

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 681 519**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/19** (2006.01)

**A23L 33/21** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.06.2011 E 16171910 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.05.2018 EP 3097791**

54 Título: **Oligosacáridos no digeribles para inducción oral de tolerancia contra las proteínas dietéticas**

30 Prioridad:

**04.06.2010 WO PCT/EP2010/003374**

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

**13.09.2018**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**KNIPPELS, LEON MATTHIEU JOHANNES;  
VAN ESCH, ELISABETH CATHARINA ADRIANA  
MARIA y  
GARSSSEN, JOHAN**

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**

**ES 2 681 519 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**

Oligosacáridos no digeribles para inducción oral de tolerancia contra las proteínas dietéticas

5 Campo

[0001] La invención se refiere a una composición enteral que contiene un oligosacárido no digerible y un hidrolizado de proteínas parcial, que induce tolerancia inmunológica oral a las proteínas nativas en la dieta, en particular, a proteínas de leche.

10

Antecedentes

[0002] Durante el proceso común de nutrición se presentan proteínas dietéticas al sistema inmunológico vía el tracto gastro-intestinal sin una respuesta inmune a los nutrientes ingeridos.

15

Esta incapacidad de reacción se llama tolerancia inmunitaria oral o tolerancia oral.

La inducción de tolerancia inmunitaria oral es pertinente especialmente para bebés, que después del nacimiento están expuestos por primera vez a proteínas dietéticas y tienen que adaptarse a estas.

Si no se establece la tolerancia inmunitaria oral en bebés, se producirá la alergia alimenticia.

20

Las personas que sufren de alergia alimenticia requieren una dieta donde la proteína de alimenticia específica se evite.

[0003] Para bebés que padecen de alergia a proteína de la leche de vaca, hay fórmulas infantiles en el mercado que comprenden proteínas hidrolizadas extensivamente (hidrolizado de proteínas extenso) o aminoácidos libres incluso meramente como fuente de nitrógeno.

25

En estas fórmulas ninguna proteína alergénica o péptidos está presente.

[0004] Los bebés nacidos de padres de los cuales uno o ambos padece de una enfermedad atópica o que tienen uno o más hermanos que padecen de una enfermedad atópica tienen un riesgo más alto de ser alérgicos a proteínas dietéticas.

30

Para este grupo, además de la lactancia preferida, las fórmulas hipoalergénicas están en el mercado, que comprenden un hidrolizado de proteínas parcial (proteínas parcialmente hidrolizadas).

Estas proteínas hidrolizadas parcialmente tienen una alergenicidad disminuida.

Se ha demostrado que este método es eficaz para prevenir la sensibilización por proteínas nativas presentes en las fórmulas adaptadas.

35

Típicamente, la extensión de hidrólisis de proteínas es inferior a aquella de proteínas hidrolizadas extensivamente para bebés que ya padecen de alergia.

Estas formulaciones tienen la ventaja de que estas no solo reducen el riesgo de desarrollar una respuesta alérgica por prevención de la sensibilización a la proteína, pero también inducen por vía oral una tolerancia inmunológica a la proteína intacta.

40

Esto tiene la ventaja que más adelante la proteína nativa se puede introducir en la dieta, con un riesgo reducido a reacciones alérgicas.

[0005] La EP 1 557 096 divulga un alimento infantil con hidrolizado de caseína hipoalergénica y cepas probióticas de bacterias de ácido láctico.

45

Para inducción de tolerancia se prefiere un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial.

[0006] La EP 2 044 851 divulga una composición nutricional con proteína de la leche hidrolizada parcialmente con un grado de hidrólisis entre 15 % y 25 % y 50 a 1000 ng de TGF-beta por 100 ml para la prevención primaria de reacciones alérgicas para proteína dietética y la prevención de desarrollo de enfermedades atópicas en mamíferos jóvenes.

50

[0007] La EP 0 629 350 divulga el uso de hidrosilatos de proteínas de suero de leche no alergénicas que se dice que son capaces de inducir la tolerancia de proteína de leche de vaca.

55

[0008] La EP 0 827 697 divulga el uso de suero de leche, que ha sido hidrolizado enzimáticamente para la preparación de composiciones que inducen la tolerancia oral a leche de vaca en mamíferos susceptibles.

El suero de leche tiene un nivel de detección inmunológica de proteínas alergénicas  $\geq$  100 veces menor que el de suero de leche no hidrolizado.

60

[0009] La WO 00/42863 divulga una composición hipoalergénica para la inducción de tolerancia de proteína en bebés de riesgo de alergia a proteína, que comprende una base hidrolizada extensivamente de proteína no alergénica y/o una base de aminoácido libre, dicha composición comprende como la sustancia activa al menos un péptido tolerogénico de la proteína alergénica.

[0010] La WO 2008/153391 divulga fórmulas para lactantes que comprenden GOS y FOS, al igual que proteína de suero de leche hidrolizada extensivamente o parcialmente, que previene la alergia alimenticia e hipersensibilidad y mejora la flora intestinal.

5 [0011] Sin embargo, las composiciones hipoalergénicas de la técnica anterior frecuentemente proporcionan sus efectos simplemente evitando la presencia de alérgenos potenciales, proporcionando así solo un efecto de prevención secundaria y/o estas requieren la presencia de constituyentes especiales tales como probióticos o factores de crecimiento.

10 [0012] Todavía hay una necesidad de nutrición para sujetos en riesgo de desarrollo o padecimiento de alergia alimenticia con efectos mejorados en la inducción de tolerancia inmunitaria.

15 [0013] Así, el problema técnico subyacente a la presente invención es proporcionar composiciones, métodos y medios para la superación de las desventajas anteriormente identificadas, en particular, una tolerancia oral mejorada, en particular, proporcionar un efecto de prevención de alergia primaria mejorado, contra las proteínas dietéticas en seres humanos, en particular, seres humanos en riesgo de desarrollar una alergia alimenticia.

#### Resumen de la invención

20 [0014] Los presentes inventores descubrieron que la capacidad de un hidrolizado de proteína de la leche parcial, que comprende péptidos de beta-lactoglobulina seleccionados de la SEQ ID N.º 1-4, para inducir tolerancia inmunitaria oral aumentaron sinérgicamente y significativamente cuando los oligosacáridos concomitantemente no digeribles, que comprenden  $\beta$ -galactooligosacárido ( $\beta$ -GOS) y fructo-oligosacárido (FOS) fueron administrados también mediante la dieta.

25 Se ha observado que ratones, que fueron sensibilizados para proteína de suero de leche intacta mostraron una respuesta de piel alérgica aguda después de un desafío intradérmico con proteína de suero de leche intacta. Esta respuesta fue reducida después de un desafío intradérmico con proteína de suero de leche hidrolizada bien extensivamente o parcialmente.

30 En el caso de que estos ratones sensibilizados fueran pretratados por administración oral de hidrolizado de proteína de suero de leche parcial o con proteína de suero de leche intacta antes de sensibilización se observó una respuesta de la piel aguda reducida significativamente para proteína de suero de leche intradérmica intacta. Esta reducción del efecto de respuesta no se observó cuando se administró por vía oral un hidrolizado de proteínas de suero de leche como pretratamiento extenso.

35 [0015] Sorprendentemente, se observó que cuando durante el pretratamiento con hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial los ratones fueron también pretratados con oligosacáridos no digeribles, la respuesta de piel aguda fue reducida además sinérgicamente.

La presente invención, en particular el uso de los oligosacáridos no digeribles para potenciar el efecto del hidrolizado de proteínas parcial, podría incluso conseguir una abolición completa de la respuesta de piel aguda.

40 Esto aumentó y por lo tanto mejoró el efecto en la inducción de tolerancia inmunitaria oral debido a que la presencia de los oligosacáridos no digeribles no se observó después de un pretratamiento con una dieta con oligosacáridos no digeribles (de ahora en adelante llamado también NDO) solo o después de un pretratamiento con hidrolizado de proteínas de suero de leche extenso y una dieta que comprende NDO. Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición enteral que comprende una combinación de un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial, que comprende al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-4 y oligosacáridos no digeribles, que comprenden  $\beta$ -GOS y FOS, preferiblemente para usar en la inducción mejorada de tolerancia contra las proteínas dietéticas, en particular contra la proteína de la leche, proteína de suero de leche, más particular, preferiblemente en seres humanos.

50 La presente composición es beneficiosa especialmente para usar en bebés, más preferiblemente, en bebés en riesgo de desarrollar alergia alimenticia.

[0016] Además, según la presente invención, las secuencias específicas de péptidos específicos de la beta-lactoglobulina de proteína de suero de leche fueron identificadas, que son capaces de inducir tolerancia inmunitaria oral contra la proteína de suero de leche intacta si se administra como un pretratamiento para ratones sensibilizados a proteína de suero de leche intacta.

Este efecto fue mejorado sinérgicamente por pretratamiento concomitante con oligosacáridos no digeribles.

60 [0017] Lista de ejemplos de realización que se describe aquí pero que necesariamente no forma parte de la invención como se reivindica:

Forma de realización 1. Una composición enteral que comprende oligosacáridos no digeribles y al menos un hidrolizado de proteínas parcial, donde el hidrolizado de proteínas parcial es hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial y donde el oligosacárido no digerible es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico.

Forma de realización 2. La composición enteral según la forma de realización 1 para usar en la inducción de tolerancia oral contra las proteínas dietéticas o la prevención de alergia alimenticia o enfermedad inflamatoria intestinal.

Forma de realización 3. La composición enteral según forma de realización 1 o 2, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial es un hidrolizado de beta-lactoglobulina parcial.

Forma de realización 4. La composición enteral según cualquiera de los ejemplos de realización 1 a 3, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial es natural o sintético.

Forma de realización 5. La composición enteral según cualquiera de los ejemplos de realización 1 a 4, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial comprende al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4, donde el péptido tiene preferiblemente un peso molecular de por debajo de 5 kDa.

Forma de realización 6. La composición enteral que comprende oligosacáridos no digeribles, donde el oligosacárido no digerible es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico y al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4, donde el péptido tiene preferiblemente un peso molecular de por debajo de 5 kDa para usar en la prevención de alergia alimenticia o enfermedad inflamatoria intestinal.

Forma de realización 7. Composición enteral que comprende oligosacáridos no digeribles, donde el oligosacárido no digerible es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico y al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4, donde el péptido tiene preferiblemente un peso molecular de por debajo de 5 kDa para usar en la inducción de tolerancia oral contra las proteínas dietéticas.

Forma de realización 8. Composición enteral según cualquiera de ejemplos de realización 5 a 7, donde al menos un péptido de beta-lactoglobulina es independientemente sustituido con 1 a 10 de cualquier aminoácido en su terminal C y/o N.

Forma de realización 9. La composición enteral según cualquiera de ejemplos de realización 1 a 4, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial está caracterizado por el hecho de que este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa.

Forma de realización 10. Composición enteral de los ejemplos de realización 1 a 4 o 9, donde la distribución de tamaño de los péptidos en el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial es 60 a 90 % < 1 kDa, 5 a 20 % 1 a < 2 kDa, 2 a 16 % 2 a < 5 kDa, 0.6 a 3 % 5 a < 10 kDa, 0.5 a 2 % 10 a 20 kDa y 1 a 3 % > 20 kDa (basado en peso en seco de péptidos presentes en hidrolizado de proteína parcial).

Forma de realización 11. Composición enteral según cualquiera de ejemplos de realización 1 a 4, 9 o 10, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial se caracteriza por una proporción de la cantidad relativa (% en peso) de péptidos con un tamaño de 2 a < 5 kDa a la cantidad relativa (% en peso) de péptidos con un tamaño de al menos 5 kDa es (5 a 1):1, preferiblemente (4 a 1):1.

Forma de realización 12. Composición enteral según cualquiera de los ejemplos de realización 1 a 11, donde la composición comprende un componente de proteína, un componente lipídico y carbohidratos digeribles y donde el componente de proteína está presente en una cantidad de 5 a 25 % basada en calorías totales de la composición.

Forma de realización 13. Composición enteral según cualquiera de los ejemplos de realización 1 a 12, donde la composición comprende 0.05 a 20 % en peso de oligosacárido no digerible basado en peso en seco de la composición.

Forma de realización 14. Composición enteral según cualquiera de ejemplos de realización 1 a 13, que comprende

- a) al menos 5 % en peso de hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial o al menos 5 % en peso de al menos un péptido de beta-lactoglobulina, cada uno basado en el peso en seco de la composición y
- b) al menos 1 % en peso de la suma de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico basado en peso en seco de la composición, donde la proporción en peso de galacto-oligosacáridos: fructo-oligosacáridos: oligosacáridos de ácido galacturónico es (20-4): (0.5-2): 1.

