competición por lactato. Los gritos podrían ser una consecuencia de esta competición bacteriana en el tubo digestivo al promover el crecimiento de ciertos microbios o la producción de metabolitos bacterianos perjudiciales.

(3) Las bacterias productoras de propionato que utilizan lactato podrían dominar por lo tanto la comunidad en una etapa temprana, impactando sobre el equilibrio global de esta comunidad bacteriana. El objetivo sería disminuir las poblaciones de SRB y *E. hallii* o los metabolitos producidos. De hecho, SRB produce H<sub>2</sub>S, mientras que *E. hallii* produce una gran cantidad de H<sub>2</sub>, los cuales están ambos asociados a dolor y malestar intestinal en seres humanos.

(4) Las bacterias productoras de propionato que utilizan lactato pueden convertir lactato intestinal en propionato y entonces eliminarlo del ecosistema del intestino. Este enfoque evita cualquier acumulación de lactato, pero también impacta sobre el crecimiento y metabolismo de otras bacterias que utilizan lactato que producen compuestos negativos potencialmente implicados en el grito y los cólicos de los lactantes.

Los presentes inventores ahora se han dado cuenta de que las bacterias productoras de propionato que utilizan lactato podrían reducir la producción de H<sub>2</sub>S y de H<sub>2</sub> en recién nacidos con cólicos al crear una cadena trófica más sana y equilibrada en el primer mes de vida. En una realización preferida, el trastorno digestivo es por lo tanto cólico infantil (también denominado "IC" o "cólico del lactante" o "cólico del recién nacido").

En una realización preferida adicional, la enfermedad o trastorno digestivo se selecciona del grupo que consiste en cólicos, malestar intestinal, dolor intestinal, sensibilidad visceral y retortijón intestinal.

En una realización preferida adicional, la enfermedad digestiva es colitis.

En una realización adicional, las composiciones de la invención se usan para prevenir la acumulación de lactato en el intestino de un paciente (particularmente del lactante). Se cree que tal mal funcionamiento puede conducir de otro modo a acidosis y/o cólicos.

En una realización adicional, las composiciones de la invención se usan para disminuir la producción de H<sub>2</sub>S en un intestino del paciente (particularmente del lactante). Se cree que tal uso previene cólicos y/o colitis.

En una realización adicional, las composiciones de la invención se usan para imitar la cadena trófica observada en la leche materna. Se cree que esto proporciona una nutrición óptima para neonatos.

En una realización adicional, las composiciones de la invención se usan para controlar o para normalizar la colonización intestinal y la ecología del intestino. Se cree que esto mejora la salud intestinal.

Como se esquematiza anteriormente, un grupo relevante particular de pacientes son los neonatos. Se encontró que los lactantes nacidos por cesárea son un grupo particularmente importante de pacientes a tratar. Sin embargo, la

invención no está limitada a este grupo específico de pacientes, sino que puede ser útil para el tratamiento de (1) neonatos (típicamente menores de 1 mes), (2) lactantes (típicamente menores de 12 meses) y (iii) niños jóvenes (típicamente menores de 36 meses).

En un tercer aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para fabricar una composición como se describe aquí. Este aspecto de la invención se explicará con más detalle más abajo:

Los materiales de partida, que incluyen cepas de bacterias viables (vivas), son conocidos u obtenibles según métodos conocidos. La fabricación de las composiciones de la invención depende enormemente del tipo de producto final:

10 producto seco, es decir, una forma sólida (tal como un polvo), o producto húmedo, es decir, un líquido (tal como una bebida) o semilíquido (tal como una pulpa).

Generalmente, se pueden emplear todos los métodos conocidos para fabricar productos alimentarios que comprenden bacterias viables (vivas). Típicamente, el producto alimentario se produce, y se añade una formulación de bacterias vivas.

