(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 671 914**

(51) Int. CI.:

A23L 33/10 (2006.01)
A23L 33/135 (2006.01)
A23L 33/21 (2006.01)
A61K 31/702 (2006.01)
A23C 9/20 (2006.01)
A61P 1/12 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2006 E 13171226 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2638812**

(54) Título: **Composición para estimular la flora intestinal en bebés nacidos por cesárea**

(30) Prioridad:

21.10.2005 EP 05023029

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.06.2018

(73) Titular/es:

N.V. NUTRICIA (100.0%)
Eerste Stationsstraat 186
2712 HM Zoetermeer, NL

(72) Inventor/es:

BOEHM, GÜNTHER;
KNOL, JAN y
STAHL, BERND

(74) Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

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 para estimular la flora intestinal en bebés nacidos por cesárea

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a métodos de alimentación y a composiciones que van a ser administradas a bebés nacidos por cesárea.

Antecedentes de la invención

[0002] Cuando se plantea la alimentación para bebés, se usa la leche materna como el patrón oro. Normalmente se combinan constituyentes en particular de origen no humano para imitar las características composicionales y efectos fisiológicos de la leche materna.

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

[0004] Varias fórmulas de leche infantil disponibles comercialmente contienen ingredientes cuyo objetivo es estimular el desarrollo de la flora intestinal. Los fórmulas infantiles pueden contener por ejemplo fibras prebióticas u organismos probióticos vivos. Las fibras prebióticas normalmente pasan sin digerir a través del tracto gastrointestinal superior y estimulan selectivamente el crecimiento de bacterias beneficiosas en el colon. Las bacterias probióticas vivas aumentan el recuento bacteriano específico en el intestino.

[0005] La patente EP 1105002 describe una mezcla de carbohidrato prebiótico que comprende uno o más oligosacáridos solubles y uno o más polisacáridos solubles, donde al menos 80 % en peso. de cada uno es prebiótico.

[0006] La patente WO 2005039319 describe una preparación que comprende *Bifidobacterium breve* y una mezcla de carbohidratos no digeribles para bebés no amamantados o amamantados parcialmente así como su uso para el tratamiento o prevención de trastorno inmunitario en bebés no amamantados o amamantados parcialmente.

Resumen de la invención

[0007] Las fórmulas infantiles se diseñan normalmente para imitar el desarrollo de una flora intestinal en un bebé que está recibiendo leche materna, con la implicación de que todos los bebés reaccionan de forma similar a la leche materna y fórmula infantil. Sin embargo, los presentes inventores descubrieron que una subpoblación de bebés, es decir aquellos bebés nacidos por cesárea, reaccionarán de forma diferente porque su flora intestinal en el momento del nacimiento es completamente diferente de la flora intestinal de bebés nacidos por vía vaginal. En particular, el perfil y contenido de especies de Bifidobacterias de bebés nacidos por cesárea es diferente del perfil intestinal y contenido de especies de Bifidobacterias de bebés nacidos por vía vaginal.

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

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

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

[0011] Además, los neonatos nacidos por cesárea carecían de una biodiversidad en su flora intestinal. Solo se detectaron una o dos especies diferentes de Bifidobacterias en bebés nacidos por cesárea, mientras que la flora intestinal de neonatos nacidos por vía vaginal normalmente contiene varias especies de Bifidobacterias. Los presentes inventores creen que estas observaciones son indicativas de una falta general de una variedad de

especies en el tracto intestinal de bebés nacidos por cesárea. La biodiversidad es de gran importancia para conseguir los efectos fisiológicos deseados y estimular de forma óptima la salud del bebé.

[0012] Natren<®> produce el producto probiótico Life Start<®> que está diseñado específicamente para bebés y es adecuado para bebés nacidos por cesárea. Life Start<®> se hace con *Bifidobacterium infantis*. Debido a que el producto Life Start® contiene solo unas especie de Bifidobacterias, los beneficios para el bebé serán muy limitado. La administración a bebés nacidos por cesárea de probióticos y otros compuestos, tales como prebióticos, para la normalización de la flora intestinal, se contempla en Nutri-Thema, La letra de información del laboratorio Le stum, número 4, septiembre 2005. Particularmente inesperada es también la observación de que se pueden conseguir mejoras en la salud del bebé incluso cuando los bebés se alimentan con leche materna. En el caso que los bebés hayan nacido por cesárea, la leche materna es (en la mayoría de los casos) la mejor nutrición para el bebé. Sin embargo, la leche materna tampoco da como resultado instantáneamente una flora similar a la obtenida en bebés nacidos por vía vaginal. El presente método se usa por lo tanto también ventajosamente cuando el bebé recibe leche materna.