Forma de realización 15. Composición enteral según cualquiera de los ejemplos de realización 1 a 14, que es una fórmula infantil o preparado de continuación.

Forma de realización 16. Proceso para la preparación de la composición enteral con un efecto de inducción de tolerancia oral mejorado de cualquiera de los ejemplos de realización 1 a 15, donde al menos un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial o al menos un péptido de beta-lactoglobulina y al menos un oligosacárido no digerible se mezclan y se obtiene la composición con un efecto de inducción a la tolerancia oral mejorado, donde el oligosacárido no digerible es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico.

#### Descripción detallada

[0018] Así, la presente invención resuelve su problema técnico en particular proporcionando la enseñanza para usar un oligosacárido no digerible, que comprende  $\beta$ -GOS y FOS, para el aumento del efecto de inducción de tolerancia oral de un hidrolizado de proteínas parcial tal y como se define en la reivindicación 1 de la presente

invención contra las proteínas dietéticas, preferiblemente donde el hidrolizado de proteínas parcial se caracteriza por el hecho de que este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa.

5 [0019] El problema técnico se resuelve también proporcionando la enseñanza para usar un oligosacárido no digerible, que comprende  $\beta$ -GOS y FOS, para el aumento del efecto de prevención de alergia primaria de un hidrolizado de proteína parcial de la presente invención contra las proteínas dietéticas, preferiblemente donde el hidrolizado de proteínas parcial se caracteriza por el hecho de que este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un peso molecular de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa.

10 [0020] Los oligosacáridos no digeribles para el aumento del efecto de inducción de tolerancia oral de un hidrolizado de proteínas parcial o para el aumento del efecto de prevención de alergia primaria de un hidrolizado de proteínas parcial son contenidos junto con el hidrolizado de proteínas parcial en una la composición enteral de la presente invención.

15 [0021] Así, la presente invención resuelve su problema técnico por la provisión de una composición enteral que comprende oligosacáridos no digeribles, que comprende  $\beta$ -GOS y FOS, y al menos un hidrolizado de proteínas parcial según la reivindicación 1 de la presente invención para usar en la inducción, preferiblemente mejorada, de tolerancia oral contra las proteínas dietéticas, preferiblemente el hidrolizado de proteínas parcial está caracterizado por el hecho de que este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un peso molecular de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa.

20 [0022] La presente invención resuelve su problema técnico también proporcionando una composición enteral, que comprende oligosacáridos no digeribles y al menos un hidrolizado de proteínas parcial tal y como se define en la reivindicación 1, donde el hidrolizado de proteínas parcial es hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial y donde el oligosacárido no digerible s comprende  $\beta$ -GOS y FOS, para usar en la inducción de tolerancia oral contra las proteínas dietéticas.

25 [0023] La presente invención resuelve su problema técnico en particular también proporcionando una composición enteral, donde el hidrolizado de proteínas parcial tal y como se define en la reivindicación 1 es hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial y donde los oligosacáridos no digeribles comprenden  $\beta$ -GOS y FOS.

30 [0024] La presente invención resuelve su problema subyacente también por la provisión de un proceso para la preparación de una composición enteral con un efecto de inducción de tolerancia oral, preferiblemente mejorado, donde al menos un hidrolizado de proteína parcial tal y como se define en la reivindicación 1 de la presente invención, preferiblemente un hidrolizado de proteínas parcial que comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un peso molecular de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa y oligosacárido no digerible que comprende  $\beta$ -GOS y FOS se mezclan y se obtiene la composición enteral con un efecto de inducción de tolerancia preferiblemente mejorado oral.

35 [0025] En una forma de realización preferida además de la presente invención, un método para alimentar a un sujeto, en particular a un bebé, se proporciona, preferiblemente, un método para tratar, en particular, prevenir la alergia, preferiblemente, alergia alimenticia y/o enfermedades atópicas, con eczema atópico y/o asma y/o rinitis y/o dermatitis, dicho método comprende la administración de la presente composición enteral a un sujeto con la necesidad del mismo, en particular, un bebé, en particular, un infante en riesgo de desarrollar tal enfermedad.

40 [0026] Así, la presente invención entre otras cosas está basada en el hallazgo sorprendente y ventajoso de que un oligosacárido no digerible es útil para mejorar, lo que significa aumentar, el efecto de inducción de tolerancia oral de un hidrolizado de proteínas parcial.

45 En particular, la presente invención enseña a usar un oligosacárido no digerible para mejorar, lo que significa aumentar, el efecto de inducción de tolerancia oral de un hidrolizado de proteínas parcial y así también mejorar, lo que significa aumentar, el efecto de prevención de alergia primario de un hidrolizado de proteínas parcial.

50 [0027] La presente invención es, en particular, ventajosa en cuanto a que esta proporciona una tolerancia oral y un efecto de prevención de alergia primario que es al menos como bueno y eficaz, ya que usa proteína de suero de leche intacta para inducir tolerancia y prevención de alergia mientras que, sin embargo, el riesgo de provocar respuestas alérgicas es mucho menor cuando se usa el hidrolizado de proteínas parcial combinado con los NDO según la presente invención.

55 [0028] En el contexto de la presente invención por un aumento se entiende un incremento, en particular un incremento significativo, a partir de un valor básico dado medible a un valor medible significativamente sobre el valor básico.

60

[0029] En el contexto de la presente invención, un aumento de una tolerancia oral inducida por el hidrolizado de proteína parcial se mide según el ejemplo 1 de la presente enseñanza en el modelo de ratón dado para determinar la tolerancia oral a proteínas.

Por consiguiente, un estado de una tolerancia oral inducida por el hidrolizado de proteína parcial útil como un valor fundamental se indica por una hipersensibilidad de tipo inmediato (ITH) de 35 a 90 % de una tolerancia oral no inducida con un valor ITH de 100 %. Un aumento significativo de dicha tolerancia oral inducida se caracteriza por un tipo de hipersensibilidad inmediata de 0 a 30%, preferiblemente 0 a 25%, preferiblemente 0 a 20%, preferiblemente 0 a 10%, de la forma más preferible 0 % de la tolerancia oral no inducida con un valor ITH de 100 %. Así, un aumento de una tolerancia oral inducida significa preferiblemente al menos 15%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90 % y preferiblemente 100 % de la reducción del valor básico de una tolerancia oral inducida, indicado por un tipo inmediato de hipersensibilidad medida en la prueba de modelo de ratón como se ha dado arriba.

[0030] El valor relativo para el ITH se convierte en el valor de tolerancia oral por la siguiente fórmula de cálculo: 100 menos ITH = valor de tolerancia.

Así, de la forma más preferible un aumento de una tolerancia oral inducida por el hidrolizado de proteína parcial lleva a una tolerancia completa, que significa un 60 a 100%, preferiblemente 90 a 100%, preferiblemente 95 a 100%, de la forma más preferible 100 % de tolerancia, contra las proteínas dietéticas.

[0031] En el contexto de la presente invención un aumento de un efecto de prevención de alergia primario de un hidrolizado de proteína parcial se mide según el ejemplo 1 de la presente enseñanza en el modelo de ratón dado para determinar la tolerancia oral a proteínas.

Por consiguiente, un estado de un efecto de prevención de alergia primario de un hidrolizado de proteína parcial útil como un valor fundamental se indica por una hipersensibilidad de tipo inmediato (ITH) de 35 a 90 % de un estado de alergia desarrollado completamente con un valor ITH de 100 %. Un aumento significativo de dicho efecto de prevención de alergia primario se caracteriza por un tipo inmediato de hipersensibilidad de 0 a 30%, preferiblemente 0 a 25%, preferiblemente 0 a 20%, preferiblemente 0 a 10%, de la forma más preferible 0 % de un estado de alergia desarrollado completamente con un valor ITH de 100 %. Así, un aumento de un efecto de prevención de alergia primario significa preferiblemente al menos 15%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90 % y preferiblemente 100 % de reducción del valor básico del efecto de prevención de alergia primario provocado por el hidrolizado de proteína parcial indicado por el tipo inmediato de hipersensibilidad medido en la prueba de modelo de ratón dada arriba.

Así, de la forma más preferible, un realce de un efecto de prevención de alergia primario de un hidrolizado de proteínas parcial lleva a una prevención de alergia primaria completa, que significa un 90 a 100%, preferiblemente 95 a 100%, de la forma más preferible 100 % de tolerancia, contra las proteínas dietéticas.

[0032] En el contexto de la presente invención una prevención de alergia primaria, que se basa en un efecto de prevención de alergia primario es un tratamiento profiláctico con motivo de parcialmente, preferiblemente totalmente, prevenir el desarrollo y desarrollar los síntomas de una alergia en un sujeto de riesgo o incluso de alto riesgo.

En el contexto de la presente invención, el efecto de prevención de alergia primario es un efecto de modulación de sistema inmunitario.

El efecto de prevención de alergia primario no incluye un efecto de prevención de alergia secundario provocado por la evitación de constituyentes alimenticios de la dieta que provocan alergia.

[0033] En el contexto de la presente invención, el término "5 kDa o superior" significa "al menos 5 kDa". En el contexto de la presente invención del término "por debajo de 5 kDa" significa hasta pero excluyendo 5 kDa.

En el contexto de la presente invención, el término "tolerancia oral" significa preferiblemente tolerancia inmunitaria oral.

[0034] La presente invención también se refiere en una forma de realización preferida a una composición enteral que comprende oligosacáridos no digeribles y al menos un hidrolizado de proteínas parcial, donde el hidrolizado de proteínas parcial es hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial, preferiblemente, hidrolizado de beta-lactoglobulina parcial y donde el oligosacárido no digerible es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico.

La composición enteral es preferiblemente para usar en la inducción de tolerancia oral contra las proteínas dietéticas.

[0035] En una forma de realización preferida, el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial contenido en la composición enteral comprende al menos un péptido de proteína de la leche de mamífero específico, preferiblemente un péptido de proteína de suero de leche específico, más preferiblemente un péptido de beta-lactoglobulina específico.

El hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial puede ser natural o sintético, es decir, puede comprender péptidos naturales o sintéticos.

Preferiblemente, el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial comprende al menos un péptido de beta-lactoglobulina específico que consiste en 12 a 38, más preferiblemente 15 a 36 aminoácidos, aún más

preferiblemente 18 a 34 aminoácidos, de la forma más preferible 18 aminoácidos, de la secuencia de aminoácidos de beta-lactoglobulina.

Los péptidos beta-lactoglobulina específicos preferiblemente tienen un tamaño de por debajo de 5 kDa, en particular de 0.1 a 4.9 kDa, preferiblemente de 0.5 a 4.9, más preferiblemente de 2 a 4.9 kDa, de la forma más preferida de aproximadamente 2.4 kDa.

Sin pretender estar unido a la teoría, se cree que un tamaño inferior de los péptidos dará lugar a la inducción de tolerancia oral menor, debido a que el epítipo de inducción de tolerancia luego se presenta en una vía menos óptima a la célula T.

Un tamaño más alto por otro lado aumenta el riesgo en reacciones alérgicas, ya que la oportunidad en el cruce de conexión de dos moléculas IgE en un mastocito aumenta con un tamaño en aumento.

[0036] Al menos un péptido de beta-lactoglobulina preferiblemente comprende una secuencia, en particular una secuencia de aminoácidos, seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4. Más preferiblemente, la composición enteral comprende una mezcla que comprende dos, tres o preferiblemente cuatro péptidos que comprenden la SEC ID NOs 1 a 4. Cada uno de estos péptidos puede preferiblemente ser sustituido en su terminal C, su terminal N o ambos independientemente cada uno con 1 a 10 aminoácidos, preferiblemente 1 a 8 aminoácidos, más preferiblemente 1 a 5 aminoácidos, que pueden ser cualquier aminoácido.

El péptido de beta-lactoglobulina específico tiene preferiblemente un peso molecular por debajo de 5 kDa, en particular de 0.1 a 4.9 kDa, preferiblemente de 0.5 a 4.9, más preferiblemente de 2 a 4.9 kDa, de forma más preferible de aproximadamente 2.4 kDa.

[0037] En otra forma de realización preferida, el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial usado en la presente invención consiste en los péptidos de beta-lactoglobulina específicos anteriormente identificados.