15 Generalmente, las bacterias viables se pueden cultivar según cualquier método adecuado, y se pueden preparar para la adición a la composición de la invención mediante liofilización o secado por pulverización, por ejemplo. Los detalles se pueden encontrar en Lacroix, et al (Microbial production of food ingredients, enzymes and nutraceuticals, McNeil, Giavasis, Harvey Eds. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, (2012)), que se incorpora como referencia. Como alternativa, las preparaciones bacterianas se pueden obtener de una especialidad ya preparada en una forma adecuada para la adición a las composiciones de la invención.

20 En una realización preferida, la composición de la invención es un polvo de leche. La producción de polvo de leche es una tecnología bien consolidada, y se describe por ejemplo en Walstra (Dairy science and technology. 2ª ed., Boca Raton: Taylor & Francis, 782 p. (2006)) y Schuck (Milk Powder: Types and Manufacture. En Encyclopedia of Dairy Sciences (Segunda Edición), Academic Press, páginas 108-116 (2011)), ambas incorporadas como referencia.

25 Por ejemplo, una composición de la invención se puede preparar mezclando juntas la fuente de proteínas, la fuente de hidratos de carbono, y la fuente de grasas, en proporciones apropiadas. Si se usan, se pueden incluir emulsionantes en la mezcla. En este punto se pueden añadir vitaminas y minerales, pero habitualmente se añaden más tarde para evitar la degradación térmica. Cualesquiera vitaminas lipófilas, emulsionantes y similares se pueden disolver en la fuente de grasas antes de la mezcla. El agua, preferiblemente agua que se ha sometido a ósmosis inversa, se puede mezclar entonces para formar una mezcla líquida.

30 La mezcla líquida se puede tratar entonces térmicamente para reducir las cargas bacterianas. Por ejemplo, la mezcla líquida se puede calentar rápidamente hasta una temperatura en el intervalo de alrededor de 80°C a alrededor de 110°C durante alrededor de 5 segundos a alrededor de 5 minutos. Esto se puede llevar a cabo mediante inyección de vapor o mediante intercambiador de calor, por ejemplo un intercambiador de calor de platos. La mezcla líquida se puede enfriar entonces hasta alrededor de 60°C hasta alrededor de 85°C, por ejemplo  
35 mediante enfriamiento ultrarrápido. La mezcla líquida se puede homogeneizar entonces, por ejemplo en dos etapas, a alrededor de 7 MPa hasta alrededor de 40 MPa en la primera etapa, y alrededor de 2 MPa hasta alrededor de 14 MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada se puede enfriar entonces adicionalmente para añadir cualesquiera componentes sensibles al calor, tales como vitaminas y minerales. En este punto se estandarizan convenientemente el pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada. La mezcla homogeneizada se  
40 transfiere a un aparato de secado adecuado, tal como una secadora por pulverización o una liofilizadora, y se convierte en un polvo. El polvo debería tener un contenido de humedad menor que alrededor de 5% en peso.

Para ilustrar adicionalmente la invención, se proporcionan los siguientes ejemplos. Estos ejemplos se proporcionan sin ninguna intención de limitar el alcance de la invención.

45 A continuación se da un conjunto adaptado a la edad de composiciones nutricionales para lactantes o niños jóvenes según la presente invención.

|                            |       |       |       |       |       |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Proteína (g/100 kcal)      | 2,5   | 2,5   | 2     | 2,5   | 2     |
| Suero lácteo/caseína       | 40/60 | 40/60 | 50/50 | 40/60 | 50/50 |
| CHO (g/100 kcal)           | 12,9  | 12,9  | 12,3  | 12,9  | 12,3  |
| Lactosa (g/100 kcal)       | 9     | 12,9  | 7,7   | 12,9  | 7,7   |
| Maltodextrina (g/100 kcal) | 3,9   |       | 4,6   |       | 4,6   |
| Grasa (g/100 kcal)         | 4,25  | 4,25  | 4,8   | 4,25  | 4,8   |

|                                                   |                     |                               |                               |                     |                     |
|---------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------|
| Bacterias viables (por g de peso seco de fórmula) | (1) $2 \times 10^8$ | (2) Cada una: $1 \times 10^8$ | (3) Cada una: $1 \times 10^8$ | (4) $2 \times 10^8$ | (5) $2 \times 10^8$ |
| Prebiótico                                        | (6)                 | (6)                           | (6)                           | (6)                 | (6)                 |
| LC-PUFA                                           |                     |                               |                               | DHA                 | ARA / DHA           |
| Energía (Kcal/100 ml)                             | 64,88               | 64,88                         | 65                            | 64,88               | 65                  |