[0013] Por lo tanto, la presente invención pretende particularmente aumentar la biodiversidad de microorganismos en la flora intestinal.

[0014] Por lo tanto, en un aspecto la presente invención proporciona una composición para el uso tal y como se define en la reivindicación 1, es decir, una composición para usar en aumentar la biodiversidad de microorganismos en la flora intestinal de un bebé nacido por cesárea por administración enteral de dicha composición a dicho bebé, donde dicha composición comprende al menos *Bifidobacterium breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles. El microorganismo aumentará la biodiversidad de la flora de bebés, mientras los oligosacáridos indigeribles estimulan el desarrollo y crecimiento de microorganismos inherentes y administrados.

[0015] La composición por ser administrada en el presente método contiene preferiblemente varias especies bacterianas diferentes, preferiblemente muchas especies de Bifidobacterias. Esto produce la estimulación óptima de la flora intestinal de los bebés nacidos por cesárea.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE FORMAS DE REALIZACIÓN PREFERIDAS

[0016] La composición usada en la presente invención engloba preferiblemente composiciones nutricionales y/o farmacéuticas y adecuadas para la administración a bebés.

Cesárea

[0017] La presente invención se refiere a la administración enteral de una composición que comprende al menos *Bifidobacterium breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles para bebés nacidos por cesárea. Una cesárea (sección c) es un procedimiento quirúrgico donde un bebé nace a través de una incisión hecha en la pared abdominal de la madre, y luego a través de la pared del útero. Una operación de cesárea se hace normalmente cuando es más seguro para la madre o el bebé que un parto vaginal. Otras veces, una mujer puede elegir tener una operación de cesárea antes que dar a luz al bebé vaginalmente.

Diversidad

[0018] La presente composición contiene al menos un organismo de microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible tal y como se define en la reivindicación 1. Los microorganismos son preferiblemente bacterias y/o levaduras. Preferiblemente, los microorganismos usados en la presente invención son probióticos, es decir, cuando se aplican a hombre o animal, afectan beneficiosamente al huésped mejorando las propiedades de la microflora autóctona. Las combinaciones anteriormente mencionadas tienen el objetivo normalmente de aumentar la diversidad de microorganismos en el intestino del bebé nacido por cesárea. Esto afecta beneficiosamente el bebé, demostrando muchos beneficios en la salud.

[0019] El término "diferentes microorganismos" como se usa en la presente invención se refiere a microorganismos que pertenecen a diferentes géneros y/o especies. Preferiblemente los diferentes microorganismos son bacterias diferentes. Preferiblemente, los microorganismos diferentes son especies diferentes. Por ejemplo y preferiblemente, la presente composición comprende o consiste en *Bifidobacterium breve* (*B. Breve*) y *Bifidobacterium catenulatum* (*B. Catenulatum*). *B. Breve* y *B. Catenulatum* se consideran aquí dos especies bacterianas diferentes. Las especies bacterianas no se consideran diferentes si son subespecies diferentes. Por ejemplo, *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *delbrueckii* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* no se consideran dos especies diferentes. La presente composición contiene al menos dos microorganismos diferentes, preferiblemente al menos dos especies bacterianas diferentes. Preferiblemente la presente composición contiene al menos tres especies diferentes, más preferiblemente al menos cuatro especies diferentes. Preferiblemente el microorganismo o especie bacteriana usados son probióticos.

[0020] En una forma de realización la presente composición contiene al menos dos especies diferentes de Bifidobacterias, subespecies o cepas. La presente composición comprende preferiblemente al menos dos, aún más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro cepas diferentes de *Bifidobacterium*. La presente composición comprende preferiblemente al menos dos, aún más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro subespecies diferentes de Bifidobacterias. Por ejemplo *Bifidobacterium animalis* subespecie *animalis* y *Bifidobactrium animalis* subespecie *lactis* son subespecies diferentes. *B. Breve* M16V en *B. Breve* R0070 son cepas diferentes.