[0038] Así, la presente invención también se refiere a una forma de realización preferida a una composición enteral que comprende oligosacáridos no digeribles, donde el oligosacárido no digerible es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico y al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4, donde el péptido tiene preferiblemente un peso molecular de por debajo de 5 kDa para usar en la prevención de alergia alimenticia o enfermedad inflamatoria intestinal.

Además, la presente invención también se refiere en una forma de realización preferida a una composición enteral que comprende oligosacáridos no digeribles, donde el oligosacárido no digerible es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico y al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4, donde el péptido tiene preferiblemente un peso molecular de por debajo de 5 kDa para usar en la inducción de tolerancia oral frente a las proteínas dietéticas.

[0039] Sorprendentemente, se ha observado que ratones, que fueron sensibilizados a proteína de suero de leche intacta mostraron una respuesta de piel aguda reducida significativamente para proteína de suero de leche intradérmica intacta cuando como un pretratamiento se administró una mezcla de los péptidos con la SEC ID NOs 1 a 4.

Además, se observó que cuando durante el pretratamiento con la mezcla de péptido, los ratones fueron también pretratados con oligosacáridos no digeribles, la respuesta de piel aguda fue reducida adicionalmente de forma sinérgica.

[0040] Preferiblemente, al menos un péptido específico está presente en la composición enteral en una concentración de al menos 100 mg, más preferiblemente al menos 120 mg, en particular al menos 150 mg, cada uno por 100 ml.

Hidrolizado de proteínas parcial de la presente invención

[0041] La presente composición comprende hidrolizado de proteínas parcial tal y como se define en la reivindicación 1, de ahora en adelante llamado también "proteína parcialmente hidrolizada". Preferiblemente, la presente composición no comprende proteína intacta no hidrolizada.

La proteína intacta no hidrolizada tiene una alergenicidad demasiado alta y puede de forma desfavorable evocar una reacción alérgica.

La presente la composición, en una forma de realización preferida, además del hidrolizado de proteínas parcial, puede comprender adicionalmente proteína hidrolizada extensivamente, también llamada hidrolizado de proteína extenso y/o aminoácidos libres.

La proteína hidrolizada extensivamente y/o aminoácidos libres no evocan una reacción alérgica, sino que tampoco tienen propiedades de inducción de tolerancia oral.

[0042] Preferiblemente, el hidrolizado de proteínas parcial se deriva de la leche de mamífero, más preferiblemente leche de vaca.

La proteína de leche humana es preferiblemente excluida de la presente invención.

- Preferiblemente, el hidrolizado de proteína parcial comprende o es hidrolizado de proteína de la leche mamífera parcial.
- Más preferiblemente, el hidrolizado de proteína parcial comprende o es hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial.
- 5 Más preferiblemente, el hidrolizado de proteína parcial comprende o es hidrolizado de beta-lactoglobulina parcial y/o hidrolizado de alfa-lactalbumina parcial.
- En otra forma de realización de la presente invención, el hidrolizado de proteína parcial comprende o es guisante, soja y/o hidrolizado de proteínas de arroz parcial.
- Más preferiblemente, el hidrolizado de proteína parcial comprende o es hidrolizado de caseína parcial.
- 10 [0043] La proteína para ser parcialmente hidrolizada para obtener el hidrolizado de proteína parcial de la presente invención puede ser cualquier composición que contenga una proteína, preferiblemente una proteína de la leche y es en particular una solución o dispersión, preferiblemente de proteínas de leche.
- 15 Preferiblemente, la proteína para ser hidrolizada parcialmente es proteína de suero de leche, proteína de suero de leche ácido, proteína de suero de leche dulce, concentrado de proteína de suero de leche, aislado de proteína de suero, polvo de suero de leche desmineralizado o caseinatos.
- [0044] Las enzimas proteolíticas usadas para la hidrólisis parcial pueden ser por ejemplo, de animal u orígenes vegetales (pepsina, quimiotripsina, tripsina, extracto de mucosa intestinal, extractos pancreáticos, quimosina, papaína, bromelaina, ficina), orígenes bacterianos o fúngicos (serina y metaloproteasas de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus orisae*, *Aspergillus wentii* y proteasas ácidas de *Aspergillus orizae*, *Aspergillus wentii*, *Mucor miehei*, *Mucor pusillus*, *Endothia parasitica*) o una combinación de estas.
- 20 [0045] Durante la hidrólisis, la concentración de la proteína en la solución o en la suspensión es preferiblemente alrededor de 5-20% en peso (% en peso) y podría ser pasteurizada antes de introducir proteasas. La proporción enzima/proteína puede ser 0.1-10% peso/peso y preferiblemente de aproximadamente 0.25 a 4%.
- 25 [0046] La hidrólisis se puede conducir a una temperatura de aproximadamente 35 °C a 65 °C, durante 30 minutos a 10 horas, preferiblemente 30 min a 4 horas a valores de pH de en el rango de 2.5 a 11, preferiblemente 4.5, a 7.0, 8.0, y 8.5. Si se desea, el pH de la solución se puede ajustar y regular con ácido cítrico, calidad alimenticia HCl o NaOH, NH<sub>4</sub>OH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub> por ejemplo a una concentración de 2N puro o en la mezcla.
- 30 [0047] El proceso enzimático de hidrólisis se puede detener por enfriamiento rápido.
- 35 [0048] Luego, el hidrolizado de proteínas se puede someter a un tratamiento térmico de aproximadamente 0.1 a 10 min a una temperatura de aproximadamente 70 a 110 °C para inactivar enzimas residuales, es decir, proteasas.
- 40 [0049] La solución de hidrolizado de proteínas así obtenida se puede clarificar por centrifugación o filtración para eliminar proteínas insolubles e intactas respectivamente, y se recupera una solución clara. Es posible usar a escala industrial un tipo diferente de membranas (espiral, tubular plano, permitir fibras) hechas con materiales diferentes (minerales, polisulfona). Dependiendo del tipo de enzima, las condiciones de hidrólisis y el tipo de filtración, p. ej. las membranas usadas,
- 45 la distribución de tamaño de péptido deseado del hidrolizado de proteínas parcial se obtiene en este paso. La solución de hidrolizado claro recuperada puede, si se desea, ser concentrada por evaporación a un contenido de sólido seco de por ejemplo 10-50% para un tratamiento posterior o secado atomizado.
- [0050] La presente composición contiene preferiblemente un hidrolizado de proteínas parcial con un grado de hidrólisis de la proteína de 5 a 25%, más preferiblemente de 7.5 a 21%, de la forma más preferible de 10 a 20 %. El grado de hidrólisis se define como el porcentaje de enlaces de péptido que han sido descompuestos por hidrólisis enzimática, con 100 % que son los enlaces de péptido potencial total presentes. Las proteínas con el grado anteriormente mencionado de hidrólisis proporcionan péptidos suficientes con una longitud de cadena de 2 a 30.
- 50 [0051] En el siguiente, valores de % en peso (cantidad relativa) de péptidos se basan en peso en seco de péptidos en relación con el peso en seco de hidrolizado de proteína parcial total, si no se indica de otro modo.
- 55 [0052] El tamaño de péptido y distribución de peso molecular se pueden determinar por métodos rutinarios conocidos por la persona experta tal como HPLC o cromatografía de exclusión por tamaño (seg), en particular cromatografía de exclusión por tamaño de alto rendimiento. Un método adecuado se describe en Gonzalez-Tello et al, 1994, Enzymatic hydrolysis of whey proteins II. Molecular weight range. Biotech.Bioeng, 44,529-532.
- 60 [0053] En una forma de realización preferida de la presente invención, el hidrolizado de proteínas parcial se caracteriza por el hecho de que este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o
- 65

superior, preferiblemente al menos 3.5 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o superior, preferiblemente al menos 4 % en peso, más preferiblemente al menos 4.5 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o superior.

5 El hidrolizado de proteína parcial de la presente invención está posteriormente caracterizado por el hecho de que al menos 50 % en peso, preferiblemente al menos 55 % en peso, preferiblemente al menos 60 % en peso, preferiblemente al menos 70 % en peso de péptidos tienen un tamaño por debajo de 5 kDa.

10 [0054] Más preferiblemente, el hidrolizado de proteínas parcial comprende al menos 0.5 % en peso, preferiblemente al menos 1 % en peso, preferiblemente al menos 1.5 % en peso y de la forma más preferible al menos 2 % en peso de péptidos con un tamaño de por encima de 20 kDa.

Más preferiblemente, el hidrolizado de proteínas parcial comprende al menos 0.5 % en peso, preferiblemente al menos 1 % en peso, preferiblemente al menos 1.5 % en peso, preferiblemente al menos 2 % en peso como mucho 3.5 % en peso, preferiblemente como mucho 3.0 % en peso de péptidos con un tamaño por encima de 20 kDa.

15 [0055] En una forma de realización preferida además, el hidrolizado de proteína parcial comprende al menos 5 % en peso, preferiblemente 5 a 10 % en peso, preferiblemente 6 a 10 % en peso de péptidos con un tamaño de al menos 3 kDa.

20 [0056] Preferiblemente, el hidrolizado de proteína parcial de la presente invención se caracteriza por una proporción de la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de 2 a < 5 kDa a la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de al menos 5 kDa de (5 a 1):1, preferiblemente (4 a 1):1, preferiblemente (3 a 1):1, preferiblemente (2 a 1):1, preferiblemente 1:1.

25 [0057] En una forma de realización preferida, además de la presente invención, el hidrolizado de proteínas parcial comprende al menos 0.5 % en peso, preferiblemente al menos 0.6 % en peso, en particular 0.5 a 3.0 % en peso, preferiblemente 0.5 a 2.0 % en peso, preferiblemente 0.5 a 1.0 % en peso de péptidos con un tamaño de 10 a 20 kDa.

30 [0058] Preferiblemente, el hidrolizado de proteína parcial de la presente invención se caracteriza por una proporción de la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de 5 a 10 kDa a la cantidad relativa de péptidos con un tamaño superior a 20 kDa de (5 a 1):(1 a 5), preferiblemente (3 a 1):(1 a 3), más preferiblemente (2 a 1):(1 a 2), en particular 1:1.

35 [0059] En una forma de realización preferida además el hidrolizado de proteína parcial de la presente invención está particularmente caracterizado por una distribución de tamaño molecular de sus péptidos, donde la cantidad de peso relativa de péptidos con un tamaño de por encima de 20 kDa es más alta, en particular, al menos dos veces más alta, que la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de 10 a 20 kDa.

40 Así, en una forma de realización preferida de la presente invención, el hidrolizado de proteínas parcial se caracteriza por una proporción de la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de 10 a 20 kDa a la cantidad relativa de péptidos con un tamaño por encima de 20 kDa de 1 :(1.1 a 3), preferiblemente 1:(1.1 a 2.5), preferiblemente 1:(1.5 a 2).

45 [0060] En una forma de realización preferida además de la presente invención del hidrolizado de proteína parcial de la presente invención se caracteriza por el hecho de que la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de 10 a 20 kDa es inferior a la cantidad relativa de péptidos con un tamaño superior a 20 kDa e inferior a la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de 5 a 10 kDa.

50 Así, en una forma de realización preferida particularmente, el hidrolizado de proteína parcial se caracteriza por una distribución especial de los péptidos, en particular, de los péptidos con un tamaño de al menos 5 kDa, en particular, por una distribución, donde las cantidades de péptidos con un tamaño de por encima de 20 kDa y de péptidos con un tamaño de 5 a 10 kDa es superior a la cantidad relativa de péptidos con un tamaño de 10 a 20 kDa, y donde preferiblemente al menos 50 % en peso, de la forma más preferible al menos 60 % en peso de péptidos tienen un tamaño por debajo de 5 kDa.

55 [0061] En una forma de realización preferida, el hidrolizado de proteínas parcial está caracterizado por el hecho de que el hidrolizado comprende péptidos con la siguiente distribución de tamaño: 60 a 90 % en peso con un tamaño < 1 kDa, 5 a 20 % en peso de péptidos con un tamaño de 1 a < 2 kDa, 2 a 15 % en peso de péptidos con un tamaño de 2 a < 5 kDa, 0.6 a 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 a < 10 kDa, 0.5 a 2 % en peso de péptidos con un tamaño 10 a 20 kDa y 1 a 3 % en peso de péptidos con un tamaño > 20 kDa.

60 [0062] En una forma de realización preferida, el hidrolizado de proteínas parcial está caracterizado por el hecho de que el hidrolizado comprende péptidos con la siguiente distribución de tamaño: 85 a 90 % en peso péptidos con un tamaño < 1 kDa, 6 a 10 % en peso de péptidos con un tamaño de 1 a < 2 kDa, 2 a 6 % en peso de péptidos con un tamaño de 2 a < 5 kDa, 0.6 a 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 a < 10 kDa, 0.5 a 2 % en peso de péptidos con un tamaño de 10 a 20 kDa y 1 a 3 % en peso de péptidos con un tamaño > 20 kDa.

