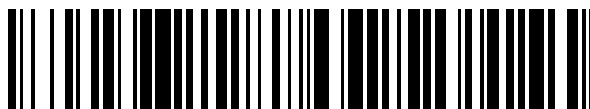


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 708 924**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7016 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2011** **PCT/US2011/067008**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.07.2012** **WO12092154**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2011** **E 11810764 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2018** **EP 2658546**

54 Título: **Procedimientos de uso de oligosacáridos de la leche humana para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias**

30 Prioridad:

31.12.2010 US 201061428860 P
26.08.2011 US 201161527851 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.04.2019

73 Titular/es:

ABBOTT LABORATORIES (100.0%)
100 Abbott Park Road, Dept. 0377 AP6A-1
Abbott Park, Illinois 60064, US

72 Inventor/es:

BUCK, RACHAEL;
DUSKA-MCEWEN, GERALYN O. y
DAVIS, STEVEN R.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 708 924 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

Procedimientos de uso de oligosacáridos de la leche humana para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias

5

Campo de la divulgación

La presente divulgación se refiere a los oligosacáridos de la leche humana (HMO, por sus siglas en inglés) para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias en un bebé, niño pequeño o niño. Más en particular, la presente divulgación se refiere a los fortificantes de leche humana, fórmulas para prematuros y recién nacidos y fórmulas pediátricas que comprenden HMO que pueden reducir la inflamación y mejorar así los mecanismos de defensa de las vías respiratorias y la salud respiratoria general de las vías respiratorias en un lactante, niño pequeño o niño.

El documento EP 2060257 se refiere a una composición adecuada para su uso en la prevención de infecciones secundarias después de una infección viral caracterizada por una actividad neuraminidasa que comprende un oligosacárido sialilado y N-acetil-lactosamina y/o un oligosacárido que contiene N-acetil-lactosamina. El documento WO 2004/032639 describe composiciones nutricionales que comprenden oligofructosa, sialil-lactosa y bacterias probióticas, que son útiles en la erradicación de microorganismos patógenos en el tracto gastrointestinal de los pacientes. El documento WO 2008/056983 describe una composición que comprende una fuente de lípidos, o una fuente de hidratos de carbono, caracterizada por que la composición también contiene la cepa de *B. lactis* depositada con el número de ATCC 27536 y la cepa de *L. casei* depositada con el número de ATCC 55544. El documento WO 98/43494 describe un producto nutricional que contiene al menos uno de 3-fucosil-lactosa, lacto-N-fucopentaosa III, lacto-N-fucopentaosa II, difucosil-lactosa, 2'-fucosil-lactosa, lacto-N-fucopentaosa I, lacto-N-neotetraosa, lacto-N-pentaosa V o lacto-N-tetraosa. El documento US 2009/0118229 describe composiciones que contienen carotenoides y procedimientos para mejorar la salud ósea o respiratoria en un sujeto que comprende administrar una combinación de licopeno, beta-caroteno y beta-criptoxantina al sujeto.

Antecedentes de la divulgación

La respuesta inflamatoria es un intento del cuerpo por restaurar y mantener la homeostasis después de la invasión por un agente infeccioso, la exposición a un antígeno o el daño físico, químico o traumático. Si bien la respuesta inflamatoria generalmente se considera una respuesta saludable a una lesión, el sistema inmunológico puede presentar una respuesta fisiológica indeseable si no se regula adecuadamente. Específicamente, la oxidación no regulada y la inflamación asociada son causas importantes de daño tisular y enfermedad clínicamente significativa en recién nacidos prematuros y recién nacidos. Esto se debe en gran parte a la inmadurez en función del sistema inmunológico natural de los bebés, y especialmente de los bebés prematuros.

La lactancia materna se ha asociado con un mayor desarrollo y un crecimiento y maduración equilibrados de los sistemas respiratorio, gastrointestinal e inmune del bebé, lo que brinda protección al bebé contra infecciones y enfermedades inflamatorias. La leche materna parece contener antioxidantes endógenos, como la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa y la catalasa, u otros antioxidantes no enzimáticos como el glutatión, la lactoferrina y los polifenoles, además de antioxidantes exógenos, como las vitaminas A, C, E y el selenio. Además, la leche materna incluye HMO que no solo actúan como análogos del receptor de patógenos, sino que también activan los factores inmunitarios de las células epiteliales intestinales infantiles y/o las poblaciones de células inmunitarias asociadas. La función de estos componentes de la leche materna, que funcionan como antioxidantes y como moduladores inmunitarios, incluye no solo la protección de los lípidos de la leche materna mediante la peroxidación, sino que también puede ayudar en la regulación de las respuestas inflamatorias a infecciones u otras lesiones.

No todos los bebés reciben leche materna. Además, actualmente no hay vacunas disponibles para la prevención de enfermedades inflamatorias. Por lo tanto, el desarrollo de procedimientos preventivos o terapéuticos seguros y eficaces sería beneficioso, especialmente para los bebés.

Por lo tanto, sería deseable proporcionar composiciones nutricionales, y fórmulas infantiles sintéticas en particular, que puedan producir beneficios nutricionales que incluyan un mejor crecimiento y desarrollo del sistema inmunitario, mecanismos mejorados de defensa de las vías respiratorias y una mejor salud respiratoria general de las vías respiratorias. Además, sería beneficioso si las composiciones nutricionales pudieran modular la inflamación y mejorar la inmunidad contra infecciones microbianas, que incluye infecciones virales y bacterianas, y otras enfermedades inflamatorias.

60 **Resumen de la divulgación**

La presente divulgación está dirigida a composiciones nutricionales, que incluyen fórmulas infantiles sintéticas, fórmulas pediátricas sintéticas y fórmulas infantiles sintéticas, que incluyen al menos un HMO, solo o en combinación con uno o más de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA, por sus siglas en inglés), antioxidantes y/o nucleótidos, para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias y/o los mecanismos de defensa de las vías respiratorias en bebés, niños pequeños o niños, así como los procedimientos de uso de las composiciones.

Una realización es una composición nutricional para su uso en la reducción del crecimiento de un virus respiratorio para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias en un bebé, niño pequeño o niño. La composición comprende 2'-fucosil-lactosa a una concentración de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 0,23 mg/ml y un carotenoide.

Otra realización de la divulgación es un procedimiento para mejorar los mecanismos de defensa de las vías respiratorias en un bebé, niño pequeño o niño. El procedimiento incluye identificar a un bebé, niño pequeño o niño que necesita mecanismos mejorados de defensa de las vías respiratorias y administrar al bebé, niño pequeño o niño una composición que comprende un oligosacárido de la leche humana seleccionado del grupo que consiste en 3'-sialil-lactosa, 6'-sialil-lactosa, 2'-fucosil-lactosa y lacto-N-neotetraosa a una concentración de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 0,2 mg/ml y un carotenoide.

Se ha descubierto que los HMO específicos, como la 3'-sialil-lactosa, la 6'-sialil-lactosa y otros como se indica en el presente documento, son altamente efectivos para moderar la inflamación generalmente en bebés, niños pequeños y niños, y específicamente para moderar la inflamación inducida por virus, que incluye el virus sincitial respiratorio, el virus de parainfluenza humana y el virus influenza A en bebés, niños pequeños y niños al reducir la producción de algunas citoquinas clave de las células inmunitarias humanas sin aumentar la carga viral, lo que puede dar lugar a una recuperación más rápida de las infecciones. Sorprendentemente, se determinó que los HMO demuestran los efectos de moderación deseables incluso en concentraciones muy bajas, incluidas concentraciones más bajas que las encontradas en la leche materna. Además, se encontró inesperadamente que la 6'-sialil-lactosa es inmunomoduladora incluso en ausencia de un virus, e induce la producción de citoquinas derivadas de monocitos. Además, se ha descubierto que aunque las reacciones biológicas a menudo ocurren dentro de un período de 30 a 60 minutos, y por lo tanto generalmente se usa una incubación de 30 a 60 minutos para los procedimientos *in vitro*, un tratamiento previo de 24 horas de las células proporciona un reflejo más cercano de la preexposición diaria a los HMO a la de un lactante que se alimenta con leche materna.

Además, se ha encontrado que los HMO fucosilados, incluida la 3'-fucosil-lactosa, sola o en combinación con ácido siálico, son altamente efectivas para inhibir los virus respiratorios. Incluso en bajas concentraciones, la 3'-fucosil-lactosa y el ácido siálico son efectivos.

Además, se ha descubierto que los HMO específicos actúan de manera sinérgica contra los virus respiratorios, incluido el RSV, cuando se combinan con un ácido graso poliinsaturado de cadena larga y/o un carotenoide. Estas acciones sinérgicas moderan las citoquinas inflamatorias inducidas por virus y, específicamente, la proteína 10 inducible por interferón (IP-10). También se pueden añadir componentes adicionales, incluidos los antioxidantes, como la vitamina A y la vitamina E, o los nucleótidos, al HMO y las combinaciones de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y/o carotenoides.

Se ha encontrado además que una combinación de HMO que incluye ácido/sialilado (por ejemplo, 6'-sialil-lactosa) y/o neutro/fucosilado (por ejemplo, 2'-fucosil-lactosa) y/o n-acetilglucosilado (por ejemplo, LNnT) impide el desarrollo de la enterocolitis necrotizante. Además, se ha encontrado que estos HMO disminuyen el estrés oxidativo en los bebés.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es un gráfico que representa la infectividad del virus H1N1 de células MDCK en presencia de varios HMO como se analiza en el Ejemplo 37.

La Fig. 2 es un gráfico que muestra los niveles de glutatión en plasma sanguíneo de lechones, como se mide en el Ejemplo 38.

La Fig. 3 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL como se mide en el Ejemplo 39.

La Fig. 4 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL como se mide en el Ejemplo 39.

La Fig. 5 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de LNnT como se mide en el Ejemplo 39.

La Fig. 6 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de LNnT como se mide en el Ejemplo 39.

5 La Fig. 7 es un gráfico que representa los niveles de IL-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL como se mide en el Ejemplo 39.

La Fig. 8 es un gráfico que representa los niveles de IL-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL como se mide en el Ejemplo 39.

10 La Fig. 9 es un gráfico que muestra los niveles de IL-10 resultantes de la administración de LNnT como se mide en el Ejemplo 39.

La Fig. 10 es un gráfico que muestra los niveles de IL-10 resultantes de la administración de LNnT como se mide en el Ejemplo 39.

La Fig. 11 es un gráfico que muestra los niveles de copia de RSV NS1 resultantes de la administración de 2'FL y/o licopeno como se mide en el Ejemplo 40.

15 La Fig. 12 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de 2'FL y licopeno como se mide en el Ejemplo 41.

La Fig. 13 es un gráfico que muestra los niveles de copia de RSV NS1 resultantes de la administración de 2'FL como se mide en el Ejemplo 42.

20 La Fig. 14 es un gráfico que muestra los niveles de copia de RSV NS 1 resultantes de la administración de LNnT como se mide en el Ejemplo 42.

La Fig. 15 es un gráfico que muestra los niveles de copia de RSV NS1 resultantes de la administración de 3'SL como se mide en el Ejemplo 42.

La Fig. 16 es un gráfico que representa los niveles de copia del gen IAV M resultantes de la administración de LNnT como se mide en el Ejemplo 43.

25 La Fig. 17 es un gráfico que representa los niveles de copia del gen IAV M resultantes de la administración de 6'SL como se mide en el Ejemplo 43.

La Fig. 18 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de 6'SL como se mide en el Ejemplo 44.

30 Las Figuras 19A y 19B son gráficos que representan los niveles de IL-10 resultantes de la administración de 6'SL solo o en combinación con 3'SL como se mide en el Ejemplo 45.

Las Figuras 20A y 20B son gráficos que representan los niveles de IL-10 resultantes de la administración de LNnT o 2'FL como se mide en el Ejemplo 45.

La Fig. 21 es un gráfico que representa el porcentaje de reducción en IP-10 resultante de la administración de 2'FL y 6'SL solo o en combinación como se mide en el Ejemplo 46.

35 La Fig. 22 es un gráfico que representa el porcentaje de reducción en IP-10 resultante de la administración de 2'FL, 3'SL y licopeno individualmente o en combinación como se mide en el Ejemplo 47.

Descripción detallada de la divulgación

40 Las composiciones y procedimientos nutricionales descritos en este documento utilizan HMO solos o en combinación con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y/o antioxidantes, y en particular carotenoides y/o nucleótidos para controlar y reducir varias enfermedades y afecciones relacionadas con la inflamación. Las composiciones nutricionales son particularmente eficaces para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias y los mecanismos de defensa de las vías respiratorias. Estas y otras características de las composiciones y
45 procedimientos nutricionales, así como algunas de las muchas variaciones y adiciones opcionales, se describen en detalle a continuación.

Los términos "empaquetamiento por retorta" y "esterilización por retorta" se usan indistintamente en este documento y, a menos que se especifique lo contrario, se refieren a la práctica común de llenar un recipiente, más
50 habitualmente una lata de metal u otro paquete similar, con un líquido nutricional y a continuación someter el paquete lleno con el líquido hasta la etapa necesaria de esterilización por calor, para formar un producto líquido nutritivo esterilizado y envasado por retorta.

El término "empaquetado aséptico" como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a la fabricación de un producto envasado sin depender de la etapa de empaquetado por retorta descrita anteriormente, en donde el líquido nutricional y el envase se esterilizan por separado antes del llenado y a continuación se combinan en condiciones de procesamiento esterilizado o aséptico para formar un producto líquido nutricional esterilizado y envasado asépticamente.

60 Los términos "grasa" y "aceite" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se usan

indistintamente para referirse a materiales lipídicos derivados o procesados de plantas o animales. Estos términos también incluyen materiales lipídicos sintéticos siempre que dichos materiales sintéticos sean adecuados para la administración oral a seres humanos.

- 5 El término "oligosacárido de la leche humana" o "HMO", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere en general a varios carbohidratos complejos que se encuentran en la leche materna humana que pueden estar en forma ácida o neutra, y a sus precursores. Los oligosacáridos de la leche humana no limitantes a modo de ejemplo incluyen 3'-sialil-lactosa, 6'-sialil-lactosa, 3'-fucosil-lactosa, 2'-fucosil-lactosa y lacto-N-neotetraosa. Los precursores de oligosacáridos de la leche humana a modo de ejemplo incluyen
10 ácido siálico y/o fucosa.

- El término "estable al almacenamiento" como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a un producto nutricional que permanece comercialmente estable después de envasarse y almacenarse a 18-24 °C durante al menos 3 meses, que incluye desde aproximadamente 6 meses hasta
15 aproximadamente 24 meses, y también desde unos 12 meses hasta unos 18 meses.

- Los términos "formulación nutricional" o "composición nutricional", como se usan en el presente documento, se usan indistintamente y, a menos que se especifique lo contrario, se refieren a fórmulas sintéticas que incluyen líquidos nutricionales, sólidos nutricionales, semisólidos nutricionales, semilíquidos nutricionales, polvos nutricionales,
20 suplementos nutricionales y cualquier otro producto alimenticio nutricional conocido en la técnica. Los polvos nutricionales pueden reconstituirse para formar un líquido nutricional, todos ellos que comprenden uno o más de grasas, proteínas y carbohidratos y son adecuados para el consumo oral por parte de un ser humano. Los términos "formulación nutricional" o "composición nutricional" no incluyen la leche materna.

- 25 El término "líquido nutricional", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a productos nutricionales en forma líquida lista para beber, en forma concentrada y líquidos nutricionales preparados mediante la reconstitución de los polvos nutricionales descritos en el presente documento antes de su uso.

- 30 El término "polvo nutricional", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a productos nutricionales en forma fluida o extraíble que pueden reconstituirse con agua u otro líquido acuoso antes del consumo e incluye polvos secados por pulverización y mezclados en seco/combinados en seco.

- El término "semisólido nutricional", como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se
35 refiere a productos nutricionales que tienen propiedades intermedias, como la rigidez, entre sólidos y líquidos. Algunos ejemplos de semisólidos incluyen pudines, gelatinas y masas.