Microorganismos

[0021] Preferiblemente la presente composición contiene además al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en bacterias de ácido láctico, bacilos y levaduras, preferiblemente al menos unas bacteria de ácido láctico seleccionada del grupo que consiste en *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus, Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* y Bifidobacterias. La presente composición contiene preferiblemente al menos dos, más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro microorganismos diferentes.

[0022] La presente composición contiene al menos *B. breve*, más preferiblemente al menos dos, aún más preferiblemente al menos tres, más preferiblemente al menos cuatro, de la forma más preferible al menos cinco especies del género Bifidobacterias. La Bifidobacterias son bacterias gram-positivas anaeróbicas en forma de barra. Las presentes especies de *Bifidobacterium* tienen preferiblemente al menos 95 % identidad con la secuencia 16 S ARNr cuando se compara con la cepa de tipo de las especies de respectivas de *Bifidobacterium*, más preferiblemente al menos 97% de identidad tal y como se define en manuales sobre este tema, por ejemplo, Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989), Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor (N.Y.) Laboratory Press. Las Bifidobacterias preferiblemente usadas se describen también por Scardovi, V. Genus Bifidobacterium. p.1418 - p.1434. In: Bergey's manual of systematic Bacteriology. Vol. 2. Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt (ed.). Baltimore: Williams & Wilkins. 1986. 635 p

[0023] La presente composición comprende al menos B. breve, más preferiblemente al menos dos, aún más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro especies de Bifidobacterium preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium catenulatum, Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium thermophilum, Bifidobacterium gallicum, Bifidobacterium animalis, Bifidobacterium angulatum, Bifidobacterium pseudocatenulatum, Bifidobacterium thermacidophilum* y *Bifidobacterium longum*. La presente composición comprende al menos B. breve, más preferiblemente al menos dos, aún más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro especies de Bifidobacterium, preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium catenulatum, Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium longum*. De la forma más preferible, la presente composición contiene *Bifidobacterium breve* y *Bifidobacterium catenulatum*.

[0024] La presente composición comprende al menos B. breve, más preferiblemente al menos dos, aún más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro subespecies de *Bifidobacterium*. La presente composición comprende al menos *B. breve*, más preferiblemente al menos dos, aún más preferiblemente al menos tres, de la forma más preferible al menos cuatro cepas de *Bifidobacterium*.

[0025] En otra forma de realización preferida, la presente composición contiene además bacterias de ácido láctico, preferiblemente al menos una bacteria seleccionada del grupo que consiste en Lactobacilli, Lactococci y Streptococci. Más preferiblemente la presente composición contiene al menos una bacteria seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus johnsonii, Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus lactis, Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus paracasei*. La biodiversidad aumentada adicional tendrá un efecto estimulador en la salud del recién nacido.

[0026] La presente composición contiene preferiblemente entre 10^1 y 10^{13} de microorganismos de unidades formadoras de colonias (CFU) por gramo de peso en seco de la presente composición, preferiblemente entre 10^2 y 10^{12}, más preferiblemente entre 10^3 y 10^{10}. Preferiblemente, la presente composición contiene entre 10^1 y 10^{13} de unidades formadoras de colonias (CFU) de Bifidobacterias por g de peso en seco de la presente composición, más preferiblemente entre 10^2 y 10^{12}, de la forma más preferible entre 10^3 y 10^{12}.

[0027] El presente método comprende preferiblemente la administración de una porción que contiene entre 10^1 y 10^{13} de cfu microorganismos, más preferiblemente entre 10^2 y 10^{11}, de la forma más preferible entre 10^3 y 10^{10}. El presente método comprende preferiblemente la administración de una porción que contiene entre 10^1 y 10^{13} de cfu de Bifidobacterias, más preferiblemente entre 10^2 y 10^{12}, de la forma más preferible entre 10^3 y 10^{11}.

Oligosacáridos

[0028] El término "oligosacáridos indigeribles" como se usa en la presente invención se refiere a oligosacáridos/carbohidratos que so se digieren o solo se digieren parcialmente en el intestino por la acción de ácidos o enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo superior humano (intestino delgado y estómago) pero que se fermentan por la flora intestinal humana. Preferiblemente el presente oligosacárido indigerible tiene un grado de polimerización (DP) de 2 a 100, preferiblemente un DP 2 a 50. El presente oligosacárido indigerible es una fibra prebiótica. El término "fibra prebiótica" se refiere a fibras no digeribles que afectan beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de especies bacterianas en el colon.
El presente oligosacárido indigerible es soluble. El término "soluble" como se utiliza en este caso, cuando hace referencia a un polisacárido, fibra u oligosacárido, significa que la sustancia es al menos 50% soluble según el método descrito por L. El Prosky et al., J. Asocc. Off. Anal. Chem. 71,1017-1023 (1988).