Las especificaciones de las bacterias incluidas son como siguen:

(1) *P. freudenreichii* (no según la presente invención); (2) *P. freudenreichii* y *Bifidobacterium lactis* BB12; (3) *P. freudenreichii* y *Lactobacillus rhamonosus* GG; (4) *Megasphaera elsdensii* (no según la invención); (5) *Veillonella parvula* (no según la invención); (6) opcionalmente GOS.

5

## REIVINDICACIONES

1. Una composición alimentaria seca que comprende

(a) bacterias viables productoras de ácido láctico procedentes de una o más cepas de bacterias vivas; y

5 (b) bacterias viables productoras de ácido propiónico que utilizan lactato procedentes de una o más cepas de bacterias vivas; y

(c) opcionalmente prebióticos;

para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos seleccionados del grupo que consiste en cólicos, malestar intestinal, dolor intestinal, sensibilidad visceral y retortijón intestinal.

2. La composición alimentaria según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de cólicos infantiles.

10 3. La composición alimentaria según la reivindicación 1 o 2, en la que dichas bacterias viables productoras de ácido propiónico que utilizan lactato (b) se seleccionan de *Propionibacteria*, *Veillonella*, *Selomonas*, y *Megasphaera*.

4. La composición alimentaria según la reivindicación 3, en la que dichas bacterias viables productoras de ácido propiónico que utilizan lactato (b) se seleccionan de las cepas que consisten en *P. freudenreichii*, *P. acidipropionici*, *P. jensenii*, *P. thoenii*, *P. cyclohexanicum*, y *P. microaerophilum*.

15 5. La composición alimentaria según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dichas bacterias viables productoras de ácido láctico (a) se seleccionan del grupo de bacterias de ácido láctico y bifidobacterias.

6. La composición alimentaria según la reivindicación 5, en la que dichas bacterias viables productoras de ácido láctico (a) se seleccionan de *Bifidobacteria*, *Lactobacilli*, *Lactococci*, *Streptococci*, *Enterococci*, *Leuconostoc*, y *Weissella*.

20 7. La composición alimentaria según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además aditivos y/o suplementos que potencian el crecimiento y/o prebióticos.

8. La composición alimentaria según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que los prebióticos se seleccionan del grupo que consiste en FOS y GOS.

25 9. La composición alimentaria según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la cantidad de dichas bacterias viables está en el intervalo de  $10^2$  a  $10^{12}$  CFU por gramo o por ml de composición.

10. La composición alimentaria según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que es un producto nutricional infantil, preferiblemente leche para lactantes o polvo de leche para lactantes.

30 11. La composición alimentaria según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, (i) que se diseña para ser administrada a lactantes o niños jóvenes a partir de la edad de 6 meses, y (ii) proporciona una nutrición completa al lactante o al niño.

12. Una fórmula para lactantes, que comprende la composición alimentaria seca según cualquiera de las reivindicaciones 1-9

para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos seleccionados del grupo que consiste en cólicos, malestar intestinal, dolor intestinal, sensibilidad visceral y retortijón intestinal.

35 13. La fórmula para lactantes de la reivindicación 12 en forma de una leche para lactantes,

para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos seleccionados del grupo que consiste en cólicos, malestar intestinal, dolor intestinal, sensibilidad visceral y retortijón intestinal.

40 14. La fórmula para lactantes de la reivindicación 12 en forma de un kit de partes, en el que una primera parte comprende una composición alimentaria seca según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, y una segunda parte comprende una fórmula para lactantes, particularmente una leche para lactantes, libre de bacterias viables productoras de ácido propiónico,

para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos digestivos seleccionados del grupo que consiste en cólicos, malestar intestinal, dolor intestinal, sensibilidad visceral y retortijón intestinal.