- El término "semi-líquido nutricional", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a productos nutricionales que tienen propiedades intermedias, tales como propiedades de flujo,
40 entre líquidos y sólidos. Algunos ejemplos de semi-líquidos incluyen batidos espesos y geles líquidos.

- El término "bebé" como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a una persona de 12 meses o menos. El término "bebé prematuro" como se usa en este documento, se refiere a una persona nacida antes de las 36 semanas de gestación.

- 45 El término "niño pequeño" como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a una persona mayor de un año de edad hasta los tres años de edad.

- El término "niño" como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a una persona
50 mayor de tres años de edad hasta los doce años de edad.

El término "recién nacido" como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a una persona desde el nacimiento hasta las cuatro semanas de edad.

- 55 Los términos "fórmula infantil" o "fórmula infantil sintética" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se usan indistintamente y se refieren a reemplazos o sustitutos líquidos, sólidos, semisólidos y semilíquidos de la leche humana que son adecuados para el consumo por parte de un bebé. Las fórmulas sintéticas incluyen componentes que son de origen semi-purificado o purificado. Como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, los términos "semi-purificado" o "purificado" se refieren a un material que se
60 ha preparado mediante la purificación de un material natural o por síntesis. Los términos "fórmula infantil" o "fórmula

infantil sintética" no incluyen la leche materna.

El término "fórmula pediátrica sintética", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a los reemplazos o sustitutos líquidos, sólidos, semilíquidos y semisólidos de la leche humana que son adecuados para el consumo por parte de un bebé o niño pequeño hasta la edad de 36 años meses (3 años). Las fórmulas sintéticas incluyen componentes que son de origen semi-purificado o purificado. Como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, los términos "semi-purificado" o "purificado" se refieren a un material que se ha preparado mediante la purificación de un material natural o por síntesis. El término "fórmula nutricional pediátrica sintética" no incluye la leche materna.

El término "fórmula sintética para niños", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a los reemplazos o sustitutos líquidos, sólidos, semilíquidos y semisólidos de la leche humana que son adecuados para el consumo por parte de un niño de hasta 12 años. Las fórmulas sintéticas incluyen componentes que son de origen semi-purificado o purificado. Como se usa en este documento, a menos que se especifique lo contrario, los términos "semi-purificado" o "purificado" se refieren a un material que se ha preparado mediante la purificación de un material natural o por síntesis. El término "fórmula nutricional sintética para niños" no incluye la leche materna.

El término "fórmula para bebés prematuros", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a productos nutricionales líquidos y sólidos adecuados para el consumo de un bebé prematuro.

El término "fortificante de la leche humana", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a productos nutricionales líquidos y sólidos adecuados para mezclar con leche materna o fórmula para bebés prematuros o fórmula infantil para consumo por parte de un bebé prematuro o recién nacido.

Los términos "ausencia de virus" o "sin virus" como se usan en este documento con respecto a la inducción de la producción de citoquinas derivadas de monocitos, a menos que se especifique lo contrario, se refieren a un individuo (por ejemplo, un bebé) sin el virus o que tienen el virus en una cantidad menor que la cantidad requerida para desencadenar una respuesta inmunitaria; es decir, una cantidad que es menor que la requerida para que la respuesta inmunitaria natural del cuerpo aumente la producción de citoquinas y otros factores inmunitarios.

Los términos "enfermedad inflamatoria" o "afección inflamatoria" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refieren a cualquier enfermedad, trastorno o afección caracterizada por inflamación. El término "enfermedad inflamatoria mediada por infección", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a una enfermedad inflamatoria asociada o inducida por una infección microbiana, incluida la infección viral y bacteriana.

Los términos "susceptible" y "en riesgo" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, significan tener poca resistencia a cierta afección o enfermedad, que incluye estar predispuesto genéticamente, tener un historial familiar y/o tener síntomas de la afección o enfermedad.

Los términos "modular" o "modulación" o "modulado" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refieren al movimiento específico de una característica seleccionada.

Los términos "crecimiento de un virus" o "crecimiento de bacterias" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refieren a la producción, proliferación o replicación de un virus o bacteria.

Todos los porcentajes, partes y relaciones como se usan en este documento, son en peso de la composición total, a menos que se especifique lo contrario. Todos estos pesos, en lo que se refiere a los ingredientes enumerados, se basan en el nivel activo y, por lo tanto, no incluyen disolventes o subproductos que puedan incluirse en materiales disponibles en el mercado, a menos que se especifique lo contrario.

Los intervalos numéricos como se usan en este documento pretenden incluir cada número y subconjunto de números dentro de ese intervalo, ya se divulgue específicamente o no. Además, estos intervalos numéricos deben interpretarse como soporte para una reivindicación dirigida a cualquier número o subconjunto de números en ese intervalo. Por ejemplo, una divulgación de 1 a 10 se debe interpretar como que admite un intervalo de 2 a 8, de 3 a 7, de 5 a 6, de 1 a 9, de 3,6 a 4,6, de 3,5 a 9,9, etc.

Todas las referencias a características o limitaciones singulares de la presente divulgación incluirán la característica o limitación plural correspondiente, y viceversa, a menos que se especifique lo contrario o se indique claramente lo contrario por el contexto donde se hace la referencia.

Todas las combinaciones de procedimiento o pasos de proceso, como se usan en este documento, pueden realizarse en cualquier orden, a menos que se especifique lo contrario o se indique claramente lo contrario en el contexto donde se realiza la combinación a la que se hace la referencia.

5 Las composiciones y procedimientos nutricionales pueden comprender, consistir en, o consistir esencialmente en los elementos esenciales de las composiciones y procedimientos como se describen en el presente documento, así como cualquier elemento adicional u opcional descrito en el presente documento o útil de otro modo en aplicaciones de productos nutricionales.

10 **Forma del producto**

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden formularse y administrarse en cualquier forma de producto oral conocida o, por lo demás, adecuada. Cualquier forma de producto sólido, líquido, semisólido, 15 semilíquido o en polvo, incluida combinaciones o variaciones de los mismos, es adecuada para su uso en el presente documento, siempre que dichas formas permitan el suministro oral seguro y efectivo al individuo de los ingredientes esenciales como también se define en el presente documento.

20 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación incluyen uno o más HMO como se describe en el presente documento. Las composiciones pueden incluir uno o más HMO solos o en combinación con otros factores de potenciación inmunitaria que incluyen, entre otros, ácidos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA), nucleótidos y antioxidantes, como carotenoides y vitaminas, como se explica más adelante.

25 Las composiciones nutricionales pueden estar en cualquier forma de producto que comprenda los ingredientes descritos en el presente documento, y que sea segura y eficaz para la administración oral. Las composiciones nutricionales pueden formularse para incluir solo los ingredientes descritos en el presente documento, o pueden modificarse con ingredientes opcionales para formar varias formas de productos diferentes.

30 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación se formulan de manera deseable como formas de productos dietéticos, que se definen en el presente documento como aquellas realizaciones que comprenden los ingredientes de la presente divulgación en una forma de producto que contiene al menos uno de grasa, proteína y carbohidrato, y preferiblemente también contiene vitaminas, minerales, o una combinación de los mismos. Las composiciones nutricionales comprenderán al menos HMO, deseablemente en combinación con al menos uno de proteínas, grasas, vitaminas y minerales, para producir una composición nutricional.

35 Las composiciones nutricionales pueden formularse con suficientes tipos y cantidades de nutrientes para proporcionar una fuente única, primaria o suplementaria de nutrición, o para proporcionar un producto nutricional especializado para su uso en individuos con enfermedades o afecciones específicas o con un beneficio nutricional específico como se describe más abajo.

40 Los ejemplos específicos no limitantes de formas de productos adecuados para usar con las composiciones que contienen HMO como se describe en el presente documento incluyen, por ejemplo, suplementos dietéticos líquidos y en polvo, fortificantes de leche humana en polvo y líquidos, fórmulas para bebés prematuros líquidas y en polvo, fórmulas infantiles líquidas y en polvo, fórmulas líquidas y elementales y semi-elementales en polvo, fórmulas 45 pediátricas líquidas y en polvo, fórmulas líquidas y en polvo para niños pequeños, y fórmulas de continuación líquidas y en polvo adecuadas para usar con bebés y niños.

Líquidos nutricionales

50 Los líquidos nutricionales incluyen líquidos nutritivos tanto concentrados como listos para el consumo. Estos líquidos nutricionales se formulan más habitualmente como suspensiones o emulsiones, aunque otras formas líquidas están dentro del alcance de la presente divulgación.

Las emulsiones nutricionales adecuadas para su uso pueden ser emulsiones acuosas que comprenden proteínas, 55 grasas y carbohidratos. Estas emulsiones generalmente son líquidos fluidos o bebibles de aproximadamente 1 °C a aproximadamente 25 °C y normalmente están en forma de emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite o emulsiones acuosas complejas, aunque dichas emulsiones más habitualmente están en forma de emulsiones de aceite en agua que tienen una fase acuosa continua y una fase de aceite discontinua.

60 Las emulsiones nutricionales pueden ser y normalmente son estables durante su almacenamiento. Las emulsiones

- nutricionales normalmente contienen hasta aproximadamente el 95 % en peso de agua, que incluye desde aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 95 %, que también incluye desde aproximadamente el 60 % a aproximadamente el 90 %, y también desde aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 85 %, de agua por peso de las emulsiones nutricionales. Las emulsiones nutricionales pueden tener una variedad de densidades de productos, pero lo más típico es que tengan una densidad mayor que aproximadamente 1,03 g/ml, incluso mayor que aproximadamente 1,04 g/ml, incluida mayor que aproximadamente 1,055 g/ml, que incluye de aproximadamente 1,06 g/ml a aproximadamente 1,12 g/ml, y también incluye desde aproximadamente 1,085 g/ml hasta aproximadamente 1,10 g/ml.
- 10 Las emulsiones nutricionales pueden tener una densidad calórica adaptada a las necesidades nutricionales del usuario final, aunque en la mayoría de los casos las emulsiones generalmente comprenden al menos 19 kcal/fl oz (660 kcal/litro), más habitualmente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) a aproximadamente 25 kcal/fl oz (820 kcal/litro), incluso más habitualmente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) a aproximadamente 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/litro). En general, las fórmulas de 22-24 kcal/fl oz se usan más habitualmente en bebés prematuros o de bajo peso al nacer, y las fórmulas de 20-21 kcal/fl oz (675-680 a 700 kcal/litro) se usan con más frecuencia en bebés recién nacidos. En algunas realizaciones, la emulsión puede tener una densidad calórica de aproximadamente 50-100 kcal/litro a aproximadamente 660 kcal/litro, que incluye de aproximadamente 150 kcal/litro a aproximadamente 500 kcal/litro. En algunas realizaciones específicas, la emulsión puede tener una densidad calórica de 25, o 50, o 75, o 100 kcal/litro.
- 20 La emulsión nutricional puede tener un pH que varía de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 8, pero más ventajosamente está en un intervalo de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5, que incluye de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,3, que incluye de aproximadamente 6,2 a aproximadamente 7,2.
- 25 Aunque el tamaño de la porción para la emulsión nutricional puede variar dependiendo de varias variables, un tamaño de porción típico generalmente es de al menos aproximadamente 1 ml, o incluso al menos aproximadamente 2 ml, o incluso al menos aproximadamente 5 ml, o incluso al menos aproximadamente 10 ml, o incluso al menos aproximadamente 25 ml, incluidos intervalos de aproximadamente 1 ml a aproximadamente 300 ml, que incluye de aproximadamente 4 ml a aproximadamente 250 ml, y que incluye de aproximadamente 10 ml a aproximadamente 240 ml.

Sólidos nutricionales

- Los sólidos nutricionales pueden estar en cualquier forma sólida, pero normalmente están en forma de composiciones en partículas fluidas o sustancialmente fluidas, o al menos composiciones en partículas. Las formas de productos sólidos nutricionales particularmente adecuadas incluyen composiciones en polvo secadas por pulverización, aglomeradas y/o en polvo seco. Las composiciones pueden recogerse y medirse fácilmente con una cuchara u otro dispositivo similar, y el usuario puede reconstituirlas fácilmente con un líquido acuoso adecuado, normalmente agua, para formar una composición nutricional para un uso oral o enteral inmediato. En este contexto, el uso "inmediato" generalmente significa dentro de aproximadamente 48 horas, generalmente dentro de aproximadamente 24 horas, preferiblemente justo después de la reconstitución.

- Los polvos nutricionales pueden reconstituirse con agua antes de su uso a una densidad calórica adaptada a las necesidades nutricionales del usuario final, aunque en la mayoría de los casos los polvos se reconstituyen con agua para formar composiciones que comprenden al menos 19 kcal/fl oz (660 kcal/litro), más habitualmente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) a aproximadamente 25 kcal/fl oz (820 kcal/litro), incluso más habitualmente de aproximadamente 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) a aproximadamente 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/litro). En general, las fórmulas de 22-24 kcal/fl oz se usan más habitualmente en bebés prematuros o de bajo peso al nacer, y las fórmulas de 20-21 kcal/fl oz (675-680 a 700 kcal/litro) se usan con más frecuencia en bebés recién nacidos. En algunas realizaciones, el polvo reconstituido puede tener una densidad calórica de aproximadamente 50-100 kcal/litro a aproximadamente 660 kcal/litro, que incluye desde aproximadamente 150 kcal/litro hasta aproximadamente 500 kcal/litro. En algunas realizaciones específicas, la emulsión puede tener una densidad calórica de 25, o 50, o 75, o 100 kcal/litro.

55 Oligosacáridos de la leche humana (HMO)

- Las composiciones nutricionales de la presente divulgación incluyen al menos un HMO, y en muchas realizaciones, una combinación de dos o más HMO. Los oligosacáridos son uno de los componentes principales de la leche materna, que contiene, en promedio, 10 gramos por litro de oligosacáridos neutros y 1 gramo por litro de oligosacáridos ácidos. La composición de los oligosacáridos de la leche humana es muy compleja y se conocen más

de 200 estructuras similares a las de los oligosacáridos.

Los HMO pueden incluirse en las composiciones nutricionales solas, o en algunas realizaciones, en combinación con otros factores de potenciación inmunitaria (por ejemplo, LCPUFA, antioxidantes, nucleótidos, etc.) como se describe en el presente documento. El o los HMO pueden aislarse o enriquecerse a partir de la(s) leche(s) secretada(s) por mamíferos, incluidas, entre otras, las especies humana, bovinas, ovinas, porcinas o caprinas. Los HMO también pueden producirse mediante fermentación microbiana, procesos enzimáticos, síntesis química o una combinación de los mismos.