[0029] La presente composición contiene al menos galactooligosacáridos. Los oligosacáridos también descritos son dextrinas indigeribles, xilooligosacáridos, arabinooligosacáridos, glucooligosacáridos, manano-oligosacáridos, isomaltooligosacáridos y fructopolisacárido.

[0030] El término "fructopolisacárido" como se utiliza en este caso se refiere a un carbohidrato polisacárido que comprende una cadena de al menos 3 unidades de fructosa β-enlazadas, con un DP entre 3 y 300, preferiblemente entre 20 y 150. Preferiblemente se usa inulina. La inulina está disponible bajo el nombre comercial "Raftilin HP<®>", (Orafti). El DP medio de fructopolisacárido es preferiblemente al menos 15, más preferiblemente al menos 20 o más, hasta 300. En la inulina las unidades de fructosa se enlazan con un enlace β(2→1).

[0031] Las polidextrinas indigeribles se refieren a (malto)dextrinas resistentes a la digestión o polidextrosa resistente a la digestión que tienen un DP de 10 a 50, preferiblemente entre 10 y 20. Las polidextrinas indigeribles comprenden enlaces glucosídicos α(1→4), α(1→6) y enlaces 1→2 y 1→3. Las polidextrinas indigeribles están por ejemplo disponibles bajo el nombre comercial "Fibersol 2<®>" de Matsutami Industries o Litesse<®> de Danisco.

[0032] Los presentes inventores descubrieron que los galactooligosacáridos se pueden usar ventajosamente en la presente composición, porque estos oligosacáridos eran particularmente eficaces en estimular el crecimiento de Bifidobacterias. Por lo tanto, la presente composición contiene galactooligosacáridos. El término "galactooligosacárido" como se utiliza en este caso se refiere a un sacárido indigerible, donde al menos 30 % de las unidades de sacáridos son unidades de galactosa, preferiblemente al menos 50%, más preferiblemente al menos 60%. Preferiblemente los sacáridos del galactooligosacárido son β-enlazados, como es el caso en la leche humana.

[0033] Preferiblemente la presente composición contiene un galactooligosacárido seleccionado del grupo que consiste en transgalactooligosacáridos, lacto-N-tetraosa (LNT) y lacto-N-neotetraosa (neo-LNT). En una forma de realización preferida particularmente el presente método comprende la administración de transgalactooligosacárido ([galactosa]n-glucosa; donde n es un número entero entre 1 y 60, es decir 2, 3, 4, 5, 6, ..., 59,60; preferiblemente n se selecciona de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10). Los transgalactooligosacáridos (TOS) se venden por ejemplo bajo la marca registrada Vivinal™ de (Borculo Domo Ingredients, Países Bajos). Preferiblemente los sacáridos de los transgalactooligosacáridos son β-enlazados.

[0034] La presente composición contiene preferiblemente 0,5 a 75 gramos de los oligosacáridos solubles indigeribles por 100 gramos de peso en seco de gramo, preferiblemente entre 0,5 y 50 gramos. La presente composición comprende preferiblemente 0,1 a 95 gramos de galactooligosacáridos por 100 peso en seco de gramo, preferiblemente entre 0,1 y 50 gramos.

[0035] El presente método comprende preferiblemente la administración de una porción que contiene entre 0,05 y 25 gramos de oligosacárido indigerible, preferiblemente entre 0.1 y 5 gramos. El presente método comprende preferiblemente la administración de una porción que contiene entre 0,05 y 25 gramos de galactooligosacáridos, preferiblemente entre 0.1 y 5 gramos de galactooligosacáridos.