[0063] En una forma de realización preferida el hidrolizado de proteínas parcial viene caracterizado por el hecho de que el hidrolizado comprende péptidos con la siguiente distribución de tamaño: 85 % en peso < 1 kD, 8 % en peso 1 a < 2 kDa, 4 % en peso 2 a < 5 kDa, 1 % en peso 5 a < 10 kDa, 0.6 % en peso 10 a 20 kDa y 1.4 % en peso >20 kDa.

5

[0064] En otra forma de realización preferida, el hidrolizado de proteína parcial según la presente invención es hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial, más preferiblemente hidrolizado de beta-lactoglobulina parcial.

El hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial puede comprender o consistir en péptidos naturales como se ha descrito anteriormente.

10

Además, el hidrolizado de proteína parcial puede comprender o consistir en péptidos específicos y/o sintéticos.

Preferiblemente, los péptidos son péptidos específicos de una proteína de la leche de mamífero, preferiblemente, de proteína de suero de leche, de la forma más preferida de beta-lactoglobulina.

Los péptidos de beta-lactoglobulina específicos preferiblemente tienen un peso molecular de por debajo de 5 kDa, en particular, de 0.1 a 4.9 kDa, preferiblemente de 0.5 a 4.9, más preferiblemente de 2 a 4.9 kDa, de la forma más preferida de aproximadamente 2.4 kDa.

15

Preferiblemente, el péptido de beta-lactoglobulina específico consiste en 12 a 38, más preferiblemente 15 a 36 aminoácidos, aún más preferiblemente 18 a 34 aminoácidos, de la forma más preferible 18 aminoácidos, de la secuencia de aminoácidos de beta-lactoglobulina.

En la invención reivindicada, el péptido de beta-lactoglobulina específico comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4. Cada uno de estos péptidos se puede sustituir en su terminal C, su terminal N o ambos independientemente cada uno con 1 a 10 aminoácidos, preferiblemente 1 a 8 aminoácidos, más preferiblemente 1 a 5 aminoácidos, que pueden ser cualquier aminoácido.

20

El péptido de beta-lactoglobulina específico tiene preferiblemente un peso molecular por debajo de 5 kDa, en particular de 0.1 a 4.9 kDa, preferiblemente de 0.5 a 4.9, más preferiblemente de 2 a 4.9 kDa, de la forma más preferible de aproximadamente 2.4 kDa.

25

[0065] Sin embargo, está también previsto en otra forma de realización de la presente invención que los péptidos de beta-lactoglobulina específicos no son parte de un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial, sino en particular son la única fuente de proteína usada o estos se usan junto con componentes diferentes de un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial tales como aminoácidos libres o una proteína hidrolizada extensivamente.

30

Típicamente, los hidrolizados de proteína extensa tienen un contenido de aminoácido libre de por encima de 10 g por 100 g de proteína.

35

Preferiblemente, la término proteína como se usa aquí incluye péptidos y aminoácidos libres.

[0066] En una forma de realización preferida de la presente invención, la presente la composición enteral preferiblemente comprende al menos 7 % en peso, más preferiblemente al menos 8 % en peso, preferiblemente al menos 9 % en peso, preferiblemente 7 a 40 % en peso, más preferiblemente 7 a 20 % en peso y particularmente preferido de 7 a 15 % en peso de hidrolizado de proteína parcial basado en peso en seco de la composición total.

40

[0067] En una forma de realización preferida de la presente invención, la presente la composición enteral preferiblemente comprende como mucho 40 % en peso, preferiblemente como mucho 20 % en peso y de la forma más preferible como mucho 15 % en peso, preferiblemente 8 a 15 % en peso, preferiblemente 8 a 20 % en peso, preferiblemente 8 a 40 % en peso o preferiblemente 9 a 15 % en peso, preferiblemente 9 a 20 % en peso o 9 a 40 % en peso de hidrolizado de proteína parcial basado en peso en seco de la composición total.

45

[0068] La proteína hidrolizada extensivamente en la presente invención se refiere a proteína que ha sido hidrolizada y tiene menos de 3 % en peso de péptidos con un tamaño superior a 5 kDa.

50

Típicamente, la proteína hidrolizada extensivamente ha sido obtenida por hidrólisis de proteasa seguida de un paso de ultrafiltración junto con filtrado sobre una membrana con un corte de 5 o 3 kDa.

[0069] Las fuentes adecuadas y métodos para obtener hidrosilatos de proteína parcial se describen en el ejemplo 1 y en la WO0141581 p 13 línea 13 a p 16, línea 1.

55

[0070] En el contexto de la presente invención todas las cantidades relativas dadas en el porcentaje (%) de una composición indicada en general suman 100 % de la composición indicada en general.

60

[0071] En el contexto de la presente invención las palabras "comprimir" y "contener" y sus conjugaciones se usan en una forma de realización preferida en un sentido no limitativo para significar que los aspectos después de la redacción se incluyen, pero los aspectos no específicamente mencionados no se excluyen.

En el contexto de la presente invención, las expresiones "comprimir" o "contener" y sus conjugaciones se usan en otra forma de realización preferida en un sentido de limitación para significar que los aspectos después de las

65

expresiones se incluyen y los aspectos no específicamente mencionados se excluyen así igualando el significado de la expresión "consistir" y sus conjugaciones.

5 [0072] La referencia a un elemento de la presente invención, particularmente la composición o método, por el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que más de un elemento esté presente, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos.  
El artículo indefinido "uno" o "una" así normalmente significa "al menos uno".

Oligosacáridos no digeribles de la presente invención

10 [0073] La presente la composición comprende oligosacáridos no digeribles.  
Ventajosamente y de la forma más preferida, el oligosacárido no digerible es hidrosoluble (según el método descrito en L. Prosky et al, J. Asoc.Anal.Chem 71: 1017-1023,1988) y es preferiblemente un oligosacárido con un grado de polimerización (DP) de 2 a 200.

15 El DP medio del oligosacárido no digerible está preferiblemente por debajo de 200, más preferiblemente, por debajo de 100, aún más preferiblemente, por debajo de 60, de la forma más preferible, por debajo de 40.

El oligosacárido no digerible no se digiere en el intestino por la acción de enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo superior humano (intestino delgado y estómago).

El oligosacárido no digerible se fermenta por la microbiota intestinal humana.

20 Por ejemplo, glucosa, fructosa, galactosa, sacarosa, lactosa, maltosa y las maltodextrinas se consideran digeribles.

Las materias primas de oligosacárido pueden comprender monosacáridos tales como glucosa, fructosa, fucosa, galactosa, ramnosa, xilosa, ácido glucurónico, GalNac etc., pero estos no son parte de los oligosacáridos como en la presente invención.

25 [0074] El oligosacárido no digerible incluido en las composiciones y métodos según la presente invención incluye una mezcla de oligosacáridos no digeribles que comprende  $\beta$ -GOS y FOS. Descritos también son oligosacáridos no digeribles seleccionados del grupo que consiste en fructo-oligosacáridos, tal como inulina, dextrina no digerible, galacto-oligosacárido, tal como transgalacto-oligosacárido, xilooligosacárido, oligosacárido de arabino, oligosacárido de arabinogalacto, glucooligosacárido, tal como oligosacárido de gentio y ciclodextrina, glucomannooligosacárido, oligosacárido de galactomanno, oligosacárido de manano, quitoooligosacárido, oligosacárido de ácido urónico, oligosacárido sialilado, tal como 3-SL, 6-SL, LSTa,b,c, DSLNT, S-LNH, DS-LNH, y oligosacárido de fuco, tal como fucoidano (no)sulfatado OS, 2-FL, 3-FL, LNFP I, II, III, V, INnFPI LNDH, y sus mezclas derivadas, más preferiblemente fructo-oligosacárido, tal como inulina, galacto-oligosacárido, tal como transgalacto-oligosacárido, que es oligosacárido de ácido urónico  $\beta$  enlazado y oligosacárido de fuco y sus mezclas derivadas, aún más preferiblemente transgalacto-oligosacárido, inulina y/o oligosacáridos de ácido urónico, de la forma más preferible transgalacto-oligosacárido.

El oligosacárido no digerible tal y como se define en la reivindicación 1 es una mezcla de  $\beta$ -GOS y FOS, y los promedios de los parámetros respectivos se usan para la definición de la presente invención.

40 [0075] La presente invención proporciona una composición con dos oligosacáridos no digeribles diferentes, es decir, oligosacárido no digerible A y oligosacárido no digerible B. El oligosacárido no digerible A y oligosacárido no digerible B preferiblemente tienen un tipo diferente de enlace glicosídico, un grado diferente de polimerización y/o una composición monosacárida diferente.

45 [0076] Según una forma de realización preferida de la presente invención, el porcentaje de un monosacárido particular en el oligosacárido no digerible A es al menos 40 número% superior al porcentaje del mismo monosacárido en el oligosacárido B no digerible, preferiblemente al menos 50%, más preferiblemente al menos 75%, aún más preferiblemente al menos 90%.

50 El porcentaje de un monosacárido en el oligosacárido no digerible se puede calcular sencillamente por la división del número de las unidades monosacáridas respectivas, por ejemplo glucosa, en el oligosacárido no digerible por el número total de las unidades monosacáridas en que el oligosacárido no digerible y multiplicándolo por 100.

Cuando el oligosacárido no digerible es una mezcla de oligosacárido no digerible, la aportación de cada unidad monosacárida individual en la mezcla de oligosacárido no digerible se debe tener en cuenta.

55 El porcentaje de un monosacárido en una mezcla de oligosacárido no digerible puede sencillamente ser determinado hidrolizando completamente la mezcla y determinando el número en porcentaje para cada monosacárido.

Preferiblemente, el oligosacárido no digerible A contiene al menos 40 número% de galactosa, más preferiblemente al menos 67% de galactosa, más preferiblemente al menos 75% de galactosa.

60 Preferiblemente, el oligosacárido no digerible B contiene al menos 30 número% de fructosa, más preferiblemente al menos 67% de fructosa, aún más preferiblemente al menos 80% de fructosa.

[0077] Según una forma de realización preferida de la presente invención, el DP medio de oligosacárido A no digerible es al menos 5 unidades monosacáridas inferiores al DP medio de oligosacárido no digeribles B, preferiblemente al menos 10, aún más preferiblemente al menos 15.

Preferiblemente, el oligosacárido no digerible A tiene un DP medio de 2-10, más preferiblemente 3-5.

El oligosacárido preferiblemente no digerible B tiene un DP medio por debajo de 200, más preferiblemente 11-60, aún más preferiblemente 20-30.

Incluir un oligosacárido no digerible con un grado aumentado de polimerización puede ser preferido.

5 El oligosacárido no digerible A y B con un diferente DP puede tener la misma composición monosacárida o diferente.

Preferiblemente, el oligosacárido no digerible A y B tiene una composición monosacárida diferente y un diferente DP.

10 [0078] Preferiblemente, al menos 80 % en peso, más preferiblemente al menos 95 % en peso, de la forma más preferible al menos 98 % en peso del peso acumulativo de oligosacárido no digerible A y B tiene un DP por debajo de 60, más preferiblemente por debajo de 40, de la forma más preferible por debajo de 20.

El inferior DP reduce ventajosamente la viscosidad y aumenta la fermentabilidad de los oligosacáridos no digeribles.

15 Preferiblemente, al menos 50 % en peso, preferiblemente al menos 75 % en peso del peso acumulativo de oligosacáridos no digeribles A y B son oligosacáridos no digeribles con un DP de 2-8.

En otra forma de realización preferida de la presente invención, el porcentaje de al menos un enlace glicosídico de oligosacárido no digerible A basado en enlaces glicosídicos totales de oligosacárido no digerible A es al menos 40% más alto o inferior al porcentaje del mismo enlace glicosídico en el oligosacárido B, preferiblemente al menos 50%, aún más preferiblemente al menos 75%.

20 El término "enlace glicosídico" como se usa en la presente invención se refiere a una conexión C-O-C formada entre los anillos de dos monosacáridos cíclicos por la eliminación de agua.

Se prefiere una diversidad aumentada en enlaces glicosídicos.

Los enlaces glicosídicos difieren en que estos de manera covalente enlazan átomos de carbono en las unidades monosacáridas en posiciones diferentemente numeradas, y/o que estos forman enlaces  $\alpha$  o  $\beta$ .