- 10 Los HMO adecuados para su uso en las composiciones nutricionales pueden incluir oligosacáridos ácidos, oligosacáridos neutros, oligosacáridos n-acetilglucosilados y precursores de HMO. Ejemplos no limitantes específicos de HMO que pueden incluirse individualmente o en combinación en las composiciones de la presente divulgación incluyen: ácido siálico (es decir, ácido siálico libre, ácido siálico unido a lípidos, ácido siálico unido a proteínas); D-glucosa (Glc); D-galactosa (Gal); N-acetilglucosamina (GlcNAc); L-fucosa (Fuc); oligosacáridos de fucosilo (es decir, Lacto-N-fucopentaosa I; Lacto-N-fucopentaosa II; 2'-Fucosil-lactosa; 3'-Fucosil-lactosa; Lacto-N-fucopentaosa III; Lacto-N-difucohexaosa I; y Lactodifucotetraosa)); oligosacáridos no fucosilados, no sialilados (es decir, Lacto-N-tetraosa y Lacto-N-neotetraosa); oligosacáridos de sialili (es decir, 3'-sialil-3-fucosil-lactosa; disialomonofucosil-lacto-N-neohexaosa; monofucosilmonosialil-lacto-N-octaosa (sialil Lea); sialil-lacto-N-fucohexaosa II; disialil-lacto-N-fucopentaosa II; monofucosildisialil-lacto-N-tetraosa); y oligosacáridos de sialil fucosilo (es decir, 2'-sialil-lactosa; 2-sialil-lactosamina; 3'-sialil-lactosa; 3'-sialil-lactosamina; 6'-sialil-lactosa; 6'-sialil-lactosamina; sialil-lacto-N-neotetraosa c; monosialil-N-hexaosa; disialil-N-hexaosa I; monosialil-lacto-N-neohexaosa I; monosialil-lacto-N-neohexaosa II; disialil-lacto-N-neohexaosa; disialil-lacto-N-tetraosa; disialil-lacto-N-hexaosa II; sialil-lacto-N-tetraosa a; disialil-lacto-N-hexaosa I y sialil-lacto-N-tetraosa b). También son útiles las variantes en las que la glucosa (Glc en el extremo reductor se reemplaza por N-acetilglucosamina (por ejemplo, la 2'-fucosil-N-acetilglucosamina (2'-FLNac) es una variante de este tipo de la 2'-fucosil-lactosa). Estos HMO se describen con más detalle en la Solicitud de Patente de EE.UU. n.º 2009/0098240, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. Otros ejemplos adecuados de HMO que pueden incluirse en las composiciones de la presente divulgación incluyen lacto-N-fucopentaosa V, lacto-N-hexaosa, para-lacto-N-hexaosa, lacto-N-neohexaosa, para-lacto-N-neohexaosa, monofucosil-lacto-N-hexaosa II, lacto-N-hexaosa fucosilada isomérica (1), lacto-N-hexaosa fucosilada isomérica (3), lacto-N-hexaosa fucosilada isomérica (2), difucosil-para-lacto-N-neohexaosa, difucosil-para-lacto-N-hexaosa, difucosil-lacto-N-hexaosa, lacto-N-neocataosa, para-lacto-N-octaosa, iso-lacto-N-octaosa, lacto-N-octaosa, monofucosil-lacto-neocataosa, monofucosil-lacto-N-octaosa, difucosil-lacto-N-octaosa I, difucosil-lacto-N-octaosa II, difucosil-lacto-N-neocataosa II, difucosil-lacto-N-neocataosa I, lacto-N-decaosa, trifucosil-lacto-N-neocataosa, trifucosil-lacto-N-octaosa, trifucosil-iso-lacto-N-octaosa, lacto-N-difucohexaosa II, sialil-lacto-N-tetraosa a, sialil-lacto-N-tetraosa b, sialil-lacto-N-tetraosa c, sialil-fucosil-lacto-N-tetraosa I, sialil-fucosil-lacto-N-tetraosa II, y disialil-lacto-N-tetraosa, y una combinación de los mismos. Las composiciones nutricionales particularmente adecuadas incluyen al menos uno de los siguientes HMO o precursores de HMO: ácido siálico (SA); 3'-sialil-lactosa (3'SL); 6'-sialil-lactosa (6'SL); 2'-fucosil-lactosa (2'FL); 3'-fucosil-lactosa (3'FL); Lacto-N-tetraosa y Lacto-N-neotetraosa (LNnT), y en particular, combinaciones de 6'SL y 3'SL; combinaciones de 3'FL y SA; combinaciones de 2'FL y 3'FL; combinaciones de 2'FL, 3'SL, y 6'SL; combinaciones de 3'SL, 3'FL y LNnT; y combinaciones de 6'SL, 2'FL y LNnT.

- Otras combinaciones ejemplares incluyen: SA, 3'SL, 6'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; 3'SL, 6'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; SA, 6'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; SA, 3'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; SA, 3'SL, 6'SL, 2'FL y LNnT; SA, 3'SL, 6'SL, 3'FL y LNnT; SA, 3'SL, 6'SL, 3'FL y 2'FL; SA y 3'SL; SA y 6'SL; SA y 2'FL; SA y LNnT; SA, 3'SL y 6'SL; SA, 3'SL y 3'FL; SA, 3'SL y 2'FL; SA, 3'SL y LNnT; SA, 6'SL y 3'FL; SA, 6'SL y 2'FL; SA, 6'SL, y LNnT; SA, 3'FL, y 2'FL; SA, 3'FL, y LNnT; SA, 3'SL, 6'SL y 3'FL; SA, 3'SL, 6'SL y 2'FL; SA, 3'SL, 6'SL y LNnT; SA, 3'SL, 3'FL y 2'FL; SA, 3'SL, 3'FL y LNnT; SA, 3'SL, 2'FL y LNnT; SA, 6'SL, 3'FL y 2'FL; SA, 6'SL, 2'FL y LNnT; SA, 6'SL, 3'FL y LNnT; SA, 3'FL, 2'FL y LNnT; SA, 6'SL, 2'FL y LNnT; SA, 3'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; SA, 6'SL, 3'FL, 2'FL, y LNnT; SA, 3'SL, 6'SL, 3'FL y LNnT; SA, 3'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; SA, 3'SL, 6'SL, 2'FL y LNnT; 3'SL, 6'SL, 3'FL y 2'FL; 3'SL, 6'SL, 2'FL y LNnT; 3'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; 3'SL, 6'SL, 3'FL y LNnT; 3'SL, 6'SL y 3'FL; 3'SL, 3'FL y 2'FL; 3'SL, 2'FL y LNnT; 3'SL, 6'SL y 2'FL; 3'SL, 6'SL y LNnT; 3'SL y 3'FL; 3'SL y 2'FL; 3'SL y LNnT; 6'SL y 3'FL; 6'SL y 2'FL; 6'SL y LNnT; 6'SL, 3'FL y LNnT; 6'SL, 3'FL, 2'FL y LNnT; 3'FL, 2'FL y LNnT; 3'FL y LNnT; y 2'FL y LNnT.

- 55 Los HMO están presentes en las composiciones nutricionales en cantidades totales de HMO en la composición (mg de HMO por ml de composición) de al menos aproximadamente 0,001 mg/ml, que incluye al menos aproximadamente 0,01 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de incluyendo de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 1 mg/ml, que incluye

de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 0,23 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 0,23 mg/ml de HMO total en la composición nutricional. Normalmente, la cantidad de HMO en la composición nutricional dependerá del o los HMO específicos presentes y las cantidades de otros componentes en las composiciones nutricionales.

5

En una realización, cuando el producto nutricional es un polvo nutricional, la concentración total de HMO en el polvo nutricional es de aproximadamente el 0,0005 % a aproximadamente el 5 %, que incluye de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 1 % (en peso del polvo nutricional).

10 En otra realización específica, cuando el producto nutricional es un líquido nutricional listo para el consumo, la concentración total de HMO en el líquido nutricional listo para el consumo es de aproximadamente el 0,0001 % a aproximadamente el 0,50 %, que incluye de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 0,15 %, que incluye de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 0,10 %, y que incluye además desde aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 0,03 % (en peso del líquido nutricional listo para el consumo).

15

En otra realización específica, cuando el producto nutricional es un líquido nutricional concentrado, la concentración total de HMO en el líquido nutricional concentrado es de aproximadamente el 0,0002 % a aproximadamente el 0,60 %, que incluye de aproximadamente el 0,002 % a aproximadamente el 0,30 %, que incluye de aproximadamente el 0,02 % a aproximadamente el 0,20 %, y que incluye además desde aproximadamente el 0,02 % a aproximadamente el 0,06 % (en peso del líquido nutricional concentrado).

20

En una realización específica, la composición nutricional incluye un oligosacárido de leche humana neutra en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 mg/ml a menos de 2 mg/ml, y que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml a menos de 2 mg/ml.

25

En algunas realizaciones de la divulgación, los HMO se usan en combinación para proporcionar el efecto de mejora inmunitaria deseada. Por ejemplo, en una realización, la composición nutricional incluye 6'SL en combinación con 3'SL en una cantidad total de HMO de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta menos de 0,23 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta menos de 0,23 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta menos de 0,15 mg/ml, y que incluye desde 0,01 mg/ml hasta menos de 0,15 mg/ml de la composición nutricional. En otra realización, la composición nutricional incluye 6'SL en combinación con 3'SL en una cantidad total de HMO de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml y que incluye más de 0,65 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. En otra realización, la composición nutricional incluye 3'SL y 6'SL en una relación en peso de aproximadamente 1:20 a aproximadamente 20:1, que incluye de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 10:1, y que incluye desde aproximadamente 1:2 hasta aproximadamente 2:1.

30

35

40 En una realización específica de la divulgación, la composición nutricional incluye 6'SL, solo o en combinación con otros HMO, en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta menos de 0,25 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta menos de 0,25 mg/ml, que incluye desde más de 0,4 mg/ml hasta aproximadamente 20 mg/ml, y desde aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml.

45

En una realización de la divulgación, cuando la composición nutricional incluye 6'SL, la cantidad total de HMO en la composición nutricional incluye al menos aproximadamente el 88 % (en peso total de HMO) de 6'SL, que incluye desde aproximadamente el 88 % (en peso total de HMO) hasta aproximadamente el 96 % (por peso total de HMO), que incluye desde aproximadamente el 88 % (por peso total de HMO) hasta aproximadamente el 100 % (por peso total de HMO), y que incluye aproximadamente el 100 % (por peso total de HMO) de 6'SL.

50

En otra realización de la divulgación, la composición nutricional incluye 3'SL, solo o en combinación con otros HMO, en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta menos de 0,15 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta menos de 0,15 mg/ml, y que incluye desde más de 0,25 mg/ml hasta aproximadamente 20 mg/ml.

55

En una realización de la divulgación, cuando la composición nutricional incluye 3'SL, la cantidad total de HMO en la composición nutricional incluye al menos aproximadamente el 85 % (en peso total de HMO) de 3'SL, que incluye

60

desde aproximadamente el 85 % (en peso total de HMO) hasta aproximadamente el 88 % (por peso total de HMO), que incluye desde aproximadamente el 85 % (por peso total de HMO) hasta aproximadamente el 100 % (por peso total de HMO), y que incluye aproximadamente el 100 % (por peso total de HMO) de 3'SL.

- 5 En una realización específica de la divulgación, la composición nutricional incluye LNnT, solo o en combinación con otros HMO, en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta menos de 0,2 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta menos de 0,2 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta aproximadamente 0,1 mg/ml, y que incluye desde más de 0,32 mg/ml
10 hasta aproximadamente 20 mg/ml.

- En otra realización específica de la divulgación, la composición nutricional incluye 3'FL, solo o en combinación con otros HMO, en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml
15 hasta menos de 1 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta menos de 1 mg/ml, y que incluye desde más de 1,7 mg/ml hasta aproximadamente 20 mg/ml.

- En una realización específica de la divulgación, la composición nutricional incluye 3'FL en combinación con SA en una cantidad total de HMO de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. En una realización, la composición nutricional incluye
20 3'FL en una cantidad de 0,001 mg/ml a menos de 1 mg/ml, que incluye de 0,01 mg/ml a menos de 1 mg/ml y SA en una cantidad de aproximadamente 1 mg/ml.

- En otra realización de la divulgación, la composición nutricional incluye 2'FL, solo o en combinación con otros HMO, en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta menos de 2 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta menos de 2 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,001 mg/ml hasta aproximadamente 1 mg/ml, y que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta aproximadamente 0,001 mg/ml. En otra realización, la composición nutricional incluye 2'FL, solo o en
30 combinación con otros HMO, en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml y que incluye más de 2,5 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml.

- En una realización específica de la divulgación, la composición nutricional incluye 2'FL en combinación con 3'FL en una cantidad total de HMO de 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml.
35

- En otra realización más de la divulgación, la composición nutricional incluye una combinación de 6'SL, 2'FL y LNnT en una cantidad total de HMO de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml, que incluye desde aproximadamente 0,01 mg/ml hasta aproximadamente 20 mg/ml.
40

Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA)

- Además de los HMO descritos anteriormente, los productos nutricionales de la presente divulgación pueden incluir
45 LCPUFA. Los LCPUFA se incluyen en las composiciones nutricionales para proporcionar apoyo nutricional, así como para reducir el estrés oxidativo y mejorar el crecimiento y el desarrollo funcional del epitelio intestinal y las poblaciones de células inmunitarias asociadas. En algunas realizaciones, la composición nutricional incluye una combinación de uno o más HMO y uno o más LCPUFA de manera que la composición proporciona un beneficio sinérgico al usuario final, tal como un beneficio sinérgico en la modulación de respuestas inmunitarias antivíricas y la
50 moderación de la inflamación. En algunas realizaciones, el o los HMO utilizados en combinación con los LCPUFA para proporcionar el efecto sinérgico son HMO ácidos.

- Los LCPUFA ejemplares para su uso en las composiciones nutricionales incluyen, por ejemplo, los LCPUFA ω -3 y los LCPUFA ω -6. Los LCPUFA específicos incluyen ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA), ácido acídardidónico (ARA), ácido linoleico, ácido linolénico (ácido alfa linolénico) y ácido gamma-linoleico derivado de fuentes de aceite como aceites vegetales, plancton marino, aceites fúngicos y aceites de pescado. En una realización particular, los LCPUFA se derivan de aceites de pescado tales como aceite de menhaden, salmón, anchoa, bacalao, mero, atún o arenque. Los LCPUFA particularmente preferidos para su uso en las composiciones nutricionales con los HMO incluyen DHA, ARA, EPA, DPA y una combinación de
60 los mismos.

Con el fin de reducir los efectos secundarios potenciales de las altas dosis de LCPUFA en las composiciones nutricionales, el contenido de LCPUFA preferiblemente no excede el 3 % en peso del contenido total de grasa, que incluye menos del 2 % en peso del contenido total de grasa, y que incluye menos del 1 % en peso del contenido total de grasa en la composición nutricional.

El LCPUFA se puede proporcionar como ácidos grasos libres, en forma de triglicéridos, en forma de diglicéridos, en forma de monoglicéridos, en forma de fosfolípidos, en forma esterificada o como una mezcla de uno o más de los anteriores, preferiblemente en forma de triglicéridos.

Las composiciones nutricionales como se describen en el presente documento normalmente comprenderán concentraciones totales de LCPUFA de aproximadamente 0,01 mM a aproximadamente 10 mM y que incluye de aproximadamente 0,01 mM a aproximadamente 1 mM. Alternativamente, las composiciones nutricionales comprenden concentraciones totales de LCPUFA de aproximadamente 0,001 g/l a aproximadamente 1 g/l.

En una realización, las composiciones nutricionales incluyen ácidos grasos de cadena larga ω -6 totales a una concentración de aproximadamente 100 a aproximadamente 425 mg/l o de aproximadamente 12 a aproximadamente 53 mg por 100 kcal y/o incluyen además ácidos grasos de cadena larga ω -3 totales a una concentración de aproximadamente 40 a aproximadamente 185 mg/l o de aproximadamente 5 a aproximadamente 23 mg por 100 kcal. En una realización, la relación de ácidos grasos de cadena larga ω -6 a ácidos grasos de cadena larga ω -3 en las composiciones nutricionales varía de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 3:1, preferiblemente a aproximadamente 2,5:1.

En una realización específica, las composiciones nutricionales incluyen DHA a una concentración de aproximadamente 0,025 mg/ml a aproximadamente 0,130 mg/ml o de aproximadamente 3 a aproximadamente 16 mg por 100 kcal. En otra realización, las composiciones nutricionales incluyen ARA a una concentración de aproximadamente 0,080 mg/ml a aproximadamente 0,250 mg/ml o de aproximadamente 10 a aproximadamente 31 mg por 100 kcal. En otra realización más, las composiciones nutricionales incluyen combinaciones de DHA y ARA de manera que la relación de DHA a ARA varía de aproximadamente 1:4 a aproximadamente 1:2.

Antioxidantes

Además, las composiciones nutricionales pueden comprender uno o más antioxidantes en combinación con los HMO (y opcionalmente también LCPUFA y/o nucleótidos) para proporcionar soporte nutricional, así como para reducir el estrés oxidativo. En algunas realizaciones, la composición nutricional incluye una combinación de HMO y antioxidantes de modo que la composición proporciona un beneficio sinérgico al usuario final, tal como un beneficio sinérgico en la modulación de respuestas inmunitarias antivirales y la moderación de la inflamación. En algunas realizaciones, el o los HMO se usa en combinación con carotenoides (y específicamente luteína, beta-caroteno, zeaxantina y/o licopeno) para proporcionar el efecto sinérgico.