[0036] Los presentes inventores también han descubrieron que una mezcla de oligosacáridos indigeribles de cadena larga y oligosacáridos indigeribles de cadena corta estimulan sinergísticamente el crecimiento de una flora intestinal sana, particularmente Bifidobacterias. Por lo tanto, la presente composición que comprende al menos galactooligosacáridos indigeribles contiene preferiblemente al menos dos oligosacáridos con grados medios de polimerización (DP) diferentes. Preferiblemente las proporciones en peso:

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

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

[0037] Para mejora adicional, el oligosacárido tiene preferiblemente un contenido relativamente alto de oligosacáridos de cadena corta, puesto que estos estimulan en gran medida el crecimiento de Bifidobacterias. Por lo tanto, preferiblemente al menos 10 % en peso de los oligosacáridos en la presente composición tiene un DP de 2 a 5 (es decir 2, 3, 4, y/o 5) y al menos 5 % en peso tiene un DP de 10 a 60. Preferiblemente al menos 50 % en peso, más preferiblemente al menos 75 % en peso de los oligosacáridos tiene un DP de 2 a 9 (es decir 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y/o 9).

[0038] Para mejorar la biodiversidad y estimular el crecimiento de muchos organismos intestinales, la presente composición que comprende al menos galactooligosacáridos indigeribles, comprende preferiblemente dos oligosacáridos con una estructura diferente. La presente composición que comprende al menos galactooligosacáridos indigeribles comprende al menos dos oligosacáridos diferentes, donde los oligosacáridos tienen una homología en unidades de sacáridos por debajo de aproximadamente 90%, preferiblemente debajo de 50%, aún más preferiblemente debajo de 25%, aún más preferiblemente debajo de 5%. El término "homología" como se usa en la presente invención es el acumulativo del porcentaje de la misma unidad sacárida en los diferentes oligosacáridos. Por ejemplo, el oligosacárido 1 (OL1) tiene la estructura fruc-fruct-glu-gal, y por tanto comprende 50% fruc, 25% gal y 25% glu. El oligosacárido 2 (OL2) tiene la estructura fruc-fruc-glu, y por tanto comprende 66% fruc, 33% glu. Los diferentes oligosacáridos tienen por tanto una homología de 75% (50% fruc + 25% glu).

[0039] Preferiblemente la presente composición contiene galactooligosacáridos y fructopolisacáridos.

Aplicación

[0040] La presente composición se administra preferiblemente de forma enteral, más preferiblemente por vía oral. La presente composición es por lo tanto preferiblemente un líquido. El término "enteral" usado aquí comprende también una administración rectal o anal.

[0041] Cuando los bebés reciben fórmula de leche infantil, la presente composición que comprende al menos *B. Breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles, se incluye preferiblemente en la fórmula nutricional. Cuando los recién nacidos reciben nutrición por medio de un tubo, los microorganismos se pueden incluir adecuadamente en la nutrición administrada por medio de tubo. La estimulación de la diversidad es de gran importancia, por tanto la presente invención también proporciona una composición nutricional que comprende entre 5 y 25 % en energía de proteína; entre 25 y 60 % en energía de grasa; entre 30 y 70 % en energía de carbohidrato; al menos dos especies diferentes de Bifidobacterias y al menos una especie de *Lactobacillus*.

[0042] Cuando los bebés reciben leche materna, la presente composición se puede mezclar adecuadamente con leche materna. La presente invención también proporciona consecuentemente un método para la producción de nutrición de bebé adecuada para bebés nacidos por cesárea que comprende la mezcla de: A) leche materna; y B) una composición que comprende al menos *Bifidobacterium breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles. Las características preferidas de composición B) son como previsto anteriormente.

[0043] En otra forma de realización preferida la presente composición se administra al bebé en un volumen muy pequeño, por ejemplo "inoculando" al bebé. Preferiblemente, la presente composición se administra al bebé con una jeringa, pipeta o tubo, preferiblemente directamente después del nacimiento. En otra forma de realización preferida, la presente composición se administra al bebé nacido por cesárea por vía rectal o anal, preferiblemente en forma de un supositorio, píldora o comprimido. Por lo tanto, la presente invención también proporciona un supositorio, píldora o comprimido adecuado para la administración rectal a un bebé con la edad por debajo de un año, donde dicho supositorio, píldora o comprimido contiene al menos *Bifidobacterium breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles como descrito anteriormente.

[0044] En otra forma de realización preferida la presente invención proporciona un método que estimula la flora intestinal de un bebé que comprende la administración por vía rectal a un bebé menor de 3 años de una composición que comprende al menos *Bifidobacterium breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles. Preferiblemente, el bebé es menor de 1 año, más preferiblemente menor de 2 semanas. El bebé ha nacido por cesárea.