25 Los ejemplos de diferentes enlaces glicosídicos que se producen en sacáridos no digeribles son enlaces  $\beta(1,3)$ ,  $\alpha(1,4)$ ,  $\beta(2,1)$ ,  $\alpha(1,2)$ , y  $\beta(1,4)$ .

Preferiblemente, los enlaces glicosídicos en el oligosacárido no digerible comprende al menos 40%  $\beta(1,4)$  y/o  $\beta(1,6)$  enlaces glicosídicos, más preferiblemente al menos 75%.

30 Los enlaces glicosídicos en el oligosacárido no digerible B preferiblemente comprenden al menos 40%  $\beta(2,1)$  enlaces glicosídicos, más preferiblemente al menos 75%.

Preferiblemente, los oligosacáridos no digeribles A y B difieren en la composición de unidad monosacárida y en el tipo de enlace glicosídico.

35 Preferiblemente, los oligosacáridos no digeribles A y B difieren en el tipo de enlace glicosídico y DP. De la forma más preferible, los oligosacáridos no digeribles A y B difieren en el tipo de enlace glicosídico, composición monosacárida y DP.

40 [0079] Preferiblemente, al menos 60%, más preferiblemente al menos 75% aún más preferiblemente 90%, de la forma más preferible 98% de las unidades monosacáridas totales del oligosacárido no digerible, en particular oligosacáridos no digeribles A y B son monosacáridos seleccionados del grupo que consiste en galactosa (gal), fructosa (fru) y monosacáridos (Glu) de glucosa.

[0080] El oligosacárido no digerible A es  $\beta$ -galactooligosacárido. El  $\beta$ -galactooligosacárido también se refiere a veces como transgalacto-oligosacárido.

45 El oligosacárido preferiblemente no digerible A comprende galacto-oligosacáridos con enlaces glicosídicos  $\beta(1,4)$ ,  $\beta(1,3)$  y/o  $\beta(1,6)$  y una glucosa terminal.

El transgalacto-oligosacárido está por ejemplo disponible bajo el nombre comercial Vivinal®GOS (Borculo Domo Ingredients, Zwolle, Netherlands), Bi2muno (Clasado), Cup-oligo (Nissin Sugar) y Oligomate55 (Yakult).

[0081] El oligosacárido no digerible B es fructo-oligosacárido.

50 Un fructo-oligosacárido puede en otro contexto tener nombres como fructopolisacáridos, oligofructosa, polifructosa, polifructano, inulina, levano y fructano, y puede referirse a oligosacáridos que comprenden unidades de fructosa 3-enlazada, que son preferiblemente enlazadas por  $\beta(2,1)$  y/o  $\beta(2,6)$  enlaces glicosídicos, y un DP preferible entre 2 y 200.

Preferiblemente, el fructo-oligosacárido contiene una glucosa enlazada glicosídica terminal  $\beta(2,1)$ .

55 Preferiblemente, el fructo-oligosacárido contiene al menos 7 unidades de fructosa  $\beta$ -enlazada.

En otra forma de realización preferida se usa inulina como oligosacárido no digerible B. La inulina es un tipo de fructo-oligosacárido donde al menos el 75% de los enlaces glicosídicos son enlaces  $\beta(2,1)$ .

Típicamente, la inulina tiene una longitud de cadena media entre 8 y 60 unidades monosacáridas.

60 Un fructo-oligosacárido adecuado para usar en las composiciones de la presente invención está comercialmente disponible bajo el nombre comercial Raftiline®HP (Orafti). Otras fuentes adecuadas son raftilosa (Orafti), fibrulosa y fibrulina (Cosucra) y Frutafit y frutalosa (Sensus).

[0082] La forma más preferida es transgalacto-oligosacárido con un DP medio por debajo de 10, preferiblemente por debajo de 6 como oligosacárido no digerible A y un fructo-oligosacárido con un DP medio por encima de 7, preferiblemente por encima de 11, aún más preferiblemente por encima de 20, como oligosacárido no digerible B.

[0083] Si la presente composición enteral comprende oligosacárido no digerible A y B, la proporción en peso del oligosacárido A no digerible a un oligosacárido no digerible B es preferiblemente de 1/99 a 99/1, más preferiblemente de 1/19 a 19/1, aún más preferiblemente de 1 a 19/1.

5 Esta proporción en peso es particularmente ventajosa cuando el oligosacárido no digerible un tiene un bajo DP y el oligosacárido no digerible B tiene un DP relativamente alto.

[0084] Así, según una forma de realización de la presente invención, la composición comprende los oligosacáridos no digeribles A y B, donde cualquiera de los oligosacáridos no digeribles A y B difiere:

10 i) en el porcentaje de al menos un monosacárido de oligosacárido A basado en unidades monosacáridas totales de oligosacárido A, el monosacárido es al menos 40 número% mayor que el porcentaje del mismo monosacárido en el oligosacárido B; y/o

15 ii) en el porcentaje de al menos un enlace glicosídico de oligosacárido A basado en enlaces glicosídicos totales de oligosacárido A, el enlace glicosídico es al menos 40% superior al porcentaje del mismo enlace glicosídico en el oligosacárido B; y/o

iii) en el grado de polimerización de oligosacárido A, grado de polimerización de oligosacárido A es al menos 5 unidades monosacáridas inferior al grado de polimerización de oligosacárido B.

[0085] En una forma de realización más preferida, la presente composición comprende además un oligosacárido no digerible C. El oligosacárido no digerible C comprende oligosacáridos de ácido urónico.

20 El término oligosacárido de ácido urónico como se usa en la presente invención se refiere a un oligosacárido donde al menos 50 número% de las unidades monosacáridas presentes en el oligosacárido es uno seleccionado del grupo que consiste en ácido gulurónico, ácido manurónico, ácido galacturónico, ácido idurónico, ácido riburónico y ácido glucurónico.

25 En una forma de realización preferida el oligosacárido de ácido urónico comprende al menos 50 número% de ácido galacturónico basado en unidades de ácido urónico total en el oligosacárido de ácido urónico.

Los oligosacáridos de ácido urónico usados en la invención son preferiblemente obtenidos de la degradación de pectina, pectato, alginato, condroitina, ácidos hialurónicos, heparina, heparano, carbohidratos bacterianos y/o sialoglicanos, más preferiblemente de pectina y/o alginato, aún más preferiblemente de pectina, de la forma más preferible ácido poligalacturónico.

30 Preferiblemente, la pectina degradada se prepara por hidrólisis y/o beta-eliminación de fruta y/o pectinas vegetales, más preferiblemente, manzana, cítrico y/o pectina de remolacha azucarera, aún más preferiblemente, manzana, cítrico y/o pectina de remolacha azucarera degradada por al menos una liasa.

Preferiblemente, el oligosacárido no digerible es oligosacárido de ácido galacturónico.

35 [0086] Preferiblemente, la presente composición comprende entre 25 y 100 % en peso, más preferiblemente entre 50 y 100 % en peso de oligosacárido de ácido urónico con un DP de 2 a 250 basado en peso total de oligosacárido de ácido urónico en la composición, más preferiblemente un DP de 2 a 100, aún más preferiblemente un DP de 2 a 50, de la forma más preferible un DP de 2 a 20 basado en peso total de oligosacárido de ácido urónico en la composición.

[0087] En una forma de realización preferida, al menos una de las unidades de ácido hexurónico terminales del oligosacárido de ácido urónico tiene un enlace doble.

45 El enlace doble protege eficazmente contra la fijación de bacterias patogénicas para células epiteliales intestinales.

Esto es ventajoso para bebés.

Preferiblemente, una de las unidades de ácido hexurónico terminal comprende el enlace doble C4-C5.

El enlace doble en la unidad de ácido hexurónico terminal puede por ejemplo ser obtenido por hidrólisis enzimática de pectina con liasa.

50 [0088] El oligosacárido de ácido urónico puede ser derivatizado.

El oligosacárido de ácido urónico puede ser metoxilado y/o amidado.

En una forma de realización, los oligosacáridos de ácido urónico se caracterizan por un grado de metoxilación por encima de 20%, preferiblemente, por encima de 50% aún más preferiblemente por encima de 70%.

55 Como se utiliza en este caso, "grado de metoxilación" (también referido como DE o "grado de esterificación") se destina a significar la extensión a la que los grupos de ácido carboxílico libres contenidos en el oligosacárido de ácido urónico han sido esterificados, por ejemplo por metilación.

[0089] Preferiblemente, la presente composición enteral comprende los oligosacáridos no digeribles transgalacto-oligosacárido, fructo-oligosacárido y un producto de degradación de pectina.

60 [0090] La proporción de peso de transgalacto-oligosacárido: fructo-oligosacárido: producto de degradación de pectina es preferiblemente (20 a 2): 1: (1 a 3), más preferiblemente (12 a 7): 1: (1 a 2).

[0091] Preferiblemente, la presente invención se refiere a una composición enteral, donde el oligosacárido no digerible comprende fructo-oligosacárido,  $\beta$ -galactooligosacárido y oligosacárido de ácido urónico, donde el oligosacárido de ácido urónico es preferiblemente oligosacárido de ácido galacturónico.

5 [0092] La presente composición enteral preferiblemente comprende 0.05 a 20 % en peso de oligosacárido no digerible total, más preferiblemente 0.5 a 15 % en peso, aún más preferiblemente 1 a 10 % en peso, de la forma más preferible 2.0 a 10 % en peso, basado en peso en seco de la presente composición.

10 [0093] Basada en 100 ml, la presente composición enteral preferiblemente comprende 0.01 a 2.5 % en peso de oligosacárido no digerible total, más preferiblemente 0.05 a 1.5 % en peso, aún más preferiblemente 0.25 a 1.5 % en peso, basado en 100 ml de la presente composición.

Composición enteral

15 [0094] La presente invención se refiere a oligosacáridos no digeribles, que comprende  $\beta$ -GOS y FOS, para usar en el aumento de una tolerancia oral inducida por el hidrolizado de proteína parcial contra las proteínas dietéticas, donde el hidrolizado de proteínas parcial es un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial y donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial comprende al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4, el hidrolizado de proteínas parcial preferiblemente está caracterizado por el hecho de que este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa, preferiblemente en una composición enteral de la presente invención.

25 [0095] La presente invención se refiere a oligosacáridos no digeribles, que comprenden  $\beta$ -GOS y FOS, para usar en el aumento de un efecto de prevención de alergia primario de un hidrolizado de proteína parcial contra las proteínas dietéticas, el hidrolizado de proteínas parcial tal y como se define en la reivindicación 1 preferiblemente está caracterizado por el hecho de que este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un tamaño kDa o por encima y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa, preferiblemente en una  
30 composición enteral de la presente invención.

[0096] La presente invención se refiere a una composición enteral, que comprende oligosacáridos no digeribles y al menos un hidrolizado de proteína parcial, preferiblemente según la presente invención, donde el hidrolizado de proteínas parcial es un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial y donde el oligosacárido no digerible  
35 es una mezcla de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico. Preferiblemente, el hidrolizado de proteína parcial de la composición enteral se caracteriza por el hecho de que que esta comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa.

40 [0097] Una composición enteral de la presente invención es preferiblemente una composición nutricional. Preferiblemente, la composición enteral es de administración oral.

[0098] La composición enteral de la presente invención comprende, como se ha explicado arriba, un hidrolizado de proteínas parcial y un oligosacárido no digerible.  
45

[0099] En una forma de realización preferida, la composición enteral de la presente invención comprende a) al menos 5 % en peso de hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial o al menos 5 % en peso del al menos un péptido de beta-lactoglobulina, cada uno basado en el peso en seco de la composición, y b) al menos 1 % en peso de la suma de galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico, basado  
50 en peso en seco de la composición, donde, preferiblemente, la proporción en peso de galacto-oligosacáridos: fructo-oligosacáridos: oligosacáridos de ácido galacturónico es (20-4): (0.5-2): 1.

[0100] Además, la composición enteral de la presente invención puede comprender además un lípido (denominado también componente de lípido), en particular grasa.  
55

[0101] La presente composición enteral preferiblemente comprende como lípidos vegetales lípidos y/o aceites marinos, tales como aceites de algas, aceites bacterianos, aceites animales, aceites vegetales o aceites de pescado.

60 [0102] La presente composición enteral en otra forma de realización preferida puede también comprender además del oligosacárido no digerible un componente de carbohidrato adicional, tal como carbohidratos digeribles, preferiblemente lactosa.