Se puede incluir cualquier antioxidante adecuado para la administración oral para su uso en las composiciones nutricionales de la presente divulgación, que incluyen, por ejemplo, vitamina A, vitamina E, vitamina C, retinol, tocoferol y carotenoides, incluida la luteína, el betacaroteno, la zeaxantina y el licopeno, y una combinación de los mismos, por ejemplo.

Como se ha señalado, los antioxidantes para su uso en las composiciones nutricionales se pueden usar con los HMO solos o en combinación con HMO y LCPUFA y/o nucleótidos. En una realización específica, los antioxidantes para su uso en las composiciones nutricionales incluyen carotenoides, y particularmente, combinaciones de los carotenoides luteína, licopeno, zeaxantina y/o betacaroteno. Las composiciones nutricionales que contienen estas combinaciones, como se seleccionan y se definen en el presente documento, pueden usarse para modular la inflamación y/o los niveles de proteína C reactiva en bebés prematuros y recién nacidos.

En general, es preferible que las composiciones nutricionales comprendan al menos uno de luteína, licopeno, zeaxantina y betacaroteno para proporcionar una cantidad total de carotenoide de aproximadamente 0,001 μ g/ml a aproximadamente 10 μ g/ml. Más en particular, las composiciones nutricionales comprenden luteína en una cantidad de aproximadamente 0,001 μ g/ml a aproximadamente 10 μ g/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 μ g/ml a aproximadamente 10 μ g/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 μ g/ml a aproximadamente 1,5 μ g/ml, que incluye de aproximadamente 4 μ g/ml a aproximadamente 6 μ g/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 μ g/ml a aproximadamente 5 μ g/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 μ g/ml a aproximadamente 0,0190 μ g/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 μ g/ml a aproximadamente 0,0140 μ g/l, y también incluye de aproximadamente

0,044 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml de luteína. Generalmente también es preferible que las composiciones nutricionales comprendan de aproximadamente 0,001 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 µg/ml a aproximadamente 1,5 µg/ml, que incluye de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 µg/ml a aproximadamente 0,0130 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 µg/ml hasta aproximadamente 0,0075 µg/ml, y también desde aproximadamente 0,0185 µg/ml hasta aproximadamente 5 µg/ml de licopeno. En general, también es preferible que las composiciones nutricionales comprendan de aproximadamente 0,001 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,01 µg/ml a aproximadamente 1,5 µg/ml que incluye de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, que incluye de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, que incluye de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 µg/ml a aproximadamente 0,025 µg/ml, que incluye de aproximadamente 0,001 µg/ml a aproximadamente 0,011 µg/ml, y también incluye de aproximadamente 0,034 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml de betacaroteno. Debe entenderse que cualquier combinación de estas cantidades de betacaroteno, luteína, zeaxantina y licopeno puede incluirse en las composiciones nutricionales de la presente divulgación. Otros carotenoides pueden incluirse opcionalmente en las composiciones nutricionales como se describe en el presente documento. Cualquiera o todos los carotenoides incluidos en las composiciones nutricionales descritas en este documento pueden ser de una fuente natural, o pueden haber sido sintetizados artificialmente.

Cada uno de los carotenoides en las combinaciones seleccionadas puede obtenerse a partir de cualquier fuente de material conocida o adecuada para su uso en composiciones nutricionales, y cada uno puede proporcionarse individualmente, o todos juntos, o en cualquier combinación y de cualquier número de fuentes, incluidas fuentes tales como premezclas multivitamínicas que contienen otras vitaminas o minerales en combinación con uno o más de los carotenoides como se describe en este documento. Ejemplos no limitantes de algunas fuentes adecuadas de luteína, licopeno, betacaroteno o una combinación de los mismos incluyen lycopene LycoVit® (disponible en BASF, Mount Olive, NJ), extracto de tomate Lyc-O-Mato® en aceite, polvo o forma de cuentas (disponible en LycoRed Corp., Orange, NJ), betacaroteno, luteína o licopeno (disponible en DSM Nutritional Products, Parsippany, NJ), luteína FloraGLO® (disponible en Kemin Health, Des Moines, IA), ésteres de luteína natural Xangold® (disponible en Cognis, Cincinnati, OH), beta-caroteno Lucarotin® (disponible en BASF, Mount Olive, N.J.).

Nucleótidos

Además de los HMO, las composiciones nutricionales de la presente divulgación adicionalmente pueden comprender nucleótidos y/o precursores de nucleótidos seleccionados del grupo que consiste en nucleósidos, bases de purina, bases de pirimidina, ribosa y desoxirribosa. El nucleótido puede estar en forma de monofosfato, difosfato o trifosfato. El nucleótido puede ser un ribonucleótido o un desoxirribonucleótido. Los nucleótidos pueden ser monoméricos, diméricos o poliméricos (incluidos el ARN y el ADN). El nucleótido puede estar presente en la composición nutricional como un ácido libre o en forma de una sal, preferiblemente una sal monosódica. En algunas realizaciones, la composición nutricional incluye una combinación de HMO y nucleótidos de modo que la composición proporciona un beneficio sinérgico al usuario final, tal como un beneficio sinérgico en la modulación de las respuestas inmunitarias antivirales y la moderación de la inflamación y/o la mejora de la integridad de la barrera intestinal

La incorporación de nucleótidos en las composiciones nutricionales de la presente divulgación mejora la integridad y/o la maduración de la barrera intestinal, lo que es beneficioso para los bebés prematuros y recién nacidos que tienen una flora intestinal menos desarrollada y, por lo tanto, una barrera intestinal que madura más lentamente.

Los nucleótidos y/o nucleósidos adecuados para su uso en las composiciones nutricionales incluyen uno o más de citidina 5'-monofosfato, uridina 5'-monofosfato, adenosina 5'-monofosfato, guanosina 5'-1-monofosfato y/o inosina 5'-monofosfato, más preferiblemente citidina 5'-monofosfato, uridina 5'-monofosfato, adenosina 5'-monofosfato, guanosina 5'-monofosfato, e inosina 5'-monofosfato.

Los nucleótidos están presentes en los productos nutricionales en cantidades totales de nucleótidos de al menos aproximadamente 5 mg/l, que incluye al menos aproximadamente 10 mg/l, que incluye de aproximadamente 10 mg/l a aproximadamente 200 mg/l, que incluye de aproximadamente 42 mg/l a aproximadamente 102 mg/l, y que incluye al menos aproximadamente 72 mg/l del producto nutricional.

En una realización específica, cuando la composición nutricional es un polvo nutricional, el nucleótido puede estar presente a un nivel de al menos aproximadamente el 0,007 %, que incluye de aproximadamente el 0,0078 % a

aproximadamente el 0,1556 %, y que incluye aproximadamente el 0,056 % (en peso del polvo nutricional), o al menos aproximadamente 0,007 gramos, que incluye de aproximadamente 0,0078 gramos a aproximadamente 0,1556 gramos, y que incluye aproximadamente 0,056 gramos de nucleótido por 100 gramos de polvo nutricional.

- 5 En otra realización específica, cuando la composición nutricional es un líquido nutricional listo para el consumo, el nucleótido está presente a un nivel de al menos aproximadamente el 0,001 %, que incluye de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 0,0197 %, y que incluye aproximadamente el 0,0071 % (por peso del líquido nutricional), o al menos aproximadamente 0,001 gramos, que incluye de aproximadamente 0,001 gramos a aproximadamente 0,0197 gramos, y que incluye aproximadamente 0,0071 gramos de nucleótido por 100 gramos de líquido nutricional listo para el consumo.

- 15 En otra realización específica, cuando la composición nutricional es un líquido nutricional concentrado, el nucleótido está presente a un nivel de al menos aproximadamente el 0,0019 %, que incluye de aproximadamente el 0,0019 % a aproximadamente el 0,0382 %, y que incluye aproximadamente el 0,0138 % (en peso del líquido nutricional), o al menos aproximadamente 0,0019 gramos, que incluye de aproximadamente 0,0019 gramos a aproximadamente 0,0382 gramos, y que incluye aproximadamente 0,0138 gramos de nucleótido por 100 gramos de líquido nutricional concentrado.

Macronutrientes

- 20 Las composiciones nutricionales que incluyen el o los HMO pueden formularse para incluir al menos uno de proteínas, grasas y carbohidratos. En muchas realizaciones, las composiciones nutricionales incluirán el o los HMO con proteínas, carbohidratos y grasas.

- 25 Aunque las concentraciones o cantidades totales de grasa, proteínas y carbohidratos pueden variar según el tipo de producto (es decir, fortificante de leche humana, fórmula para bebés prematuros, fórmula infantil, etc.), forma del producto (es decir, sólido nutricional, polvo, líquido listo para el consumo, o líquido concentrado) y las necesidades dietéticas específicas del usuario previsto, dichas concentraciones o cantidades generalmente se encuentran dentro de uno de los siguientes intervalos incorporados, que incluye cualquier otro ingrediente de grasa, proteína y/o carbohidrato esencial como se describe en el presente documento.

- 35 Para las fórmulas líquidas para prematuros y recién nacidos, las concentraciones de carbohidratos generalmente oscilan entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 40 %, que incluye entre aproximadamente el 7 % y aproximadamente el 30 %, que incluye entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 25 %, en peso de la fórmula para bebés prematuros o recién nacidos; las concentraciones de grasa generalmente oscilan entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 30 %, que incluye entre aproximadamente el 2 % y aproximadamente el 15 %, y también entre aproximadamente el 3 % y aproximadamente el 10 %, en peso de la fórmula para bebés prematuros o recién nacidos; y las concentraciones de proteínas varían más habitualmente entre aproximadamente el 0,5 % y aproximadamente el 30 %, que incluye entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 15 %, y también entre aproximadamente el 2 % y aproximadamente el 10 %, en peso de la fórmula para bebés prematuros o recién nacidos.

- 45 Para los fortificantes de leche humana líquida, las concentraciones de carbohidratos generalmente oscilan entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 75 %, que incluye entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 50 %, que incluye entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 40 % en peso del fortificante de leche humana; las concentraciones de grasa generalmente oscilan entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 40 %, que incluye entre aproximadamente el 15 % y aproximadamente el 37 %, y también entre aproximadamente el 18 % y aproximadamente el 30 % en peso del fortificante de leche humana; y las concentraciones de proteínas oscilan entre el 5 % y el 40 % aproximadamente, que incluye entre el 10 % y el 30 % aproximadamente, y también entre el 15 % y el 25 % en peso del fortificante de leche humana.

- 55 La cantidad de carbohidratos, grasas y/o proteínas en cualquiera de las composiciones nutricionales líquidas descritas en este documento también se puede caracterizar, además o como alternativa, como porcentaje del total de calorías en la composición nutricional líquida como se establece en la tabla a continuación. Estos macronutrientes para composiciones nutricionales líquidas de la presente divulgación se formulan más habitualmente dentro de cualquiera de los intervalos calóricos (realizaciones A-F) descritos en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término "aproximadamente").

% de calorías totales de los nutrientes	Realización A	Realización B	Realización C
Carbohidrato	0-98	2-96	10-75
Proteína	0-98	2-96	5-70
Grasa	0-98	2-96	20-85
% de calorías totales de los nutrientes	Realización D	Realización E	Realización F
Carbohidrato	30-50	25-50	25-50
% de calorías totales de los nutrientes	Realización A	Realización B	Realización C
Proteína	15-35	10-30	5-30
Grasa	35-55	1-20	2-20

En un ejemplo específico, las fórmulas líquidas para bebés (tanto listas para el consumo como líquidos concentrados) incluyen aquellas realizaciones en las que el componente proteico puede comprender de aproximadamente el 7,5 % a aproximadamente el 25 % del contenido calórico de la fórmula; el componente de carbohidrato puede comprender de aproximadamente el 35 % a aproximadamente el 50 % del contenido calórico total de la fórmula infantil; y el componente graso puede comprender de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 60 % del contenido calórico total de la fórmula infantil. Estos intervalos se proporcionan solo a modo de ejemplo y no pretenden ser limitantes. Los intervalos adecuados adicionales se indican en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término "aproximadamente").

% de calorías totales de los nutrientes	Realización G	Realización H	Realización I
Carbohidratos:	20-85	30-60	35-55
Grasa:	5-70	20-60	25-50
Proteína:	2-75	5-50	7-40

Cuando el producto nutricional es un producto de fórmula para bebés prematuros o recién nacidos en polvo, el componente proteico está presente en una cantidad de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 35 %, que incluye de aproximadamente el 8 % a aproximadamente el 12 %, y que incluye de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 12 % en peso de la fórmula para para bebés prematuros o recién nacidos; el componente graso está presente en una cantidad de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 35 %, que incluye de aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 30 %, y que incluye de aproximadamente el 26 % a aproximadamente el 28 % en peso de la fórmula para bebés prematuros o recién nacidos; y el componente de carbohidrato está presente en una cantidad de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 85 %, que incluye de aproximadamente el 45 % a aproximadamente el 60 %, que incluye de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 55 % en peso de la fórmula para bebés prematuros o recién nacidos.

Para los fortificantes de leche humana en polvo, el componente proteico está presente en una cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 55 %, que incluye de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 50 % y que incluye de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 30 % en peso del fortificante de leche humana; el componente graso está presente en una cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 30 %, que incluye de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 25 %, y que incluye de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 20 % en peso del fortificante de leche humana; y el componente de carbohidrato está presente en una cantidad de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 75 %, que incluye de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 60 %, que incluye de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 50 % en peso del fortificante de leche humana.

La cantidad o concentración total de grasa, carbohidratos y proteínas en las composiciones nutricionales en polvo de la presente divulgación puede variar considerablemente dependiendo de la composición seleccionada y las necesidades dietéticas o médicas del usuario previsto. Los ejemplos adicionales adecuados de concentraciones de macronutrientes se exponen a continuación. En este contexto, la cantidad o concentración total se refiere a todas las fuentes de grasa, carbohidratos y proteínas en el producto en polvo. Para las composiciones nutricionales en polvo, dichas cantidades o concentraciones totales se formulan lo más habitualmente y de forma preferible dentro de cualquiera de los intervalos incorporados descritos en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término "aproximadamente").

% de calorías totales de los nutrientes	Realización J	Realización K	Realización L
Carbohidrato	1-85	30-60	35-55
Grasa	5-70	20-60	25-50
Proteína	2-75	5-50	7-40

Grasa

- Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender, además de los LCPUFA descritos anteriormente, una fuente o fuentes adicionales de grasa. Las fuentes adicionales de grasa adecuadas para su uso en el presente documento incluyen cualquier grasa o fuente de grasa que sea adecuada para su uso en un producto nutricional oral y que sea compatible con los elementos y características esenciales de dichos productos. Por ejemplo, en una realización específica, la grasa adicional se deriva de ácidos grasos de cadena corta.
- 10 Ejemplos no limitantes adicionales de grasas adecuadas o fuentes de las mismas para su uso en los productos nutricionales descritos en el presente documento incluyen aceite de coco, aceite de coco fraccionado, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de cártamo con alto contenido de ácido oleico, ácidos oleicos (EMERSOL 6313 OLEIC ACID, Cognis Oleochemicals, Malasia), aceite MCT (triglicéridos de cadena media), aceite de girasol, aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico, aceites de palma y palmera, oleína de palma,
- 15 aceite de canola, aceites marinos, aceites de pescado, aceites fúngicos, aceites de algas, aceites de algodón, y una combinación de los mismos.

Proteína

- 20 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación opcionalmente pueden comprender proteínas adicionales. Cualquier fuente de proteína que sea adecuada para su uso en composiciones nutricionales orales y que sea compatible con los elementos y características esenciales de dichos productos es adecuada para su uso en las composiciones nutricionales.
- 25 Los ejemplos no limitantes de proteínas adecuadas o fuentes de las mismas para su uso en los productos nutricionales incluyen proteínas hidrolizadas, parcialmente hidrolizadas o no hidrolizadas o fuentes de proteínas, que pueden derivarse de cualquier fuente conocida o adecuada, como la leche (por ejemplo, caseína, suero de leche), animal (por ejemplo, carne, pescado), cereal (por ejemplo, arroz, maíz), vegetal (por ejemplo, soja) o una combinación de los mismos. Ejemplos no limitantes de dichas proteínas incluyen aislados de proteínas de la leche,
- 30 concentrados de proteínas de la leche como se describe en el presente documento, aislados de proteínas de caseína, caseína extensivamente hidrolizada, proteína de suero de leche, caseinatos de sodio o calcio, leche de vaca entera, leche parcial o completamente desgrasada, aislados de proteína de soja, concentrados de proteínas de soja, etc. En una realización, las composiciones nutricionales incluyen una fuente de proteína derivada de proteínas de la leche de origen humano y/o bovino.