[0045] Este procedimiento tiene la ventaja de que no interfiere con la práctica de lactancia normal y tiene alta similitud con la inoculación vaginal, que ocurre durante nacimiento. La presente invención también proporciona una composición para el uso tal y como se define en la reivindicación 1, que comprende la administración al bebé y dentro de 100 horas después del nacimiento, preferiblemente dentro de 72 horas después del nacimiento, de la forma más preferible dentro de 48 horas después nacimiento, una composición que comprende al menos *Bifidobacterium breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles.

[0046] La composición es preferiblemente adecuada para la administración directamente después del nacimiento. Por lo tanto, en otra forma de realización preferida, la presente invención proporciona un contenedor

que comprende una composición líquida con un volumen entre 0,5 y 50 ml, que contiene la presente composición. El líquido con al menos Bifidobacterium breve y al menos galactooligosacáridos indigeribles se usar adecuadamente en el presente método. Preferiblemente el líquido tiene un volumen entre 0,5 y 25 ml. Este volumen es preferiblemente pequeño, porque de otro modo podría interferir con el comportamiento de apetito y bebida del bebé.

[0047] De forma similar y comprendido en esta invención está un contenedor con una composición seca reconstituible con la presente composición, donde el contenedor tiene un volumen de entre 0.5 y 50 ml. Este contenedor está preferiblemente acompañado de instrucciones para reconstituir el polvo en un volumen pequeño de líquido, por ejemplo, agua.

[0048] Cuando los bebés reciben fórmula de leche infantil, la presente composición con microorganismos que comprende al menos *Bifidobacterium breve* y al menos un galactooligosacárido indigerible, se incluye preferiblemente en la fórmula nutricional. El probiótico y/o prebiótico se puede añadir de forma separada a a la fórmula infantil. Cuando los recién nacidos se alimentan a través de un tubo, los microorganismos se pueden incluir adecuadamente en la nutrición administrada por medio de un tubo. Es de gran importancia estimular la diversidad, de forma que la presente invención también proporciona una composición nutricional que comprende entre 5 y 25 % en energía de proteína; entre 25 y 60 % en energía de grasa; entre 30 y 70 % en energía de carbohidrato; al menos dos especies diferentes de *Bifidobacterias* y al menos una especie de *Lactobacillus*.

[0049] Cuando los bebés reciben leche materna, la presente composición se puede mezclar adecuadamente con leche materna. La presente descripción también proporciona consecuentemente un método para la producción de alimentación de bebé adecuada para bebés nacidos por cesárea que comprende la mezcla de: A) leche materna; y B) una composición que comprende: (i) al menos dos microorganismos diferentes; o (ii) al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible; o (iii) al menos dos especies, subespecie o cepas de *Bifidobacterias* diferentes,. Las características preferidas de la composición B) están descritas anteriormente.

[0050] En otra forma de realización preferida la presente composición se administra al bebé en un volumen muy pequeño, por ejemplo por "inoculación" del bebé. Preferiblemente, la presente composición se administra al bebé con una jeringa, pipeta o tubo, preferiblemente directamente después del nacimiento. En otra forma de realización preferida, la presente composición se administra por vía rectal o anal al bebé nacido por cesárea, preferiblemente en forma de un supositorio, píldora o comprimido. Por lo tanto, la presente invención también proporciona un supositorio, píldora o comprimido adecuado para la administración rectal a un bebé menor de un año, donde dicho supositorio, píldora o comprimido contiene microorganismos y/o oligosacáridos indigeribles, preferiblemente la presente composición tal y como se ha descrito anteriormente.

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

[0052] Este procedimiento tiene la ventaja que no interfiere con la práctica de lactancia normal y tiene alta similitud con la inoculación vaginal, que tiene lugar durante el nacimiento. La presente invención también proporciona un método para estimular la salud de un bebé nacido por cesárea, que comprende la administración al bebé y dentro de 100 horas después del nacimiento, preferiblemente dentro de 72 horas después del nacimiento, de la forma más preferible dentro de 48 horas después del nacimiento, de una composición que contiene microorganismos y/o oligosacáridos indigeribles.