[0103] En otra forma de realización preferida de la presente invención, la composición enteral comprende además del hidrolizado de proteínas parcial un componente de proteína adicional tal como proteína no hidrolizado o, preferiblemente, un hidrolizado de proteínas extenso.  
65

- 5 [0104] Así, en una forma de realización preferida de la presente invención, la composición enteral de la presente invención comprende un componente de proteína, con el hidrolizado de proteína parcial, un componente de carbohidrato, con el oligosacárido no digerible, un componente lipídico y opcionalmente un solvente líquido tal como agua.
- 10 [0105] La presente composición contiene preferiblemente al menos 50% en peso de componente de proteína derivado de leche no humana, más preferiblemente al menos 90 % en peso. Cada uno basado en el peso en seco de proteína total.  
Preferiblemente, la presente composición contiene al menos 50 % en peso de proteína derivada de leche de vaca, más preferiblemente, al menos 90 % en peso. Cada uno basado en el peso en seco de proteína total.  
Preferiblemente, la presente composición comprende proteína derivada de suero de leche de ácido y/o suero de leche dulce con una concentración reducida de glicomacropéptido.  
15 Típicamente, el glicomacropéptido (GMP) con un peso molecular de 8000 daltons es una proteína de suero de leche derivada de caseína que contiene residuos de aminoácidos 106-169 de kappa caseína y es liberada de kappa caseína por la acción proteolítica de renina (quimosina). Preferiblemente, la presente composición enteral comprende proteína derivada de  $\beta$ -caseína, beta-lactoglobulina y/o  $\alpha$ -lactalbúmina.  
En otra forma de realización de la presente invención, la proteína es guisante, soja y/o proteína de arroz.
- 20 [0106] Preferiblemente, la presente composición enteral comprende hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial e hidrolizado de caseína parcial.  
El hidrolizado de caseína parcial e hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial están preferiblemente presentes en una proporción en peso de caseína: suero de leche de 10:90 a 90:10, más preferiblemente 20:80 a 80:20.
- 25 [0107] La presente composición enteral incluye preferiblemente tanto hidrolizado de caseína como proteína de suero de leche hidrolizada debido a que la composición de aminoácido de caseína de bovino es más similar a la composición de aminoácido descubierta en proteína de leche humana y proteína de suero de leche es más fácil de digerir y encontrar en proporciones superiores en la leche humana.
- 30 [0108] La presente composición enteral contiene preferiblemente 5 a 25%, preferiblemente 7 a 25%, preferiblemente 5 a 20%, preferiblemente 5 a 16%, preferiblemente 5 a 12 % de proteína basada en calorías totales, de la forma más preferible 7.0 a 12.0 % de proteína basada en calorías totales de la composición.  
El valor calórico total se puede calcular basado en la cantidad de carbohidratos digeribles, grasa y proteína.
- 35 [0109] Basado en 100 ml la presente composición enteral preferiblemente comprende 0.5 a 2.5 % en peso proteína, más preferiblemente 0.05 a 1.5 % en peso, aún más preferiblemente 1 a 3 % en peso, basado en 100 ml de la presente composición.
- 40 [0110] El término proteína usado en la presente invención se refiere a la suma de proteínas, péptidos y aminoácidos libres.  
La presente composición enteral contiene preferiblemente 0.5 a 6.0 g, más preferiblemente 1.0 a 3.0 g, aún más preferiblemente 1.0 a 2.5 g de proteína por 100 ml del preparado para la composición del alimento.
- 45 [0111] La presente composición enteral preferiblemente comprende al menos 7.0 % en peso, más preferiblemente, al menos 8.0 % en peso, de la forma más preferible al menos 9 o al menos 10 % en peso de proteína basado en peso en seco de la composición total.
- 50 [0112] Preferiblemente, la presente composición enteral comprende como mucho 40 % en peso, más preferiblemente, como mucho 15 % en peso, preferiblemente como mucho 20 % en peso de proteína basada en peso en seco de la composición total.
- 55 [0113] El % en peso basado en peso en seco de proteína de la presente composición enteral se calcula según el método Kjeldahl por medición de nitrógeno total y utilizando un factor de conversión de 6.38, preferiblemente, en caso de caseína o un factor de conversión de 6.25 para otras proteínas diferentes a la caseína.
- 60 [0114] La presente composición enteral contiene preferiblemente al menos 50 % en peso, preferiblemente al menos 80 % en peso, particularmente al menos 90 % en peso, de la forma más preferible 100 % en peso del hidrolizado de proteínas parcial de la presente invención, basado en peso en seco de la proteína total en la presente composición enteral.
- 65 [0115] La presente composición enteral contiene preferiblemente menos de 10 g de aminoácidos libres por 100 g de proteína, más preferiblemente, menos de 7 g. Un contenido de aminoácido relativamente bajo produce una osmolaridad baja y así previene trastornos del sistema de tracto/digestivo gastrointestinal tal como diarrea.  
Un contenido bajo de aminoácidos libres es de importancia adicional para la reducción del sabor amargo; los aminoácidos libres proporcionan a la fórmula un sabor amargo.

Además, los aminoácidos libres se absorben peor en el tracto intestinal en comparación con péptidos. Por lo tanto, la cantidad de aminoácidos libres en la presente composición enteral está preferiblemente limitada.

5 [0116] La presente composición enteral preferiblemente también comprende un componente lipídico, preferiblemente una grasa y un componente de proteína y preferiblemente un componente de carbohidrato digerible, donde el componente lipídico proporciona preferiblemente 30 a 60 % de calorías totales, el componente de proteína proporciona preferiblemente 5 a 20%, más preferiblemente 5 a 15%, de las calorías totales y el componente de carbohidrato digerible proporciona preferiblemente 25 a 75% de las calorías totales. Preferiblemente, la presente composición comprende un componente lipídico que proporciona 35 a 50% de las calorías totales, un componente de proteína proporciona 6 a 12% de las calorías totales y un componente de carbohidrato digerible proporciona 40 a 60% de las calorías totales. La cantidad de calorías totales se determina por la suma de calorías derivadas de proteína, lípidos y carbohidratos digeribles.

15 [0117] La presente composición no es leche materna humana. Preferiblemente, la presente composición enteral es libre de probióticos vivos o muertos, en particular, bifidobacterias o lactobacilos. Preferiblemente, la presente composición enteral es libre de factores de crecimiento y/o citocinas. Preferiblemente, la presente composición enteral es libre de TGF, TGF-beta particularmente.

20 [0118] Las composiciones de la invención preferiblemente comprenden otros componentes, tales como vitaminas y/o minerales, preferiblemente según directivas internacionales para fórmulas infantiles.

25 [0119] En una forma de realización, la presente composición enteral está en forma seca, por ejemplo es un polvo adecuado para hacer una composición líquida después de la reconstitución con una solución acuosa, preferiblemente con agua. Preferiblemente, la composición enteral es un polvo, preferiblemente para ser reconstituido con agua.

30 [0120] Para encontrar los requisitos calóricos del infante, la presente composición enteral preferiblemente comprende 50 a 200 kcal/100 ml de líquido, más preferiblemente 60 a 90 kcal/100 ml de líquido, aún más preferiblemente 60 a 75 kcal/100 ml de líquido. Esta densidad calórica asegura una proporción óptima entre agua y consumo de calorías. La osmolaridad de la presente composición es preferiblemente entre 150 y 420 mOsmol/l, más preferiblemente 260 a 320 mOsmol/l. La osmolaridad baja pretende reducir la tensión gastrointestinal. La tensión puede inducir formación de adipocito.

35 [0121] Preferiblemente, la presente composición enteral es en una forma líquida, preferiblemente con una viscosidad por debajo de 35 mPa.s, más preferiblemente por debajo de 6 mPa.s como se ha medido en un viscosímetro Brookfield a 20°C a una velocidad de cizalladura de 100 s<sup>-1</sup>. Adecuadamente, la presente composición enteral es en forma de polvo, que preferiblemente se puede reconstituir con agua para formar un líquido o en una forma de concentrado líquido, que debería ser diluido con agua. Cuando la presente composición enteral es en una forma líquida, el volumen preferido administrado a diario está en el rango de aproximadamente 80 a 2500 ml, más preferiblemente aproximadamente 450 a 1000 ml al día.

#### Uso

40 [0122] La presente composición enteral de la presente invención es preferiblemente para usar en bebés, es decir, es una composición nutricional infantil. Por lo tanto, la presente composición enteral es preferiblemente administrada al sujeto humano durante los primeros 3 años de vida. Preferiblemente, la presente composición es una fórmula infantil o un preparado de continuación, o una leche para niños, lo que significa para seres humanos mayores que infantes.

55 [0123] En una forma de realización del uso según la presente invención, la composición enteral, preferiblemente, nutricional es para alimentar o se usa para alimentar a un sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses. La presente composición enteral es ventajosamente administrada a un humano de 0 a 24 meses, más preferiblemente a un humano de 0 a 18 meses, de la forma más preferible a un humano de 0 a 12 meses.

60 [0124] También se describe la presente composición enteral para usar en la prevención de alergia alimenticia.

65 [0125] Preferiblemente, la presente composición enteral, preferiblemente, nutricional es para suministrar los requisitos nutricionales diarios a un humano, en particular, para administración a, en particular para alimentar a seres humanos, en particular, infantes incluyendo niños pequeños, preferiblemente, en riesgo de desarrollar una alergia, en particular, para el desarrollo de síntomas alérgicos.

[0126] En la presente invención, el término tolerancia se debe entender como un estado de incapacidad de reacción inmunológica específica.

5 Ambos (anticuerpos) humorales y vías de (linfocito) mediado celular de la respuesta inmune se pueden suprimir por inducción de tolerancia.

Una descomposición de tolerancia oral se considera que es la causa subyacente de alergia alimenticia.

La tolerancia inmunitaria oral significa la supresión específica de reactividad inmunitaria celular y/o humoral para un antígeno por la administración previa del antígeno por la vía oral.

Probablemente, se desarrolló para prevenir reacciones de hipersensibilidad a proteínas alimenticias.

10 Es de una importancia inmunológica inmensa, ya que es un evento inmunológico natural continuo conducido por el antígeno exógeno.

Debido a su acceso privilegiado al medio interno, los antígenos que continuamente contactan con la mucosa representan una frontera entre componentes externos y autocomponentes.

15 La tolerancia inmunitaria oral desarrollada para tratar agentes externos que tienen acceso al cuerpo vía una vía natural como componentes internos sin señales de peligro, que luego se vuelven parte de los mismos.

El fallo de tolerancia inmunitaria oral se atribuye al desarrollo y patogénesis de diferentes enfermedades basadas inmunológicamente, incluyendo alergia alimenticia y enfermedad inflamatoria intestinal, particularmente enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

20 [0127] En la presente invención, la tolerancia se induce o adquiere, donde la tolerancia a antígenos externos se puede crear manipulando el sistema inmunológico.

La tolerancia adquirida o inducida se refiere a la adaptación del sistema inmunitario para antígenos externos caracterizada por el hecho de que una no reactividad específica de los tejidos linfoides a un antígeno dado que en otras circunstancias posiblemente induciría a la inmunidad mediada de célula o humoral.

25 [0128] La presente composición enteral es preferiblemente para usar en la inducción de tolerancia oral, preferiblemente para usar en la inducción de tolerancia inmunitaria, de la forma más preferible para usar en la inducción de tolerancia inmunitaria oral, preferiblemente en seres humanos, en particular infantes.

30 [0129] Así, en una forma de realización preferida de la presente invención, las presentes composiciones enterales para usar en la inducción de tolerancia oral son útiles particularmente para prevenir, preferiblemente, principalmente prevenir alergia alimenticia, preferiblemente, alergia de leche de vaca y/o el desarrollo de enfermedades atópicas, tales como eczema atópico, rinitis alérgica, dermatitis atópica o asma.

35 [0130] La presente composición enteral es preferiblemente para usar en la inducción de tolerancia, preferiblemente, en la tolerancia oral en seres humanos, en particular, infantes en riesgo de desarrollar una alergia, en particular, una alergia alimenticia, en particular, síntomas de una alergia alimenticia.

40 [0131] También se describe la presente composición enteral como una composición enteral hipoalérgica.

[0132] También se describe la presente composición enteral para usar en la prevención o tratamiento de enfermedad inflamatoria intestinal.

45 [0133] Todas las composiciones y sustancias identificadas aquí para ser adecuadas y estar diseñadas para un uso según la presente invención se deben entender que también son adecuadas y están diseñadas para ser aplicadas en métodos de tratamiento o métodos para alimentar un sujeto, en particular, un sujeto humano, en la necesidad de las mismas.