Carbohidrato

- Los productos nutricionales de la presente divulgación opcionalmente además pueden comprender cualquier carbohidrato que sea adecuado para su uso en un producto nutricional oral y que sea compatible con los elementos
- 40 y características esenciales de dichos productos.

- Los ejemplos no limitantes de carbohidratos adecuados o fuentes de los mismos para su uso en los productos nutricionales descritos en el presente documento pueden incluir maltodextrina, almidón o almidón de maíz hidrolizado o modificado, polímeros de glucosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, carbohidratos derivados
- 45 del arroz, carbohidratos derivados de guisantes, carbohidratos derivados de la patata, tapioca, sacarosa, glucosa, fructosa, lactosa, jarabe de maíz alto en fructosa, miel, alcoholes de azúcar (por ejemplo, maltitol, eritritol, sorbitol), edulcorantes artificiales (por ejemplo, sucralosa, acesulfamo de potasio, stevia) y una combinación de los mismos. Un carbohidrato particularmente deseable es una maltodextrina de bajo contenido en dextrosa (DE).

Otros ingredientes opcionales

- Las composiciones nutricionales de la presente divulgación además pueden comprender otros componentes opcionales que pueden modificar las características físicas, químicas, estéticas o de procesamiento de los productos o servir como componentes farmacéuticos o componentes nutricionales adicionales cuando se usan en la población
- 55 objetivo. Muchos de estos ingredientes opcionales son conocidos o, por lo demás, adecuados para su uso en alimentos médicos u otros productos nutricionales o formas de dosificación farmacéutica y también se pueden usar en las composiciones de este documento, siempre que dichos ingredientes opcionales sean seguros para la administración oral y sean compatibles con los ingredientes esenciales y los otros ingredientes en la forma del producto seleccionado.

60

Los ejemplos no limitantes de dichos ingredientes opcionales incluyen conservantes, agentes emulsionantes, tampones, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, povidona y otros prebióticos, probióticos, activos farmacéuticos, agentes antiinflamatorios, nutrientes adicionales como se describe en el presente documento, colorantes, sabores, agentes espesantes y estabilizantes, agentes emulsionantes, lubricantes, etc.

- 5 Las composiciones nutricionales además pueden comprender un agente edulcorante, que incluye preferiblemente al menos un alcohol de azúcar tal como maltitol, eritritol, sorbitol, xilitol, manitol, isomaltosa y lactitol, y también incluye preferiblemente al menos un edulcorante artificial o de alta potencia tal como acesulfama K, aspartamo, sucralosa, sacarina, stevia y tagatosa. Estos agentes edulcorantes, especialmente como combinación de un alcohol de azúcar
- 10 y un edulcorante artificial, son especialmente útiles en la formulación de formas de realización de bebidas líquidas de la presente divulgación que tienen un perfil de sabor deseable. Estas combinaciones de edulcorantes son especialmente efectivas para enmascarar sabores indeseables a veces asociados con la adición de proteínas vegetales a una bebida líquida. Las concentraciones opcionales de alcohol de azúcar en el producto nutricional pueden variar desde al menos el 0,01 %, que incluye de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 10 %, y
- 15 que también incluye de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 6 % en peso del producto nutricional. Las concentraciones opcionales de edulcorantes artificiales pueden variar de aproximadamente 0,01 %, que incluye de aproximadamente el 0,05 % a aproximadamente el 5 %, que también incluye de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 1,0 %, en peso del producto nutricional.
- 20 Se puede incluir un agente de fluidez o agente antiaglomerante en las composiciones nutricionales como se describe en el presente documento para retardar la aglutinación o el apelmazamiento del polvo a lo largo del tiempo y para hacer que una forma de realización de polvo fluya fácilmente desde su recipiente. Cualquier agente de fluidez o antiaglomerante conocido que se sepa o que sea adecuado para usar en forma de polvo o producto nutricional es adecuado para su uso en la presente memoria, cuyos ejemplos no limitantes incluyen fosfato tricálcico, silicatos y
- 25 una combinación de los mismos. La concentración del agente de fluidez o agente antiaglomerante en la composición nutricional varía dependiendo de la forma del producto, los otros ingredientes seleccionados, las propiedades de flujo deseadas, etc., pero lo más típico es que oscile entre aproximadamente el 0,1 % y aproximadamente el 4 %, que incluye de aproximadamente el 0,5 % a aproximadamente el 2 %, en peso de la composición nutricional.
- 30 También se puede incluir un estabilizante en las composiciones nutricionales. Cualquier estabilizante que sea conocido o adecuado para su uso en una composición nutricional también es adecuado para su uso en el presente documento, algunos de cuyos ejemplos no limitantes incluyen gomas como la goma xantana. El estabilizante puede representar de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 5,0 %, que incluye de aproximadamente el 0,5 % a aproximadamente el 3 %, que incluye de aproximadamente el 0,7 % a aproximadamente el 1,5 %, en peso de la
- 35 composición nutricional.

- Las composiciones nutricionales además pueden comprender cualquiera de una variedad de otras vitaminas o nutrientes relacionados, cuyos ejemplos no limitantes incluyen vitamina A, vitamina D, vitamina E, vitamina K, tiamina, riboflavina, piridoxina, vitamina B₁₂, carotenoides (por ejemplo, betacaroteno, zeaxantina, luteína, licopeno),
- 40 niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina, vitamina C, colina, inositol, sales y derivados de los mismos, y una combinación de los mismos.

- Las composiciones nutricionales además pueden comprender cualquiera de una variedad de otros minerales adicionales, cuyos ejemplos no limitantes incluyen calcio, fósforo, magnesio, hierro, zinc, manganeso, cobre, sodio,
- 45 potasio, molibdeno, cromo, cloruro y una combinación de los mismos.

Procedimientos de fabricación

- Las composiciones nutricionales de la presente divulgación se pueden preparar mediante cualquier técnica de
- 50 fabricación conocida o efectiva para preparar la forma sólida o líquida del producto seleccionado. Muchas de estas técnicas son conocidas para cualquier forma de producto dada, tales como líquidos o polvos nutricionales, y un experto en la técnica puede aplicarlas fácilmente a las composiciones nutricionales descritas en el presente documento.
- 55 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación por lo tanto se pueden preparar mediante cualquiera de una variedad de procedimientos de formulación o fabricación conocidos o, por lo demás, eficaces. En un proceso de fabricación adecuado, por ejemplo, se preparan al menos tres suspensiones separadas, incluida una suspensión de proteína en grasa (PIF), una suspensión de carbohidrato-mineral (CHO-MN) y una suspensión de proteína en agua (PIW). La suspensión de PIF se forma calentando y mezclando el aceite (por ejemplo, aceite de canola, aceite de
- 60 maíz, etc.) y a continuación añadiendo un emulsionante (por ejemplo, lecitina), vitaminas liposolubles y una porción

de la proteína total (por ejemplo, concentrado de proteína de la leche, etc.) con calor y agitación continuos. La suspensión de CHO-MIN se forma añadiendo con agitación en caliente al agua: minerales (por ejemplo, citrato de potasio, fosfato de dipotasio, citrato de sodio, etc.), minerales traza y ultra traza (premezcla de TM/UTM), agentes espesantes o de suspensión (por ejemplo, avicel, gelano, carragenano). La suspensión de CHO-MIN resultante se mantiene durante 10 minutos con calor y agitación continuos antes de añadir minerales adicionales (por ejemplo, cloruro de potasio, carbonato de magnesio, yoduro de potasio, etc.) y/o carbohidratos (por ejemplo, HMO, fructooligosacárido, sacarosa, jarabe de maíz, etc.). La suspensión de PIW se forma entonces mezclando con calor y agitando la proteína restante, si la hay.

- 10 Las suspensiones resultantes se mezclan luego con agitación en caliente y el pH se ajusta a 6,6-7,0, después de lo cual la composición se somete a un proceso a alta temperatura y corto tiempo (HTST) durante el cual la composición se trata con calor, se emulsiona y se homogeneiza, y a continuación se deja enfriar. Se añaden vitaminas solubles en agua y ácido ascórbico, el pH se ajusta al intervalo deseado si es necesario, se añaden sabores y se añade agua para alcanzar el nivel de sólido total deseado. La composición se envasa asépticamente para formar una emulsión
- 15 nutricional envasada asépticamente. Esta emulsión entonces puede diluirse, tratarse térmicamente y envasarse para formar un líquido listo para el consumo o concentrado, o puede tratarse térmicamente y posteriormente procesarse y envasarse como un polvo reconstituible, por ejemplo, secado por pulverización, secado por inmersión, aglomerado.

- 20 El sólido nutricional, tal como un polvo nutricional secado por pulverización o polvo nutricional mezclado en seco, puede prepararse por cualquier colección de técnicas conocidas o por lo demás eficaces, adecuadas para fabricar y formular un polvo nutricional.

- 25 Por ejemplo, cuando el polvo nutricional es un polvo nutricional secado por pulverización, la etapa de secado por pulverización también puede incluir cualquier técnica de secado por pulverización que sea conocida o adecuada para el uso en la producción de polvos nutricionales. Se conocen muchos procedimientos y técnicas diferentes de secado por pulverización para su uso en el campo de la nutrición, todos ellos que son adecuados para su uso en la fabricación de los polvos nutricionales de secado por pulverización de la presente invención.

- 30 Un procedimiento para preparar el polvo nutricional secado por pulverización comprende formar y homogeneizar una suspensión acuosa o líquido que comprende grasa predigerida, y opcionalmente proteínas, carbohidratos y otras fuentes de grasa, y a continuación secar la suspensión o líquido por pulverización para producir un polvo nutricional secado por pulverización. El procedimiento puede comprender, además, la etapa de secado por pulverización, mezclado en seco, o añadir de otro modo ingredientes nutricionales adicionales, incluyendo uno o más de los ingredientes descritos en el presente documento, al polvo nutricional secado por pulverización.

- 35 Otros procedimientos adecuados para preparar productos nutricionales se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. n.º 6.365.218 (Borschel, et al.), Patente de EE.UU. n.º 6.589.576 (Borschel, et al.), Patente de EE.UU. n.º 6.306.908 (Carlson, et al.), Solicitud de Patente de Estados Unidos 20030118703 A1 (Nguyen, et al.), cuyas descripciones se incorporan en el presente documento por referencia en la medida en que sean coherentes con la
- 40 presente invención.

Procedimientos de uso

- 45 Las composiciones nutricionales que se describen en el presente documento se pueden usar para tratar una o más de las enfermedades o afecciones que se analizan en el presente documento, o se pueden usar para proporcionar uno o más de los beneficios descritos en el presente documento a bebés prematuros, bebés, niños pequeños y niños. El bebé prematuro, bebés, niño pequeño o niño que utiliza las composiciones nutricionales descritas en el presente documento puede tener o estar afectado por la enfermedad o afección descrita, o puede ser susceptible o estar en riesgo de contraer la enfermedad o afección (es decir, en realidad puede no tener aún la enfermedad o
- 50 afección, pero tiene un riesgo elevado en comparación con la población general de padecerla debido a ciertas afecciones, antecedentes familiares, etc.). Independientemente de que el bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño o el niño tenga realmente la enfermedad o afección, o esté en riesgo o sea susceptible a la enfermedad o afección, el bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño o el niño se clasifican en este documento como "en necesidad de" asistencia para tratar y combatir la enfermedad o afección. Por ejemplo, el bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño o el niño en realidad pueden tener una inflamación respiratoria o correr el riesgo de contraer una inflamación
- 55 respiratoria (susceptible de padecer una inflamación respiratoria) debido a antecedentes familiares u otras afecciones médicas, por ejemplo. Independientemente de que el bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño o el niño realmente tenga la enfermedad o afección, o de que solo esté en riesgo o sea susceptible de contraer la enfermedad o afección, dentro del alcance de la presente divulgación está ayudar al bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño, o
- 60 niño con las composiciones nutricionales descritas en este documento.

Basado en lo anterior, debido a que algunas de las formas de realización del procedimiento de la presente divulgación están dirigidas a subconjuntos o subclases específicas de individuos identificados (es decir, el subconjunto o subclase de individuos "en necesidad de" asistencia para tratar una o más enfermedades o afecciones específicas indicadas en el presente documento), no todos los bebés prematuros, bebés, niños pequeños y niños se ubicarán dentro del subconjunto o subclase de bebés prematuros, bebés, niños pequeños y niños como se describe en el presente documento para ciertas enfermedades o afecciones.

Las composiciones nutricionales como se describen en el presente documento comprenden HMO, solos o en combinación con uno o más componentes adicionales, para proporcionar una fuente nutricional para reducir la inflamación, tal como inflamación respiratoria (por ejemplo, la inflamación inducida por el virus sincitial respiratorio), inflamación entérica e inflamación nasofaríngea. Las composiciones nutricionales de la presente divulgación que comprenden HMO también pueden proporcionar un desarrollo óptimo y un crecimiento y maduración equilibrados de los sistemas gastrointestinal e inmunitario del bebé, mejorando así la capacidad del bebé para resistir la infección microbiana y modular las respuestas inflamatorias a la infección (por ejemplo, aumento de la fagocitosis y mayor producción de especies oxidativas reactivas).

Las composiciones nutricionales también proporcionan crecimiento y maduración de las células epiteliales intestinales en un bebé. En una realización, la administración de las composiciones nutricionales de la presente divulgación que incluyen HMO y nucleótidos puede activar adicionalmente la actividad inmunitaria en o por las células epiteliales intestinales en un recién nacido.

Además, el uso de HMO en composiciones nutricionales puede reducir el crecimiento de virus respiratorios (por ejemplo, RSV, virus de parainfluenza humana tipo 2 y virus de influenza A) y, por lo tanto, reducir infecciones respiratorias superiores inducidas por virus. Como tal, al utilizar HMO, solo o en combinación con otros factores de mejora inmunológica, en un producto nutricional, como una fórmula infantil, ahora es posible proporcionar a los bebés una alternativa o suplemento a la leche materna que mimetiza más estrechamente sus beneficios.

Junto con un mejor crecimiento y maduración del sistema inmunitario del bebé como se ha descrito anteriormente, el uso de las composiciones nutricionales de la presente descripción también funciona como modulador inmunitario, reduciendo así la inflamación inducida por la infección en bebés, niños pequeños y niños tales como infección inducida por virus respiratorios, y en particular, inflamación inducida por RSV, y otras enfermedades inflamatorias mediadas por infección. Al mejorar el crecimiento y la maduración del sistema inmunitario y reducir la inflamación, pueden mejorarse los mecanismos de defensa de las vías respiratorias de un bebé, niño pequeño o niño, mejorando así la salud respiratoria general del bebé, niño pequeño o niño. Específicamente, en algunas realizaciones de la presente divulgación, las composiciones nutricionales que contienen HMO de la presente divulgación pueden ser utilizadas por un bebé, niño pequeño o niño para mejorar los mecanismos de defensa de las vías respiratorias. En otras realizaciones de la presente divulgación, las composiciones nutricionales que contienen HMO pueden ser utilizadas por un bebé, niño pequeño o niño para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias en general.

La adición de HMO puede aumentar aún más los niveles de glutatión en el cuerpo y la sangre de un bebé, y en realizaciones específicas, de un bebé prematuro.