[0053] La composición es preferiblemente adecuada para administrarla directamente después del nacimiento. Por lo tanto, en otra forma de realización preferida, la presente invención proporciona un contenedor que comprende una composición líquida con un volumen entre 0,5 y 50 ml, que contiene la presente composición. El líquido con el presente microorganismo, opcionalmente combinado con oligosacáridos indigeribles, se puede usar adecuadamente en el presente método. Preferiblemente, el líquido tiene un volumen entre 0,5 y 25 ml. Este volumen es preferiblemente pequeño, porque de otro modo podría interferir con los comportamientos referidos al apetito y la bebida del bebé.

[0054] De forma similar y comprendido en esta invención está un contenedor con una composición seca reconstituible que contiene la presente composición, donde el contenedor tiene un volumen de entre 0.5 y 50 ml. Este contenedor está preferiblemente acompañado de instrucciones para reconstituir el polvo en un volumen pequeño de líquido, por ejemplo agua.

[0055] La presente descripción proporciona por tanto también un método para estimular el desarrollo de una flora intestinal sana en un bebé que comprende el paso A: mezclar I) un líquido en particular nutricional o farmacéuticamente aceptable; y II) una composición seca, donde la composición seca II comprende al menos dos microorganismos diferentes; o al menos un microorganismo y al menos un oligosacárido indigerible; o al

menos dos especies, subespecies o cepas de Bifidobacterias diferentes; y paso B) administrar la composición obtenida en el paso a) a un bebé nacido por cesárea.

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

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Caracterización molecular de microbiota intestinal en bebés nacidos por parto vaginal vs cesárea

[0057] En el presente estudio la influencia del modo de parto (parto por cesárea vs. parto vaginal) en la composición microbiana intestinal en el tercer día de vida usando electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización de PCR (DGGE) y electroforesis en gel de gradiente de temperatura de PCR (TGGE). Se han usado tanto los análisis DGGE como TGGE, junto con las amplificaciones específicas para diez especies de *Bifidobacterium*.

[0058] Después de obtener el consentimiento informado escrito de los padres, veintitrés recién nacidos se inscribieron en el estudio después del parto por cesárea y vaginal. Las muestras fecales se obtuvieron el tercer día de vida. El ADN microbiano se extrajo y analizó según Favier et al, Environ Microbiol 2002; 68:219-226 and Satokari et al, Appl Environ Microbiol 2001; 67:504-513; Satorkari et al System Appl Microbiol 2003; 26:572-584.

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

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

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

Tabla 1: Cesárea

Recién nacido	*B. breve*	*B. infantis*	*B. dentium*	*B. angulatum*	*B. bifidum*	*B. lactis*	*grupo B. catenulatum*	*B. adolescentis*	*B. longum*	*B. gallicum*
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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

Tabla 2: Normal

Recién Nacido	*B. breve*	*B. infantis*	*B. dentium*	*B. angulatum*	*B. bifidum*	*B. lactis*	*grupo B. catenulatum*	*B. adolescentis*	*B. longum*	*B. gallicum*
1a	-	+	-	-	-	-	-	-	++	-
2a	+/-	-	-	-	++	-	++	-	++	-
3a	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4a	+/-	-	-	-	-	-	++	+	+	-
5a	+/-	-	-	-	++	-	++	-	++	++
6a	-	-	-	-	+/-	-	++	-	++	-
7a	-	-	-	-	+/-	-	++	++	-	-
8a	++	++	-	-	-	-	+	++	-	-
9a	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-
10a	++	-	-	-	-	-	+	+	-	-
11a	++	-	-	-	++	-	++	-	++	-
12a	+	+	-	-	+	-	+	-	++	-
13a	+/-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
16a	-	-	-	-	-	-	++	-	+	-
17a			-	-	+	-	+	-	+	-
18a	+/-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
19a	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
20a	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
21a	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-
22a	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
23a	+	-	-	-	-	-	++	-	+	-

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

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

[0062] Objetivo: la capacidad de galactooligosacáridos (GOS) y una combinación de GOS e inulina para favorecer la actividad de bacterias de ácido láctico fue evaluada utilizando un sistema *in vitro* por lotes de fermentación semidinámico usando heces de bebés. Se determinó la cantidad de lactato, puesto que este es el producto de fermentación de bacterias de ácido láctico con Bifidobacterias.