50 [0134] La invención será adicionalmente descrita por medio de los ejemplos.

**Ejemplo 1:** oligosacáridos no digeribles potencian sinérgicamente la capacidad de proteína hidrolizada parcialmente para inducir tolerancia oral a una proteína en un modelo de ratón de alergia a proteína.

[0135] El suero de leche se obtuvo de DMV International, Veghel, the Netherlands.

55 Un hidrolizado de suero de leche parcial (pWH) fue fabricado en Danone Research Centre for Specialised Nutrition por hidrólisis enzimática bajo las siguientes condiciones específicas.

60 [0136] Los 19.5 kg de agua desmineralizada (en la siguiente "semiagua") de 12 °C se pusieron en un recipiente y se mezclaron con 4.1 kg de suero de leche desmineralizado (Deminal, Friesland Foods Domo) y 1.41 kg de lactalis Nutriwhey800 (DMV Campina) durante 30 minutos.

[0137] La solución dio un tratamiento térmico de 2 minutos a 78 °C. El producto fue enfriado a 60 °C después del tratamiento térmico.

65 [0138] 15.6 g Ca(OH)<sub>2</sub>, 1.84 g Mg(OH)<sub>2</sub>, 16.1 g de hidróxido de potasio y 15.25 g de NaOH fue disuelto en 235 ml de semiagua para obtener una solución de base.

El tanque de hidrólisis se llenó de 12 kg de la solución de suero de leche tratada con calor y agitada. La temperatura se mantuvo a 58 °C. La solución de base se usó para ajustar el pH del tanque de hidrólisis a un pH de 7.75.

5 [0139] 16. 8 g de alcalasa y 3.8 g de Flavourzyme se mezcló y se añadió al fermentador rápidamente. La solución de base se usó para regular el pH a 7.75. La hidrólisis se produjo durante 180 minutos.

10 [0140] El proceso enzimático fue detenido por enfriamiento rápido y la solución se congeló. El pWH fue ulteriormente caracterizado por análisis del péptido mediante cromatografía en fase líquida de alta presión de exclusión de tamaño.

15 [0141] La distribución de tamaño fue de la siguiente manera: 85 % en peso < 1 kD, 8 % en peso de 1 a < 2 kDa, 4 % en peso de 2 a < 5 kDa, 1 % en peso de 5 a < 10 kDa, 0.6 % en peso de 10 a 20 kDa y 1.4 % en peso >20 kDa.

20 [0142] Las hembras de ratones libres de patógenos de tres a 4-semanas C3H/HeOuj se compraron de Charles River Laboratories (Maastricht, the Netherlands), mantenidas en la comida de ratón estándar libre de proteína de la leche de vaca (AIN-93G soy, Special Diets Services, Witham, Essex, UK).

25 [0143] Los ratones fueron alimentados con una dieta de control (tabla 1, de abajo) y sensibilizados por vía oral, utilizando una aguja roma en el día 0, 7, 14, 21 y 28 con 20 mg de proteína de suero de leche por animal homogeneizado en PBS (0.5 ml, Cambrex Bio Science, Verviers, Belgium) mezclada con 10 µg de toxina de cólera (Quadrantech Diagnostics, Epsom, UK) como un adyuvante.

30 Los ratones no sensibilizados recibieron solo la toxina de cólera. Antes de la sensibilización de proteína de suero de leche los ratones fueron pretratados por vía oral (a diario; día -7 hasta el día -2) con PBS como un control o 50 mg de pWH. Para investigar el efecto de una dieta que comprende dieta de oligosacáridos no digeribles en la inducción de tolerancia oral por pWH ratones fueron alimentados con una dieta (AING-93G soja que contiene 2 % en peso de la suma de trans-galacto-oligosacáridos (fuente Vivinal-GOS), fructo-oligosacáridos de cadena larga, (FOS fuente RaftilinHP) y oligosacáridos de ácido galacturónico (AOS, lisado de pectina) (tabla 1, de abajo).

Tabla 1: dieta de ratones

g/ 10 kg de comida	dieta # P1 (control)	dieta # P2 (GFA)
<b>Carbohidratos</b>		
Almidón de maíz	4769,820	4719,708
almidón de maíz dextrinizado	1549,488	1549,488
Sacarosa	1163,892	1163,892
fuelle de fibra (celulosa)	600,000	480,000
lactosa	36,108	
glucosa	34,512	
GOS/FOS		216,000
AOS		24,000
<b>Proteína</b>		
Proteína de soja	2400,000	2400,000
L-cisteína	36,000	36,000
<b>Grasa</b>		
Aceite de soja	840,000	840,000
<b>Otros</b>		
Mezcla mineral	420,000	420,000
Mezcla vitamínica	120,000	120,000
Bitartrato de colina	30,000	30,000
TBHQ	0,168	0,168
<b>Materias primas</b>		
Carbohidratos Totales	8154	8153
Proteína total	2436	2436
Grasa Total	840	840
Total otros	570	570

Dieta total	12000	11999
-------------	-------	-------

5 [0144] Los trans-galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos de cadena larga RaftilinHP y oligosacáridos de ácido galacturónico estaban presentes en una proporción en peso 9:1:1 en la dieta (AIN-93G soy, Special Diets Services, Witham, Essex, UK) del día -7 al día -2 en combinaciones con o sin un pretratamiento pWH antes de la sensibilización de proteína de suero de leche.

10 [0145] Una semana después de la sensibilización última, se midió la respuesta de piel alérgica aguda (inflamación de oreja en 1 hora) después del desafío de proteína de suero de leche intradérmica. Una oreja específica de alérgeno agudo que se inflama en los ratones sensibilizados de suero de leche se determinó a 1 hora después del desafío intradérmico con 10 µg de proteína de suero de leche en el pabellón auricular.

Como un control negativo, los ratones no sensibilizados fueron desafiados en el oído con la proteína de suero de leche.

15 El grosor de la oreja se midió por duplicado utilizando un micrómetro digital (Mitutoyo, Veenendaal, the Netherlands).

La inflamación de oreja neta de alérgeno específico se calculó por corrección del aumento inducido por alérgeno en el grosor de oreja con la inflamación de oreja no-específica debido a inyección local en los ratones no sensibilizados.

20 La inflamación de oreja se expresa como delta µm.

Resultados:

25 [0146] Los resultados se muestran en la tabla 2. La estimulación intradérmica del oído con suero de leche indujo una inflamación de la oreja significativa a 1 hora en los animales sensibilizados de suero de leche en comparación con ratones no sensibilizados (120.9 ± 12.4 µm vs 25.42 ± 6.8 µm; p<0.01).

El pretratamiento con el pWH con capacidades de sensibilización limitadas significativamente redujo la respuesta de inflamación de oreja aguda (83.58 ± 5.6 µm).

30 La alimentación de los ratones durante 5 días con la mezcla de oligosacárido no digerible (NDO) antes de la sensibilización que no afectó significativamente a la respuesta de piel alérgica aguda a proteína de suero de leche en comparación con la dieta de control (112.1 ± 8.8 µm).

Curiosamente, la respuesta aguda de la piel se abolió por completo en los ratones pretratados pWH alimentados con la dieta que comprende también oligosacáridos no digeribles (22.08 ± 6.3 µm).

Este efecto fue sinérgico, lo que es muy superior al previsto basado en efectos añadidos en pWH o NDO solo.

35 Tabla 2: efecto de pretratamiento oral con proteína de suero de leche (pWH) hidrolizada parcialmente, oligosacáridos no digeribles (NDO) o ambos en reacción alérgica para proteína de suero de leche medida como inflamación de oreja de hipersensibilidad de tipo inmediato (ITH).

El grupo de tratamiento de ratones	EI ΔITH µm ± S.E.	EI ITH relativo	La tolerancia relativa
Control no sensibilizado	25. 42 ± 6.8	0%	100%
Ningún pretratamiento	120.9 ± 12.4	100%	0%
EWH pretratamiento	134.6 ± 12.6	>100%	0%
Pretratamiento de proteína de suero de leche	54. 33* ± 6,1	30%	70%
Pretratamiento pWH (valor fundamental)	83. 58* ± 5,6	61%	39%
Pretratamiento NDO	112.1 ± 8.8	91%	9%
El pWH + pretratamiento NDO	22. 08* ± 6,3	0%	100%

\* P < 0,05 en comparación con el grupo no pretratado.

40 **Ejemplo 2:**

[0147] La fórmula de leche infantil con suero de leche parcialmente-hidrolizada, GOS (galacto oligosacárido), FOS (fructo oligosacárido), AOS (oligosacárido ácido, es decir, oligosacárido de ácido galacturónico) que comprende por 100 ml de preparado para beber:

- 45 66 Kcal
- 1.5 g de proteína equivalente (proteína de suero de leche hidrolizada parcialmente como en el ejemplo 1, Kjeldahl factor 6.25 usado)
- 7.2 g carbohidratos digeribles (principalmente lactosa)
- 3.4 g grasa (grasas vegetales, aceite de pescado)
- 50 0.8 g oligosacáridos no digeribles

0.612 g galacto-oligosacáridos  
 0.068 g fructo-oligosacáridos de cadena larga  
 0.12 g (AOS) de lisado de pectina

5 [0148] Los minerales, vitaminas de oligoelementos y otros micronutrientes según pautas internacionales para fórmulas para infantes también están incluidos.

**Ejemplo 3**

10 [0149] El experimento del ejemplo 1 se repitió, excepto que un grupo extra se incluyó donde en el grupo pretratado con eWH también recibió una dieta con el NDO durante el pretratamiento.  
 Los resultados se muestran en la tabla 3 de abajo y confirman el experimento mostrado en el ejemplo 1 que nuevamente muestra la inducción de tolerancia máxima con un pretratamiento con pWH y NDO. Estos experimentos muestran además que el efecto de inducción de tolerancia oral no se puede obtener utilizando un  
 15 pretratamiento con eWH + NDO.

Tabla 3: efecto de pretratamiento oral con proteína de suero de leche hidrolizada, los oligosacáridos (pWH) no digeribles (NDO) o ambos o proteína de suero de leche hidrolizada extensivamente (eWH) o pretratamiento de  
 20 proteína de suero de leche intacta en la reacción alérgica a proteína de suero de leche medida como inflamación de oreja de hipersensibilidad de tipo inmediato (ITH)

Grupo de tratamiento de ratones	El ΔITH μm ± S.E.	ITH relativo	Tolerancia relativa
Control no sensibilizado	36. 7 ± 5.7	0%	100%
Ningún pretratamiento	121.1 ± 18.9	100%	0%
Pretratamiento EWH	88. 79 ± 6.8	62%	38%
Pretratamiento de proteína de suero de leche	39. 25* ± 5,3	3%	97%
El pretratamiento pWH (valor fundamental)	67. 15* ± 10,7	36%	64%
Pretratamiento NDO	109.1 ± 13.1	86%	14%
pWH + pretratamiento NDO	32. 58* ± 8,1	0%	100%
EWH + pretratamiento NDO	114.5 ± 14.4	92%	8%
* P < 0,05 en comparación con un grupo no pretratado. ** P < 0,01 en comparación con un grupo no pretratado.			

**Ejemplo 4:** oligosacáridos no digeribles sinérgicamente potencian la capacidad de los péptidos de proteína de suero de leche específicos de inducir tolerancia oral a proteína en un modelo de ratón de alergia a proteínas.

25 [0150] Los péptidos fueron sintetizados y preseleccionados con un ensayo con líneas celulares T. Veinticinco péptidos sintéticos de 18 aminoácidos de longitud con un recubrimiento de 12 aminoácidos que abarca la variante B de β-LG y seis péptidos sintéticos de la variante A de β-LG fueron obtenidos de JPT Peptide Technologies (Berlin, Germany).

30 [0151] Se cultivaron células B transformadas con Epstein Barr Virus EBV en RPMI 1640 - GlutaMAX™-I suplementados con 10% de FBS inactivado por calor y 2% Pen/Strep.  
 Las líneas celulares T específicas de leche de vaca (TCL) fueron generadas como se describe previamente por Schade et al 2000, J Allerg.Clin.Immunol. 106: 1155-62.  
 35 Los TCL fueron cultivados en el medio Yssel's que contiene un 2% HS, 2% de Pen/Strep, 1% de Glut, 50 IU/ml IL-2 y 50 IU/ml IL-4 y fueron reestimulados cada dos semanas con leche de vaca para mantenerlos en el cultivo.  
 Para la reestimulación, las células B transformadas EBV autólogas fueron preincubadas durante toda la noche con 50 μg/ml de mezcla de proteína de leche de vaca.  
 Posteriormente, las células B fueron irradiadas y añadidas a los TCL.