Cuando se usa en combinación con LCPUFA y/o antioxidantes, y particularmente con carotenoides, los HMO pueden reducir el estrés oxidativo, que es una afección metabólica donde hay una mayor producción y acumulación de biomoléculas oxidadas como los peróxidos de lípidos y sus catabolitos, carbonilos de proteínas, y el ADN dañado oxidativamente. Los resultados del estrés oxidativo varían desde cambios no deseados en el metabolismo hasta inflamación y muerte de células y tejidos. En consecuencia, al reducir la incidencia de inflamación y oxidación no regulada en el niño, se reduce el daño al revestimiento del tejido y la muerte celular, lo que reduce aún más la incidencia de enfermedades inflamatorias, como la enterocolitis necrotizante (NEC).

Además de los beneficios discutidos anteriormente, se ha descubierto que los productos nutricionales que incluyen HMO pueden modular la producción de citoquinas derivadas de monocitos en el bebé, incluso en ausencia de un virus. Esta producción da como resultado una inmunidad mejorada para prevenir aún más la infección microbiana y reducir el crecimiento de virus. En una realización, las citoquinas derivadas de monocitos producidas por la administración de las composiciones nutricionales de la presente divulgación incluyen, por ejemplo, interleuquina-10, interleuquina-8, interleuquina-1 α , interleuquina-1 β , interleuquina-1ra y una combinación de los mismos.

Otro beneficio de la utilización de HMO en composiciones nutricionales es que se ha descubierto que los HMO modulan la producción de IP-10, que es una quimiocina que desempeña un papel importante en la respuesta

inflamatoria a la infección viral. Específicamente, existe una correlación positiva entre la gravedad de la infección clínica por RSV en niños y los niveles séricos de IP-10. En consecuencia, una disminución en la IP-10 señala una disminución en la gravedad de la infección por RSV. En una realización específica, la producción de IP-10 se reduce al nivel encontrado en los controles no infectados.

5

Junto con la reducción de IP-10, se ha encontrado que los HMO reducen la formación del complejo de plaquetas-neutrófilos (PNC), que está presente en la sangre humana y consiste en hasta un 25 % de neutrófilos no estimulados. Como los PNC están presentes en agregados, tienen una mayor capacidad para iniciar procesos inflamatorios y pueden aumentar la producción de especies oxidativas reactivas. En consecuencia, una disminución en la formación de PNC puede dar lugar a una reducción del estrés oxidativo y la inflamación en el bebé.

10

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran realizaciones y/o características específicas de las composiciones nutricionales de la presente divulgación. Los ejemplos se ofrecen únicamente con fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitaciones de la presente divulgación, ya que son posibles muchas de sus variaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la divulgación. Todas las cantidades ejemplificadas son porcentajes en peso basados en el peso total de la composición, a menos que se especifique lo contrario.

15

Las composiciones ejemplificadas son composiciones nutricionales estables durante su almacenamiento preparadas de acuerdo con los procedimientos de fabricación descritos en el presente documento, de manera que cada composición ejemplificada, a menos que se especifique lo contrario, incluye una realización procesada asépticamente y una realización empaquetada por retorta.

20

Ejemplos 1-5

25

Los Ejemplos 1 a 5 ilustran emulsiones nutricionales listas para el consumo de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingredientes se indican como kilogramo por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique lo contrario.

Ingrediente	Ej. 1	Ej. 2	Ej. 3	Ej. 4	Ej. 5
Agua	CS	CS	CS	CS	CS
Leche descremada condensada	86,64	86,64	86,64	86,64	86,64
Lactosa	54,80	54,80	54,80	54,80	54,80
Aceite de cártamo alto en oleico	14,10	14,10	14,10	14,10	14,10
Aceite de soja	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Aceite de coco	10,1	10,1	10,1	10,1	10,1
3'sialil-lactosa (3'SL)	0,0948	0,090	0,085	9,479	9,005
Galactooligosacáridos (GOS)	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63
Proteína de suero concentrada	6,40	6,40	6,40	6,40	6,40
Citrato de potasio	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g
Carbonato de calcio	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g
Lecitina de soja	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Estabilizante	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Aceite de ARA	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g
Premezcla de nucleótido/cloruro	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g
Cloruro de potasio	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g
Ácido ascórbico	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g
Premezcla de vitaminas y minerales	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g
Aceite de DHA	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g
Carragenano	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g
Cloruro de magnesio	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g
Sulfato ferroso	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g
Cloruro de colina	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g
Premezcla de vitamina A, D ₃ , E, K ₁	47,4 g	47,4 g	47,4 g	47,4 g	47,4 g
Ácido cítrico	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g
Premezcla mixta de carotenoides	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro de sodio	AN	AN	AN	AN	AN
L-carnitina	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g

Fosfato tricálcico	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g
Fosfato de potasio monobásico	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g
Riboflavina	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN

AN = según sea necesario

Ejemplos 6-10

- 5 Los Ejemplos 6-10 ilustran emulsiones nutricionales listas para el consumo de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingredientes se indican como kilogramo por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique lo contrario.

Ingrediente	Ej. 6	Ej. 7	Ej. 8	Ej. 9	Ej. 10
Agua	CS	CS	CS	CS	CS
Leche descremada condensada	86,64	86,64	86,64	86,64	86,64
Lactosa	54,80	54,80	54,80	54,80	54,80
Aceite de cártamo alto en oleico	14,10	14,10	14,10	14,10	14,10
Aceite de soja	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Aceite de coco	10,1	10,1	10,1	10,1	10,1
6'sialil-lactosa (6'SL)	0,0948	0,0901	0,0853	9,479	9,0047
Galactooligosacáridos (GOS)	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63
Proteína de suero concentrada	6,40	6,40	6,40	6,40	6,40
Citrato de potasio	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g
Carbonato de calcio	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g
Lecitina de soja	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Estabilizante	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Aceite de ARA	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g
Premezcla de nucleótido/cloruro	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g
Cloruro de potasio	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g
Ácido ascórbico	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g
Premezcla de vitaminas y minerales	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g
Aceite de DHA	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g
Carragenano	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g
Cloruro de magnesio	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g
Sulfato ferroso	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g
Cloruro de colina	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g
Premezcla de vitamina A, D ₃ , E, K ₁	47,40 g	47,40 g	47,40 g	47,40 g	47,40 g
Ácido cítrico	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g
Premezcla mixta de carotenoides	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro de sodio	AN	AN	AN	AN	AN
L-carnitina	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g
Fosfato tricálcico	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g
Fosfato de potasio monobásico	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g
Riboflavina	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN

AN = según sea necesario

10

Ejemplos 11-15

Los Ejemplos 11-15 ilustran emulsiones líquidas concentradas de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingredientes se indican como kilogramo por lote de

- 15 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique lo contrario.

Ingrediente	Ej. 11	Ej. 12	Ej. 13	Ej. 14	Ej. 15
Agua	CS	CS	CS	CS	CS
Leche descremada condensada	157,67	157,67	157,67	157,67	157,67
Lactosa	108,66	108,66	108,66	108,66	108,66
Aceite de cártamo alto en oleico	26,82	26,82	26,82	26,82	26,82

Aceite de soja	20,16	20,16	20,16	20,16	20,16
Aceite de coco	19,24	19,24	19,24	19,24	19,24
3'sialil-lactosa (3'SL)	0,1896	0,1802	0,1706	18,958	18,009
Galactooligosacáridos (GOS)	17,67	17,67	17,67	17,67	17,67
Proteína de suero concentrada	12,20	12,20	12,20	12,20	12,20
Citrato de potasio	1,277	1,277	1,277	1,277	1,277
Carbonato de calcio	996,1 g	996,1 g	996,1 g	996,1 g	996,1 g
Lecitina de soja	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g
Monoglicéridos	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g
Aceite de ARA	684,2 g	684,2 g	684,2 g	684,2 g	684,2 g
Premezcla de nucleótido/cloruro	568,9 g	568,9 g	568,9 g	568,9 g	568,9 g
Cloruro de potasio	429,7 g	429,7 g	429,7 g	429,7 g	429,7 g
Ácido ascórbico	293,8 g	293,8 g	293,8 g	293,8 g	293,8 g
Premezcla de vitaminas y minerales	276,9 g	276,9 g	276,9 g	276,9 g	276,9 g
Aceite de DHA	256,1 g	256,1 g	256,1 g	256,1 g	256,1 g
Carragenano	200,0 g	200,0 g	200,0 g	200,0 g	200,0 g
Cloruro de magnesio	173,3 g	173,3 g	173,3 g	173,3 g	173,3 g
Sulfato ferroso	112,7 g	112,7 g	112,7 g	112,7 g	112,7 g
Cloruro de colina	104,8 g	104,8 g	104,8 g	104,8 g	104,8 g
Premezcla de vitamina A, D ₃ , E, K ₁	86,90 g	86,90 g	86,90 g	86,90 g	86,90 g
Ácido cítrico	57,50 g	57,50 g	57,50 g	57,50 g	57,50 g
Premezcla mixta de carotenoides	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g
Cloruro de sodio	23,50 g	23,50 g	23,50 g	23,50 g	23,50 g
L-carnitina	6,40 g	6,40 g	6,40 g	6,40 g	6,40 g
Fosfato tricálcico	AN	AN	AN	AN	AN
Fosfato de potasio monobásico	AN	AN	AN	AN	AN
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN

AN = según sea necesario

Ejemplos 16-20

- 5 Los Ejemplos 16-20 ilustran emulsiones nutricionales listas para el consumo de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingredientes se indican como kilogramo por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique lo contrario.

Ingrediente	Ej. 16	Ej. 17	Ej. 18	Ej. 19	Ej. 20
Agua	CS	CS	CS	CS	CS
Leche descremada condensada	86,64	86,64	86,64	86,64	86,64
Lactosa	54,80	54,80	54,80	54,80	54,80
Aceite de cártamo alto en oleico	14,10	14,10	14,10	14,10	14,10
Aceite de soja	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Aceite de coco	10,1	10,1	10,1	10,1	10,1
Mezcla de HMO	0,0948	0,0901	0,0853	9,479	9,0047
6'sialil-lactosa (6'SL)	0,0316	0,0300	0,0284	3,159	3,002
2'fucosil-lactosa (2'FL)	0,0316	0,0300	0,0284	3,159	3,002
Lacto-N-neotetraosa (LNnT)	0,0316	0,0300	0,0284	3,159	3,002
Galactooligosacáridos (GOS)	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63
Proteína de suero concentrada	6,40	6,40	6,40	6,40	6,40
Citrato de potasio	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g	478,9 g
Carbonato de calcio	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g	448,28 g
Lecitina de soja	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Estabilizante	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g	355,74 g
Aceite de ARA	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g	368,01 g
Premezcla de nucleótido/cloruro	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g	293,26 g
Cloruro de potasio	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g	226,45 g
Ácido ascórbico	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g	445,94 g
Premezcla de vitaminas y minerales	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g	142,88 g

Aceite de DHA	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g	137,8 g
Carragenano	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g	180,0 g
Cloruro de magnesio	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g	55,0 g
Sulfato ferroso	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g	58,0 g
Cloruro de colina	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g	53,9 g
Premezcla de vitamina A, D ₃ , E, K ₁	47,40 g	47,40 g	47,40 g	47,40 g	47,40 g
Ácido cítrico	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g	29,77 g
Premezcla mixta de carotenoides	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro de sodio	AN	AN	AN	AN	AN
L-carnitina	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g	3,31 g
Fosfato tricálcico	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g	15,65 g
Fosfato de potasio monobásico	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g	13,67 g
Riboflavina	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g	2,42 g
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN

AN = según sea necesario

Ejemplos 21-25

- 5 Los Ejemplos 21-25 ilustran emulsiones líquidas concentradas de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingredientes se indican como kilogramo por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique lo contrario.

Ingrediente	Ej. 21	Ej. 22	Ej. 23	Ej. 24	Ej. 25
Agua	CS	CS	CS	CS	CS
Leche descremada condensada	157,67	157,67	157,67	157,67	157,67
Lactosa	108,66	108,66	108,66	108,66	108,66
Aceite de cártamo alto en oleico	26,82	26,82	26,82	26,82	26,82
Aceite de soja	20,16	20,16	20,16	20,16	20,16
Aceite de coco	19,24	19,24	19,24	19,24	19,24
Mezcla de HMO	18,957	18,009	17,061	19,905	20,853
6'sialil-lactosa (6'SL)	6,319	6,003	5,687	6,635	6,951
2'fucosil-lactosa (2'FL)	6,319	6,003	5,687	6,635	6,951
Lacto-N-neotetraosa (LNnT)	6,319	6,003	5,687	6,635	6,951
Galactooligosacáridos (GOS)	17,67	17,67	17,67	17,67	17,67
Proteína de suero concentrada	12,20	12,20	12,20	12,20	12,20
Citrato de potasio	1,277	1,277	1,277	1,277	1,277
Carbonato de calcio	996,1 g	996,1 g	996,1 g	996,1 g	996,1 g
Lecitina de soja	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g
Monoglicéridos	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g	685,0 g
Aceite de ARA	684,2 g	684,2 g	684,2 g	684,2 g	684,2 g
Premezcla de nucleótido/cloruro	568,9 g	568,9 g	568,9 g	568,9 g	568,9 g
Cloruro de potasio	429,7 g	429,7 g	429,7 g	429,7 g	429,7 g
Ácido ascórbico	293,8 g	293,8 g	293,8 g	293,8 g	293,8 g
Premezcla de vitaminas y minerales	276,9 g	276,9 g	276,9 g	276,9 g	276,9 g
Aceite de DHA	256,1 g	256,1 g	256,1 g	256,1 g	256,1 g
Carragenano	200,0 g	200,0 g	200,0 g	200,0 g	200,0 g
Cloruro de magnesio	173,3 g	173,3 g	173,3 g	173,3 g	173,3 g
Sulfato ferroso	112,7 g	112,7 g	112,7 g	112,7 g	112,7 g
Cloruro de colina	104,8 g	104,8 g	104,8 g	104,8 g	104,8 g
Premezcla de vitamina A, D ₃ , E, K ₁	86,90 g	86,90 g	86,90 g	86,90 g	86,90 g
Ácido cítrico	57,50 g	57,50 g	57,50 g	57,50 g	57,50 g
Premezcla mixta de carotenoides	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g
Cloruro de sodio	23,50 g	23,50 g	23,50 g	23,50 g	23,50 g
L-carnitina	6,40 g	6,40 g	6,40 g	6,40 g	6,40 g
Fosfato tricálcico	AN	AN	AN	AN	AN
Fosfato de potasio monobásico	AN	AN	AN	AN	AN
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN

AN = según sea necesario

Ejemplos 26-30

- 5 Los Ejemplos 26-30 ilustran los líquidos fortificantes de la leche humana de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingredientes se indican como kilogramo por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique lo contrario.

Ingrediente	Ej. 26	Ej. 27	Ej. 28	Ej. 29	Ej. 30
Agua	CS	CS	CS	CS	CS
Leche sin grasa	353	353	353	353	353
Sólidos de jarabe de maíz	85,3	85,3	85,3	85,3	85,3
Triglicéridos de cadena media	53,2	53,2	53,2	53,2	53,2
Proteína de suero concentrada	47,2	47,2	47,2	47,2	47,2
Mezcla de HMO	18,957	18,009	17,061	19,905	20,853
6'sialil-lactosa (6'SL)	6,319	6,003	5,687	6,635	6,951
2'fucosil-lactosa (2'FL)	6,319	6,003	5,687	6,635	6,951
Lacto-N-neotetraosa (LNnT)	6,319	6,003	5,687	6,635	6,951
Fosfato de calcio	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
Ácido ascórbico	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
Citrato de potasio	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1
Cloruro de magnesio	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Citrato de sodio	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Cloruro de sodio	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Lecitina de soja	609 g	609 g	609 g	609 g	609 g
M-inositol	500 g	500 g	500 g	500 g	500 g
Niacinamida	400 g	400 g	400 g	400 g	400 g
Aceite de ARA	313 g	313 g	313 g	313 g	313 g
Acetato de tocoferol	310 g	310 g	310 g	310 g	310 g
Sulfato de zinc	300 g	300 g	300 g	300 g	300 g
Pantotenato de calcio	182 g	182 g	182 g	182 g	182 g
Sulfato ferroso	133 g	133 g	133 g	133 g	133 g
Aceite de DHA	116 g	116 g	116 g	116 g	116 g
Palmitato de vitamina A	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g
Sulfato cúprico	51,0 g	51,0 g	51,0 g	51,0 g	51,0 g
Clorhidrato de tiamina	50,0 g	50,0 g	50,0 g	50,0 g	50,0 g
Riboflavina	47,0 g	47,0 g	47,0 g	47,0 g	47,0 g
Clorhidrato de piridoxina	27,0 g	27,0 g	27,0 g	27,0 g	27,0 g
Vitamina D ₃	20,0 g	20,0 g	20,0 g	20,0 g	20,0 g
Ácido fólico	3,5 g	3,5 g	3,5 g	3,5 g	3,5 g
Biotina	3,4 g	3,4 g	3,4 g	3,4 g	3,4 g
Sulfato de manganeso	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g
Filoquinona	1,2 g	1,2 g	1,2 g	1,2 g	1,2 g
Cianocobalamina	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Selenato de sodio	43,0 mg	43,0 mg	43,0 mg	43,0 mg	43,0 mg

10 Ejemplos 31-35

Los Ejemplos 31-35 ilustran polvos nutricionales secados por pulverización de la presente divulgación, cuyos ingredientes se enumeran en la tabla a continuación. Todas las cantidades de ingredientes se indican como kilogramo por lote de 1000 kilogramos de producto, a menos que se especifique lo contrario.