[0063] Método: Se obtuvieron heces frescas de bebés sanos alimentados a biberón. Se recogió material fecal fresco de bebés de 1 a 4 meses y se puso en un medio de conservación (peptona tamponada 20,0 g/l, L-Cisteína-HCl 0,5 g/l, tioglicolato de sodio 0,5 g/l, comprimido de resazurina 1/1, pH 6.7) en 1 h y se almacenó a 4 °C durante como mucho 2 h antes de empezar el experimento de fermentación.

[0064] La solución conservada de heces fue centrifugada a 13,000 r.p.m. durante 15 min. El sobrenadante se retiró y las heces se mezclaron con el medio McBain & MacFarlane (agua de peptona tamponada 3,0 g/l, extracto de levadura 2,5 g/l, mucina (bordes de cepillo) 0,8 g/l, triptona 3,0 g/l, L-Cisteína-HCl 0,4 g/l, sales de bilis 0,05 g/l, K_2HPO_4,$3H_2O$ 2,6 g/l, $NaHCO_3$ 0,2 g/l, NaCl 4,5 g/l, $MgSO_4$,$7H_2O$ 0,5 g/l, $CaCl_2$ 0,228 g/l, $FeSO_4$ 0,005 g/l), que es representativa para el ambiente intestinal, en una proporción en peso de 1:5.

[0065] A t = 0, se combinaron 15 ml de la suspensión fecal con 500 mg de prebiótico en una botella y se mezclaron íntegramente. Como un control no se añadió ningún prebiótico. Los prebióticos añadidos eran como sigue:

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

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

[0067] 15 ml se transfirieron a un tubo de diálisis en una botella de 250 ml rellena de 250 ml de medio tamponado ($K_2HPO_4.3H_2O$ 2,6 g/l, $NaHCO_3$ 0,2 g/l, NaCl 4,5 g/l, $MgSO_4.7H_2O$ 0,5 g/l, $CaCl_2$ 0,228 g/l, $FeSO_4$.7H2O 0,005 g/l, pH 6.3(?)). La botella se cerró e incubó a 37 °C. Se tomaron muestras de 1 ml del tubo de diálisis y del tampón de diálisis con una jeringa hipodérmica después de 3 h y se almacenaron a -18 °C. Los experimentos fueron realizados por duplicado.
El lactato fue determinado enzimáticamente, utilizando un equipo de detección de ácido de L-lactato con D- y L-lactato-deshidrogenasa (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania).

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

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

Ejemplo 3: Método para alimentar a bebés nacidos por cesárea

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

Ejemplo 4: Composición empaquetada

[0071] Composición empaquetada donde el paquete indica que el producto es en particular adecuado para la alimentación oral de bebés nacidos por cesárea, comprendiendo dicha composición *Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium catenulatum, Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium longum,* galactooligosacáridos e inulina.

Ejemplo 5: Composición empaquetada

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

Ejemplo 6: Administración rectal

[0073] Pll adecuado para administración rectal a un bebé dentro de dos semanas después del nacimiento, que comprende galactooligosacáridos y *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*.

REIVINDICACIONES

1. Composición para usar para aumentar la biodiversidad de microorganismos en la flora intestinal en un bebé nacido por cesárea por administración enteral de dicha composición a dicho bebé, donde dicha composición comprende al menos *Bifidobacterium breve* y al menos galactooligosacáridos indigeribles.

2. Composición para usar según la reivindicación 1, donde dicha composición se administra por vía oral, y donde dicha composición está en forma de una fórmula de leche infantil o una composición seca reconstituible; o donde dicha composición se administra por vía rectal, y donde dicha composición está en forma de un supositorio, una píldora o un comprimido.

3. Composición para usar según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde los galactooligosacáridos son transgalactooligosacáridos ([galactosa]n-glucosa), donde n es un número entero entre 1 y 60.

4. Composición para usar según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la composición comprende entre 5 y 25 % en energía de proteína, entre 25 y 60 % en energía de grasa y entre 30 y 70 % en energía de carbohidrato.

5. Composición para usar según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la composición se administra a un bebé que recibe leche materna.

6. Composición para usar según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la composición se administra a el bebé dentro de una semana después del nacimiento, preferiblemente dentro de 100 horas después del nacimiento.

7. Composición para usar según la reivindicación 6, donde la composición está en forma líquida comprendida en un contenedor con un volumen entre 0,5 y 50 ml.

8. Composición para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la composición comprende galactooligosacáridos indigeribles y fructopolisacáridos indigeribles.