40 [0152] La proliferación de célula T específica de péptido fue evaluada como se describe anteriormente por Ruitter et al, 2006, Clin Exp Allergy 36:303-10.  
 En breve, las células B transformadas EBV irradiadas (4 x 10<sup>4</sup>/pocillo) fueron preincubadas durante toda la noche por triplicado en placas de 96 pocillos a U con 50 μg/ml de alérgeno mayor o 10 μg/ml de péptido sintético (bien  
 45 una mezcla de 2 o 3 péptidos o péptidos únicos).  
 La proteína de suero de leche (Prolacta) se obtuvo de Lactalis, Laval, Francia).  
 El caseinato fue comprado de FrieslandCampina Domo (Amersfoort, The Netherlands).  
 Para la mezcla de proteína de leche de vaca, la prolacta y cacaseinato fueron mezclados en una proporción 1:1.

También la lactoalbúmina  $\alpha$  ( $\alpha$ -LAC) y  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG) fueron evaluadas como controles. Posteriormente, las células  $4 \times 10^4$  fueron añadidas a los pocillos y cultivadas durante 24 horas. Al día siguiente, se añadió timidina tritiada (1  $\mu$ Ci/pocillo).

Después de 18 horas, las células fueron cosechadas en filtros de fibra de vidrio y la incorporación [ $^3$ H]-TdR se midió utilizando un contador de placa Microbeta2 (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA). La incorporación fue expresada como cuentas por minuto (cpm) y se restó la proliferación antecedente de células B EBV.

Todas las pruebas se realizaron en un medio Yssel con 2% de Pen/Strep y 1% de Glut y las incubaciones se hicieron a 37°C en una atmósfera de CO<sub>2</sub> humedecida 5%.  
Cada TCL fue evaluado al menos tres veces.

[0153] Los péptidos con la reactividad de célula T máxima fueron seleccionados para además testar en un modelo animal.

Estos nueve péptidos fueron derivados de beta-lactoglobulina.

[0154] Los ratones hembra libres de patógenos de 3 a 4 semanas C3H/HeOuj (Charles River Laboratories, Maastricht, The Netherlands) fueron usados para este experimento.

Los ratones fueron mantenidos en la comida de ratón estándar libre de proteína de leche de vaca (AIN-93G soy, Special Diets Services, Wijk bij Duurstede, the Netherlands).

[0155] La dieta de control AIN-93G fue mezclada con oligosacáridos no digeribles (2% p/p).

Los mismos oligosacáridos no digeribles fueron usados como en el ejemplo 1.

[0156] Los péptidos sintéticos de cadena larga de 18 aminoácidos de beta-lactoglobulina fueron obtenidos de JPT Peptide Technologies (Berlin, Germany) (Table 4).

La proteína de suero de leche fue comprada de DMV International (Veghel, The Netherlands).

La toxina de cólera (CT) se obtuvo de Quadratach Diagnostics (Epsom, United Kingdom).

La solución salina tamponada con fosfato (PBS) se obtuvo de Cambrex Bio Science (Verviers, Belgium).

Tabla 4: información de secuencia de los péptidos

Péptido	Secuencia	Aminoácidos (AA) beta-lactoglobulina
1	Gln Lys Val Ala Gly Thr Trp Tyr Ser Leu Ala Met Ala Ala Ser Asp Ile Ser (SEQ ID NO 1)	AA 13-30
2	Trp Tyr Ser Leu Ala Met Ala Ala Ser Asp Ile Ser Leu Leu Asp Ala Gln Ser (SEQ ID NO 2)	AA 19-36
3	Ala Ala Ser Asp Ile Ser Leu Leu Asp Ala Gln Ser Ala Pro Leu Arg Val Tyr (SEQ ID NO 3)	AA 25-42
4	Leu Leu Asp Ala Gln Ser Ala Pro Leu Arg Val Tyr Val Glu Glu Leu Lys Pro (SEQ ID NO 4)	AA 31-48
5	Lys Val Leu Val Leu Asp Thr Asp Tyr Lys Lys Tyr Leu Leu Phe Cys Met Glu (SEQ ID NO 5)	AA 91-108
6		AA 97-114

ES 2 681 519 T3

	Thr Asp Tyr Lys Lys Tyr Leu Leu Phe Cys Met Glu Asn Ser Ala Glu Pro Glu (SEQ ID NO 6)	
7	Leu Leu Phe Cys Met Glu Asn Ser Ala Glu Pro Glu Gln Ser Leu Ala Cys Gln (SEQ ID NO 7)	AA 103-120
8	Ala Leu Lys Ala Leu Pro Met His Ile Arg Leu Ser Phe Asn Pro Thr Gln Leu (SEQ ID NO 8)	AA 139-156
9	Met His Ile Arg Leu Ser Phe Asn Pro Thr Gln Leu Glu Glu Gln Cys His Ile (SEQ ID NO 9)	AA 145-162

[0157] Brevemente antes del experimento, los péptidos fueron suspendidos en PBS. Los péptidos fueron combinados en tres mezclas, es decir, péptidos 1-4 en la mezcla 1, péptidos 5-7 en la mezcla 2 y péptidos 8 y 9 en la mezcla 3. La concentración final de cada péptido en la mezcla fue 8 mg/ml.

5 Los ratones (n = 6 por grupo) fueron tratados por vía oral utilizando una aguja roma con 0.5 ml de las mezclas de péptido o PBS en la semana antes de la sensibilización (del día -7 hasta el día -2).

Durante esta semana (día -7 hasta día 0) los ratones recibieron la dieta estándar AIN-93G (control) o la dieta prebiótica.

Después de esta semana, todos los ratones recibieron la dieta de control.

10 En el día 0, 7, 14, 21 y 28, los ratones fueron sensibilizados por vía oral con 20 mg de suero de leche y 10 µg CT en 0.5 ml PBS. Los ratones no sensibilizados fueron tratados con 10 µg CT en 0.5 ml PBS. Cinco días después de la última sensibilización, los ratones recibieron un desafío intradérmico en el pabellón auricular con 10 µg de suero de leche en 20 µl de PBS. Antes y 1 h después del desafío, el grosor de la oreja se midió utilizando un micrómetro digital (Mitutoyo, Veenendaal, the Netherlands).

15 La diferencia en el grosor de la oreja (inflamación de oreja) es una indicación de la respuesta alérgica aguda y se expresa como delta µm.

[0158] Los resultados se muestran en la tabla 5.

20 Tabla 5: efecto de pretratamiento oral con mezclas de péptido, oligosacáridos no digeribles (NDO) o ambos en reacción alérgica a proteína de suero de leche medida como inflamación de oreja de hipersensibilidad de tipo inmediato (ITH).

Grupo de tratamiento de ratones	ΔITH µm ± S.E.	ITH relativo	La tolerancia relativa
Grupo de control no sensibilizado CT	44 ± 4.9	0%	100%
Ningún pretratamiento	189.4 ± 46	100%	0%
Pretratamiento de mezcla 1 de péptido	124.2 ± 10.1	55%	45%
Pretratamiento de mezcla 2 de péptido	153.8 ± 13.3	76%	24%
Pretratamiento de mezcla 3 de péptido	109.7 ± 9.6	45%	55%
Pretratamiento NDO	172.1 ± 11.5	88%	22%
NDO + pretratamiento de mezcla 1 de péptido	73 ± 6,3*	20%	80%
NDO + pretratamiento de mezcla 2 de péptido	159.2 ± 11.3	79%	21%
NDO + pretratamiento de mezcla 3 de péptido	97.4 ± 15.3	37%	63%

\* P < 0,05 en comparación con el grupo no pretratado.



ES 2 681 519 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> beta-lactoglobulina AA 19-36

5 <400> 2

**Trp Tyr Ser Leu Ala Met Ala Ala Ser Asp Ile Ser Leu Leu Asp Ala**  
**1 5 10 15**

**Gln Ser**

<210> 3

10 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> beta-lactoglobulina AA 25-42

15

<400> 3

**Ala Ala Ser Asp Ile Ser Leu Leu Asp Ala Gln Ser Ala Pro Leu Arg**  
**1 5 10 15**

**Val Tyr**

20

<210> 4

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25 <220>

<223> beta-lactoglobulina AA 31-48

<400> 4

ES 2 681 519 T3

Leu Leu Asp Ala Gln Ser Ala Pro Leu Arg Val Tyr Val Glu Glu Leu  
1 5 10 15

**Lys Pro**

<210> 5

<211> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> beta-lactoglobulina AA 91-108

10 <400> 5

Lys Val Leu Val Leu Asp Thr Asp Tyr Lys Lys Tyr Leu Leu Phe Cys  
1 5 10 15

**Met Glu**

<210> 6

15 <211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> beta-lactoglobulina AA 97-114

20

<400> 6

Thr Asp Tyr Lys Lys Tyr Leu Leu Phe Cys Met Glu Asn Ser Ala Glu  
1 5 10 15

**Pro Glu**

25 <210> 7

<211> 18

ES 2 681 519 T3

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> beta-lactoglobulina AA 103-120

5

<400> 7

**Leu Leu Phe Cys Met Glu Asn Ser Ala Glu Pro Glu Gln Ser Leu Ala**  
**1 5 10 15**

**Cys Gln**

10 <210> 8

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> beta-lactoglobulina AA 139-156

<400> 8

**Ala Leu Lys Ala Leu Pro Met His Ile Arg Leu Ser Phe Asn Pro Thr**  
**1 5 10 15**

**Gln Leu**

20

<210> 9

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25 <220>

<223> beta-lactoglobulina AA 145-162

<400> 9



**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Composición enteral que comprende dos oligosacáridos no digeribles diferentes y al menos un hidrolizado de proteína parcial, donde el hidrolizado de proteína parcial es hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial y donde los dos oligosacáridos no digeribles diferentes son un  $\beta$ -galactooligosaccárido y un fructo-oligosacárido, y donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial comprende al menos un péptido de beta-lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4.
- 10 2. Composición enteral según la reivindicación 1, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial es un hidrolizado de beta-lactoglobulina parcial.
- 15 3. Composición enteral según la reivindicación 1 o 2, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial es natural o sintético.
- 20 4. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el péptido tiene un peso molecular de por debajo de 5 kDa.
- 25 5. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde al menos un péptido de beta-lactoglobulina es independientemente sustituido con 1 a 10 de cualquier aminoácido en su terminal C y/o N.
- 30 6. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial está **caracterizado por el hecho de que** este comprende al menos 3 % en peso de péptidos con un tamaño de 5 kDa o superior y al menos 50 % en peso de péptidos con un tamaño por debajo de 5 kDa.
- 35 7. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la distribución de tamaño de los péptidos en el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial es 60 a 90 % < 1 kDa, 5 a 20 % 1 a < 2 kDa, 2 a 16 % 2 a < 5 kDa, 0.6 a 3 % 5 a < 10 kDa, 0.5 a 2 % 10 a 20 kDa y 1 a 3 % > 20 kDa, basado en peso en seco de péptidos presentes en hidrolizado de proteínas parcial.
- 40 8. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial **caracterizado por** una proporción de la cantidad relativa (% en peso) de péptidos con un tamaño de 2 a < 5 kDa a la cantidad relativa (% en peso) de péptidos con un tamaño de al menos 5 kDa es (5 a 1): 1, preferiblemente (4 a 1): 1.
- 45 9. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la composición comprende un componente de proteína, un componente lipídico y carbohidratos digeribles y donde el componente de proteína está presente en una cantidad de 5 a 25 % basada en calorías totales de la composición.
- 50 10. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la composición comprende 0.05 a 20 % en peso de oligosacárido no digerible basado en peso en seco de la composición.
- 55 11. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde la proporción en peso del  $\beta$ -galacto-oligosacárido al fructo-oligosacárido es de 1 a 19/1.
- 60 12. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que es una fórmula infantil o preparado de continuación.
13. Composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para usar en la inducción de tolerancia oral frente a las proteínas dietéticas.
14. Proceso para la preparación de la composición enteral según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, el proceso comprende la mezcla de al menos un hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial y dos oligosacáridos no digeribles diferentes para obtener así una composición con un efecto de inducción de tolerancia oral mejorado, donde el hidrolizado de proteínas de suero de leche parcial comprende al menos un péptido de  $\beta$ -lactoglobulina que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID N.º 1, SEQ ID N.º 2, SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 4 y donde los dos oligosacáridos no digeribles diferentes son un  $\beta$ -galactooligosaccárido y un fructo-oligosacárido.