15

Ingrediente	Ej. 31	Ej. 32	Ej. 33	Ej. 34	Ej. 35
Leche descremada condensada	698,5	698,5	698,5	698,5	698,5
Lactosa	386,0	386,0	386,0	386,0	386,0
Aceite de cártamo alto en oleico	114,4	114,4	114,4	114,4	114,4
Aceite de soja	85,51	85,51	85,51	85,51	85,51
Aceite de coco	78,76	78,76	78,76	78,76	78,76

3'sialil-lactosa (3'SL)	0,3792	0,3604	0,3412	37,916	36,0188
Galactooligosacáridos (GOS)	69,50	69,50	69,50	69,50	69,50
Proteína de suero concentrada	51,08	51,08	51,08	51,08	51,08
Citrato de potasio	9,168	9,168	9,168	9,168	9,168
Carbonato de calcio	4,054	4,054	4,054	4,054	4,054
Lecitina de soja	1,120	1,120	1,120	1,120	1,120
Aceite de ARA	2,949	2,949	2,949	2,949	2,949
Premezcla de nucleótido/cloruro	2,347	2,347	2,347	2,347	2,347
Cloruro de potasio	1,295	1,295	1,295	1,295	1,295
Ácido ascórbico	1,275	1,275	1,275	1,275	1,275
Premezcla de vitaminas y minerales	1,116	1,116	1,116	1,116	1,116
Aceite de DHA	1,113	1,113	1,113	1,113	1,113
Cloruro de magnesio	1,038	1,038	1,038	1,038	1,038
Cloruro de sodio	579,4 g	579,4 g	579,4 g	579,4 g	579,4 g
Sulfato ferroso	453,6 g	453,6 g	453,6 g	453,6 g	453,6 g
Cloruro de colina	432,1 g	432,1 g	432,1 g	432,1 g	432,1 g
Premezcla de vitamina A, D ₃ , E, K ₁	377,2 g	377,2 g	377,2 g	377,2 g	377,2 g
Palmitato de ascorbilo	361,3 g	361,3 g	361,3 g	361,3 g	361,3 g
Premezcla mixta de carotenoides	350,1 g	350,1 g	350,1 g	350,1 g	350,1 g
Tocoferoles Mixtos	159,2 g	159,2 g	159,2 g	159,2 g	159,2 g
L-carnitina	26,30 g	26,30 g	26,30 g	26,30 g	26,30 g
Riboflavina	3,181 g	3,181 g	3,181 g	3,181 g	3,181 g
Fosfato tricálcico	0-5,23	0-5,23	0-5,23	0-5,23	0-5,23
Fosfato de potasio monobásico	0-5,23	0-5,23	0-5,23	0-5,23	0-5,23
Hidróxido de potasio	AN	AN	AN	AN	AN

AN = según sea necesario

Ejemplo 36

- 5 En este Ejemplo, se analiza el efecto de los oligosacáridos (HMO) purificados de la leche humana en la inhibición *in vitro* de la infectividad viral.

Las muestras se preparan mediante la incubación conjunta de una dosis de virus uniforme de aproximadamente 500 unidades/ml a aproximadamente 1000 unidades/ml de uno de tres virus respiratorios: (1) virus sincitial respiratorio (RSV); (2) virus de la parainfluenza humana (HPIV3); o (3) virus de la gripe H1N1 con uno de los siguientes HMO: (1) 3'-sialil-lactosa (3'SL); (2) 6'-sialil-lactosa (6'SL); (3) 3'-fucosil-lactosa (3'FL); (4) 2'-fucosil-lactosa (2'FL); (5) lacto-N-neotetraosa (LNnT); o (6) ácido siálico (SA). Los HMO se añaden a concentraciones de 1 mg/ml o 10 mg/ml. Las actividades antivirales de los diversas HMO en los virus respiratorios se evalúan y los resultados se muestran en la siguiente tabla:

15

HMO	CI ₅₀ (mg de HMO/ml)		
	HMO	RSV	HPIV3
3'SL	> 10	> 10	~5
6'SL	> 10	> 10	~10
3'FL	~5	~2	~5
2'FL	> 10	> 10	~10
LNnT	> 10	NP	> 10
SA	NP	~2	~5

NP = No probado

- 20 Los resultados muestran que 3'FL, a una concentración de 1 mg/ml (CI₅₀ ~ 2-5 mg/ml), tiene actividad antiviral para los tres virus respiratorios. Este resultado es inesperado ya que los informes anteriores publicados muestran que solo las oligoformas sialiladas proporcionan actividad antiviral. SA inhibe significativamente los virus HPIV3 y H1N1 a una concentración de 1 mg/ml. El virus de la gripe H1N1 también es inhibido por 3'SL a una concentración de 1 mg/ml.

Ejemplo 37

25

En este Ejemplo, se analiza la capacidad de varios HMO para bloquear la infectividad del virus de la gripe H1N1 *in vitro*.

La infectividad del virus se evalúa observando el efecto citopático (CPE) y cuantificando las unidades de formación del foco del virus. Para crear reservas de virus, el virus de la gripe H1N1 se compra a ATCC (VR 1469) y se expande en células epiteliales de riñón canino Madin-Darby (MDCK) (ATCC CCL-34). Los sobrenadantes libres de células se congelan en partes alícuotas para mantener reservas del virus. Durante el cultivo y expansión inicial del virus para crear reservas de virus, se observa el CPE de la célula.

Para cuantificar la infectividad del virus, se desarrolla un ensayo de unidad de formación de foco inmunocitoquímico (FFU) utilizando anticuerpos monoclonales de ratón adquiridos comercialmente contra la nucleoproteína del virus acoplada con un anticuerpo secundario biotinilado de IgG de ratón. Para visualizar los focos celulares infectados por el virus, el desarrollo del color se realiza utilizando estreptavidina HRP (ABC de Vector Laboratories, Inc.). Aunque el número total de focos de virus parece ser proporcional a la concentración de virus infectante, los focos son bastante grandes, dispersos, y existen numerosas células infectadas individualmente que no forman focos, especialmente a concentraciones de virus más altas. Como esto hace que la cuantificación de la infectividad del virus sea difícil y lenta, el ensayo FFU se refina aún más variando la concentración del virus y aplicando un medio de recubrimiento de goma de tragacanto para ayudar a reducir la propagación del virus en el movimiento browniano a través de la capa celular.

El uso de goma de tragacanto mejora el ensayo al reducir el número de células infectadas individualmente y al mismo tiempo permitir la formación de focos fácilmente observables. Si bien los focos varían en tamaño, algunos son bastante grandes, aún se cuantifican fácilmente y son directamente proporcionales a la concentración o título del virus mediante el uso de una técnica de cuadrícula durante la enumeración.

Una vez verificado, el ensayo se usa con varios HMO para la capacidad de bloquear la infectividad del virus H1N1. Específicamente, los HMO se añaden a la suspensión de virus inoculante, a concentraciones de 0,01 mg/ml, 0,1 mg/ml, 1,0 mg/ml y 10 mg/ml, se incuban a 37 °C durante una hora, y a continuación se añaden a monocapas de células MDCK. Se deja que esta mezcla se una a la capa celular durante treinta minutos a 37 °C. Luego se lava la capa celular y las células se incuban durante aproximadamente 18-24 horas antes de la fijación y el procesamiento para la tinción inmunocitoquímica. Los resultados se muestran en la Fig. 1.

Como se muestra en la Fig. 1, 3'FL, 3'SL y SA inhiben cada uno la infectividad del virus en más del 90 % cuando se usan a una concentración de 10 mg/ml. 2'FL y 6'SL inhiben la infectividad en aproximadamente un 60 % a 10 mg/ml.

Ejemplo 38

En este Ejemplo, las composiciones nutricionales que incluyen varias HMO se evalúan por sus efectos en la reducción del estrés oxidativo en lechones prematuros.

Los lechones prematuros se obtienen por cesárea (CS) al 92 % de la gestación. Los lechones reciben nutrición parenteral total (NPT) durante 48 horas. Después de 48 horas, se suspende la NPT y los lechones se asignan al azar en tres grupos: un grupo de fórmula (n = 7) que se alimenta con Enfamil® Lacto-Free, disponible en el mercado en Mead Johnson, Evansville, IN; un grupo de tratamiento (n = 9) que se alimenta con Enfamil® Lacto-Free con la adición de una combinación de 400 mg/l de 6'SL, 1500 mg/l de 2'FL y 200 mg/l de LNnT; y un grupo de calostro (n = 5) que se alimenta de calostro bovino. Los lechones reciben su respectiva alimentación enteralmente a una tasa de 120 ml de fórmula por kg de peso corporal durante las siguientes 48 horas. Los lechones se someten a eutanasia después de 48 horas de nutrición enteral (EN) o antes si un lechón desarrolla signos de enterocolitis necrotizante. La sangre se recoge a través de un catéter de la arteria umbilical, y el plasma se separa de la sangre y se almacena a -70 °C hasta que se analiza.

Las concentraciones de glutatión (GSH) se miden en el plasma tomado de los lechones justo antes de la hora de alimentación (tiempo 0) y a las 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas y 48 horas después de la alimentación utilizando un ensayo disponible en el mercado (NWLSS Glutathione Assay #NWK-GSH01, Northwest Life Science Specialties, Vancouver, WA). Los resultados se muestran en la Fig. 2.

Como se muestra en la Fig. 2, la concentración de GSH en el plasma sanguíneo del grupo de control disminuye de las 0 a las 6 horas después de la alimentación. La GSH permanece más baja en el grupo de control 24 horas después de la EN. En contraste, los lechones alimentados con la composición con una combinación de HMO tienen un patrón de niveles de GSH en plasma sanguíneo que son comparables a los lechones de calostro.

Ejemplo 39

En este Ejemplo, se demuestran las capacidades de 3'SL, 6'SL y LNNt para reducir la inflamación inducida por el virus *in vitro*.

Específicamente, se añaden 3'SL o 6'SL, a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, o 0,5 mg/ml a células mononucleares de sangre periférica fresca y se incuban a 37 °C en el 5 % de CO₂ para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. Se añade LNNt, a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, o 1 mg/ml a células mononucleares de sangre periférica fresca y se incubó a 37 °C en el 5 % de CO₂ para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. La lactosa se incluye como control de carbohidratos. Se incluyen controles de concentración de unidades de endotoxinas combinadas para permitir la diferenciación de los efectos de los ingredientes de los bajos niveles inherentes de endotoxinas. Algunas variables se incuban con RSV a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,1 durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % en CO₂. Las variables de control no infectadas se incuban con medio durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂. Después de aproximadamente una hora, se añade medio fresco solo o medio fresco que contiene la concentración apropiada de 3'SL, 6'SL, LNNt, lactosa o endotoxina a los tubos apropiados y las células se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. Los sobrenadantes se recogen a las 24 y 48 horas después de la infección.

Las citoquinas se miden en los sobrenadantes para cada variable a las 24 y 48 horas para evaluar los efectos de los HMO en la respuesta inmunitaria temprana al RSV. Las citoquinas se miden utilizando los kits de citoquinas Bio-Plex Human de Bio-Rad. Los resultados para la proteína inducible por interferón 10 (IP-10, también conocida como CXCL 10) se muestran en las Figuras 3 y 4 para 3'SL y 6'SL, y en las Figuras 5 y 6 para LNNt. La IP-10 es una quimiocina CXC que atrae, se une y activa el receptor CXCR3 en células asesinas naturales y linfocitos T de memoria. La IP-10 se expresa mediante monocitos y algunas otras células, y es inducida por el interferón. Existe una correlación positiva entre la gravedad de la enfermedad clínica por RSV en niños (medida por: la duración de la estancia hospitalaria, la fiebre y el número de días en que se requiere O₂ suplementario) y la IP-10 sérica. Por lo tanto, una disminución en la IP-10 señala una disminución en la gravedad de la enfermedad del RSV experimentada.

Los resultados de IP-10 para 3'SL y 6'SL se detallan en las Figuras 3 y 4 y muestran cierta variabilidad en la respuesta del donante, pero sorprendentemente, 6'SL regula IP-10 claramente a la baja en variables infectadas por virus en ambos donantes. Téngase en cuenta que 6'SL puede reducir la IP-10 a niveles que se encuentran en controles no infectados. 3'SL no es efectivo en el Donante B, pero regula a la baja la IP-10 inducida por RSV en el Donante E. Estos datos muestran que tanto el 3'SL como el 6'SL moderan la IP-10 inducida por el RSV, pero que 6'SL es más efectivo en la regulación a la baja de IP-10. Los resultados también sugieren que los niveles inferiores a 0,1 mg/ml de 6'SL, así como los niveles superiores a 0,5 mg/ml, pueden ser efectivos para reducir la IP-10 en algunos individuos.

Los resultados de IP-10 para LNNt se detallan en las Figuras 5 y 6 y muestran cierta variabilidad en la respuesta del donante, pero sorprendentemente, LNNt regula claramente a la baja IP-10 en variables infectadas por virus en ambos donantes. Téngase en cuenta que LNNt puede reducir IP-10 a niveles que se encuentran en controles no infectados. Los resultados también sugieren que los niveles entre 0,2 y 1 mg de LNNt/ml, así como superiores a 1 mg/ml, pueden ser efectivos para reducir la IP-10 en algunos individuos. La inclusión de controles de concentración de endotoxinas combinadas indica claramente que la disminución de IP-10 no se debe a la presencia de niveles muy bajos de endotoxinas en el LNNt.

En las Figuras 7 y 8, los resultados de citoquinas también muestran sorprendentemente que 6'SL aumenta la concentración de interleuquina 10 (IL-10) de una manera dependiente de la dosis en presencia o ausencia de RSV. Los resultados de IL-10 para LNNt se muestran en las Figuras 9 y 10. Sorprendentemente, LNNt aumenta la concentración de IL-10 de una manera dependiente de la dosis en presencia o ausencia de RSV. La IL-10 es producida por linfocitos T CD8+ activados, por linfocitos T CD4+ después de la activación policlonal y específica de antígeno, y por monocitos después de la activación celular por lipopolisacáridos bacterianos. La inclusión de controles de concentración de unidades de endotoxinas combinadas diferencia claramente que el aumento en IL-10 no se debe a la presencia de niveles muy bajos de endotoxinas en el 6'SL o el LNNt.

Sorprendentemente, se encuentra que el tratamiento previo durante 24 horas por 6'SL, 3'SL o LNNt es eficaz para reducir la inflamación causada por el RSV. Además, 6'SL y LNNt han demostrado ser más efectivos que 3'SL en la reducción de la inflamación inducida por el virus, medida por una disminución en la IP-10. Además, se muestra que 6'SL es inmunomodulador en ausencia del virus, ya que la inclusión de 6'SL induce y/o modifica la producción de citoquinas derivadas de monocitos como IL-10, MIP-1 β , interferón- γ , IL-8, IL-1 α , IL-1 β , e IL-1ra. Sorprendentemente,

3'SL también es inmunomodulador en presencia o ausencia del virus, ya que la inclusión de 3'SL induce y/o modifica la producción de citoquinas derivadas de monocitos tales como MIP-1 β , interferón- γ , IL-8, y IL-1ra. Sorprendentemente, LNnT también es inmunomodulador en presencia o ausencia del virus, ya que la inclusión de LNnT induce y/o modifica la producción de citoquinas derivadas de monocitos tales como IL-10, MIP-1 β , interferón- γ , IL-8, IL-1 α , IL-1 β , e IL-1ra.

Ejemplo 40

En este ejemplo, se demuestra la capacidad de la combinación de 2'FL y licopeno para reducir la replicación viral *in vitro*.

Específicamente, el Día -1, se siembran monocapas de Calu3 en cantidades suficientes para alcanzar una confluencia del 95-100 % en las placas de 24 pocillos el Día 0. El día 0, se añade 2'FL solo a una concentración de 0,1 μ g/ml, 1 μ g/ml, o 10 μ g/ml o en combinación con licopeno a una concentración de 0,5 μ g/ml, 1 μ g/ml, o 5 μ g/ml o tetrahidrofurano (THF) a una concentración de 0,5 μ g/ml, 1 μ g/ml, o se añaden 5 g/ml y se incuba durante aproximadamente 24 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El THF es un solvente usado para solubilizar el licopeno, y como tal, se incluye un control para diferenciar los efectos del solvente. El día 1, los sobrenadantes celulares se eliminaron y las monocapas se incubaron con medio solo o medio más Virus sincitial respiratorio (RSV) durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂ a una multiplicidad de infección (MOI) de 1. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene las concentraciones apropiadas de 2'FL y licopeno o 2'FL y THF a los pocillos apropiados, y las células se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El día 3, los sobrenadantes y los lisados celulares se recogieron por separado, se dividieron en partes alícuotas y se almacenaron congelados a -70 °C para su posterior análisis. Los lisados celulares se analizan mediante TaqMan qRT-PCR para evaluar la replicación viral mediante la medición de los números de copia de RSV NS1.

Como se muestra en la Fig. 11, la combinación de 2'FL y licopeno en ciertas combinaciones (1 μ g y 10 μ g de 2'FL en combinación con 0,5 μ g de licopeno; y 0,1 μ g y 1 μ g de 2'FL en combinación con 1 μ g de licopeno) muestra un efecto sinérgico que resulta en una inhibición dramática de la carga viral medida por copias de RSV NS1. Además, como puede verse en la Fig. 11, 2'FL solo muestra una modesta disminución dependiente de la concentración en RSV NS1. Sorprendentemente, la combinación de 2'FL y licopeno a concentraciones seleccionadas puede inhibir sustancialmente la replicación de RSV *in vitro*.

Ejemplo 41

En este ejemplo, se demuestra la capacidad de la combinación de 2'FL y licopeno para reducir IP-10, un marcador de inflamación viral, *in vitro*.

Específicamente, se añadió 2'FL a una concentración de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, o 1 mg/ml en combinación con licopeno a una concentración de 0,5 μ g/ml, 1,0 μ g/ml, o 5,0 μ g/ml o tetrahidrofurano (THF) a una concentración de 0,5 g/ml, 1,0 mg/ml, o 5,0 mg/ml a células frescas humanas mononucleares de sangre periférica (PBMCs) y se incubó a 37 °C en el 5 % de CO₂ para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. El THF es un solvente usado para solubilizar el licopeno, y como tal, se incluye un control para diferenciar los efectos del solvente. Después de aproximadamente 24 horas, algunas variables se incuban con RSV a una multiplicidad de infección (MOI) de 1 durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % en CO₂. La variable de control no infectada se incubó con medio durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene las concentraciones apropiadas de 2'FL y licopeno o 2'FL y THF para las variables apropiadas, y las PBMC se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. Los sobrenadantes se recogen a las 48 horas después de la infección. Las citoquinas se miden en los sobrenadantes para cada variable a las 48 horas utilizando los kits de citoquinas humanas Luminex para evaluar los efectos de los HMO en la respuesta inmunitaria temprana al RSV.

La proteína 10 inducible por interferón (IP-10, también conocida como CXCL10) es una quimiocina CXC que atrae, se une y activa el receptor CXCR3 en células asesinas naturales y linfocitos T de memoria. La IP-10 se expresa mediante monocitos y algunas otras células, y es inducida por el interferón. Existe una correlación positiva entre la gravedad de la enfermedad clínica por RSV en niños (medida por: duración de la estancia hospitalaria, fiebre y número de días en que se requirió O₂ suplementario) y la IP-10 sérica. Por lo tanto, una disminución en la IP-10 puede indicar una disminución en la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada.

Sorprendentemente, como se muestra en la Fig. 12, la combinación de 2'FL y licopeno da como resultado una disminución gradual dependiente de la concentración de IP-10. Aunque los efectos son evidentes con 2'FL a las

concentraciones más bajas de licopeno, la mayor disminución en la IP-10 se observa para 2'FL a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml o 1 mg/ml en combinación con la concentración de licopeno de 5,0 µg/ml evaluada. Como tal, se puede concluir que la combinación de 2'FL y licopeno puede disminuir la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada, especialmente a una concentración de licopeno de 5,0 µg/ml.

5

Ejemplo 42

En este ejemplo, se demuestran las capacidades de 2'FL, LNnT y 3'SL para reducir o inhibir la replicación del virus sincitial respiratorio en células epiteliales de pulmón *in vitro*.

10

Específicamente, el Día -1, se siembran monocapas de células 16HBE en números suficientes para alcanzar una confluencia del 95-100 % en placas de 24 pocillos el Día 0. El día 0, se añade 2'FL (a concentraciones de 1 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml y 1000 µg/ml, LNnT (a concentraciones de 10 µg/ml, 100 µg/ml o 1000 µg/ml) o 3'SL (a concentraciones de 5 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml y 1000 µg/ml) y se incuban durante aproximadamente 24 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El día 1, los sobrenadantes celulares se eliminaron y las monocapas se incubaron con medio solo o medio más Virus sincitial respiratorio (RSV) durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂ a una multiplicidad de infección (MOI) de 1. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene las concentraciones apropiadas de 2'FL 3'SL, o LNnT a los pocillos apropiados, y las células se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El día 3, los sobrenadantes y los lisados celulares se recogieron por separado, se dividieron en partes alícuotas y se almacenaron congelados a -70 °C para su posterior análisis. Los lisados celulares se analizan mediante TaqMan qRT-PCR para evaluar la replicación viral mediante la medición de los números de copia de RSV NS1.

Los resultados de 2'FL se muestran en la Fig. 13. Sorprendentemente, las concentraciones en o por encima de 5 µg de 2'FL/ml disminuyen la carga viral o inhiben la replicación del RSV en células epiteliales de pulmón 16HBE, como se refleja en la fuerte reducción en las copias de RSV NS1. Los resultados para LNnT se muestran en la Fig. 14. Sorprendentemente, las concentraciones en o por encima de 10 µg de LNnT/ml disminuyen la carga viral o inhiben la replicación del RSV en células epiteliales de pulmón 16HBE, como se refleja en la fuerte reducción en las copias de RSV NS1. Los resultados de 3'SL se muestran en la Fig. 15. Sorprendentemente, solo concentraciones de 3'SL entre 5 y 50 µg de 3'SL/ml disminuyen la carga viral o inhiben la replicación del RSV. La reducción de la carga viral o inhibición de la replicación del virus, como por 2'FL, LNnT o 3'SL como se muestra en las Figuras 13-15, puede traducirse en una disminución en la gravedad y los síntomas de la enfermedad. Como tal, se puede concluir que 2'FL, LNnT y 3'SL ayudan a la salud respiratoria al mejorar los mecanismos de defensa de las vías respiratorias contra el virus sincitial respiratorio.

35

Ejemplo 43

En este ejemplo, se demuestran las capacidades de LNnT y 6'SL para reducir o inhibir la replicación del virus de la gripe A H1N1 en células epiteliales de pulmón *in vitro*.

40

Específicamente, el Día -1, monocapas de células epiteliales 16HBE o Calu3 se siembran en cantidades suficientes para alcanzar un 95-100 % de confluencia en placas de 24 pocillos el Día 0. El día 0, se añade cualquiera de LNnT (a concentraciones de 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1,0 µg/ml, 5,0 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml y 2000 µg/ml), o 6'SL (10 g/ml, 100 mg/ml, y 1000 g/ml) y se incubó durante aproximadamente 24 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El día 1, los sobrenadantes celulares se eliminaron y las monocapas se incubaron con medio solo o medio más el virus de la gripe A H1N1 (IAV) durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂ a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,01. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene las concentraciones apropiadas de LNnT o 6'SL a los pocillos apropiados, y las células se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El día 3, los sobrenadantes y los lisados celulares se recogieron por separado, se dividieron en partes alícuotas y se almacenaron congelados a -70 °C para su posterior análisis. Los lisados celulares se analizan mediante TaqMan qRT-PCR para evaluar la replicación viral mediante la medición de los números de copias del gen M de IAV.

Los resultados para LNnT se muestran en la Fig. 16. Sorprendentemente, las concentraciones en o por encima de 1 µg de LNnT/ml disminuyen la carga viral o inhiben la replicación de IAV en células epiteliales de pulmón 16HBE, como refleja la fuerte reducción en las copias del gen M de IAV. Los resultados para 6'SL se muestran en la Fig. 17. Sorprendentemente, las concentraciones en o por encima de 10 µg de 6'SL/ml disminuyen la carga viral o inhiben la replicación de IAV en células epiteliales de pulmón Calu3, como refleja la fuerte reducción en las copias del gen M de IAV. La reducción de la carga viral o la inhibición de la replicación del virus puede traducirse en una disminución de la gravedad y los síntomas de la enfermedad. Como tal, se puede concluir que LNnT y 6'SL pueden ayudar a la

60

salud respiratoria al mejorar los mecanismos de defensa de las vías respiratorias contra la influenza.

Ejemplo 44

5 En este ejemplo, se demuestra la capacidad de 6'SL para reducir la citoquina inflamatoria IP-10 *in vitro*.

Específicamente, se añadió 6'SL individualmente a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,5 mg/ml o 1,0 mg/ml a células mononucleares frescas de sangre periférica (PCMB) y se incubaron a 37 °C en el 5 % de CO₂ para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. Después de aproximadamente 24 horas, algunas variables se incuban con RSV a una multiplicidad de infección (MOI) de 1,0 durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % en CO₂. Las variables de control no infectadas se incuban con medio durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene las concentraciones apropiadas de 6'SL a las variables apropiadas, y las PBMC se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. Los sobrenadantes se recogen a las 48 horas después de la infección. Las citoquinas se miden en los sobrenadantes para cada variable a las 48 horas para evaluar los efectos de los HMO en la respuesta inmunitaria temprana al RSV.

La proteína 10 inducible por interferón (IP-10, también conocida como CXCL10) es una quimiocina CXC que atrae, se une y activa el receptor CXCR3 en células asesinas naturales y linfocitos T de memoria. La IP-10 se expresa mediante monocitos y algunas otras células, y es inducida por el interferón. Existe una correlación positiva entre la gravedad de la enfermedad clínica por RSV en niños (medida por: duración de la estancia hospitalaria, fiebre y número de días en que se requirió O₂ suplementario) y la IP-10 sérica. Por lo tanto, una disminución en la IP-10 puede indicar una disminución en la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada.

25 Sorprendentemente, como se muestra en la Fig. 18, 6'SL (a concentraciones de 0,1 mg/ml a 1 mg/ml) demuestra una regulación a la baja dependiente de la dosis de IP-10 en PBMC infectadas por RSV de 4 donantes. A medida que aumenta la concentración de 6'SL, hay una disminución de la IP-10 en las PBMC infectadas con RSV. Como tal, se puede concluir que la administración de 6'SL puede disminuir la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada.

30

Ejemplo 45

En este ejemplo, 6'SL (solo o en combinación con 3'SL) y LNnT demuestran un aumento dependiente de la dosis en la citoquina antiinflamatoria IL-10 en presencia o ausencia de RSV en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) *in vitro*.

Específicamente, 3'SL y 6'SL se añaden individualmente a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, o 0,5 mg/ml o en combinación (Combo 1 = 1 parte de 3'SL a 1 parte de 6'SL; y Combo 2 = 1 parte de 3'SL a 2 partes de 6'SL), a concentraciones totales de 0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, o 1,0 mg/ml para PBMC frescas e incubadas a 37 °C en el 5 % de CO₂ para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. En un experimento separado, se añaden LNnT y 2'FL individualmente a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 1,0 mg/ml o 2,0 mg/ml a PBMC frescas y se incuban a 37 °C en el 5 % de CO₂ para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. Se incluye lactosa como control de carbohidratos. Se incluyen controles de concentración de endotoxinas combinadas para permitir la diferenciación de los efectos de los ingredientes de los niveles bajos inherentes de endotoxinas. Después de aproximadamente 24 horas, algunas variables se incuban con RSV a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,1 durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % en CO₂. Las variables de control no infectadas se incuban con medio durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene las concentraciones apropiadas de LNnT solo, 2'FL solo, 3'SL o 6'SL individualmente o en combinación, lactosa sola o endotoxina sola a las variables apropiadas, y las PBMC se incubaron durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. Los sobrenadantes se recogen a las 24 y 48 horas después de la infección. Las citoquinas se miden en los sobrenadantes para cada variable a las 24 y 48 horas para evaluar los efectos de los HMO en la respuesta inmunitaria temprana al RSV. Las citoquinas se miden utilizando los kits de citoquinas Bio-Plex Human de Bio-Rad.

55 La influencia de 3'SL y/o 6'SL en la producción de interleuquina 10 (IL-10) para PBMC del Donante B y el Donante E se muestra en la Fig. 19A y la Fig. 19B. Sorprendentemente, las concentraciones crecientes de 6'SL solo o en combinación con 3'SL demuestran un claro aumento dependiente de la dosis en la respuesta de IL-10 en presencia o ausencia de RSV. 3'SL solo, el control de lactosa y el control de endotoxinas no aumentan la IL-10.

60 La influencia de LNnT o 2'FL en la producción de IL-10 para PBMC del Donante A y el Donante E se muestra en las

Figuras 20A y 20B. Sorprendentemente, las concentraciones crecientes de LNnT muestran un claro aumento dependiente de la dosis en la respuesta de IL-10 en presencia o ausencia de RSV. 2'FL solo, el control de lactosa y el control de endotoxinas no aumentan la IL-10. La IL-10 es una citoquina antiinflamatoria que tiene efectos pleiotrópicos en la inmunorregulación y la inflamación. Suprime la expresión de las moléculas del MHC de clase II y las citoquinas proinflamatorias TNF-alfa, IL-6 e IL-1, además de mejorar la supervivencia de las células B, la proliferación y la producción de anticuerpos. El aumento de los niveles de IL-10 debería disminuir la inflamación y ayudar a un sistema inmunitario adaptativo saludable.

Ejemplo 46

En este Ejemplo, se demuestra la capacidad de la combinación de 2'FL y 6'SL para reducir la IP-10, un marcador de inflamación viral *in vitro*.

Específicamente, el Día 0, se aíslan células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) a partir de sangre completa. Se añade 2'FL (a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,5 mg/ml o 1 mg/ml) solo o en combinación con 6'SL (a concentraciones de 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml o 1 mg/ml) a las PBMC y se incuban durante aproximadamente 24 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El día 1, los sobrenadantes celulares se eliminaron y las PBMC se incubaron con medio solo o medio más el Virus sincitial respiratorio (RSV) durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂ a una multiplicidad de infección (MOI) de 1. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene la concentración apropiada de 2'FL y 6'SL a los tubos apropiados, y las células se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. El día 3, se recogieron los sobrenadantes (48 horas después de la infección). Las citoquinas se miden en los sobrenadantes para cada variable a las 48 horas utilizando los kits de citoquinas humanas Luminex para evaluar los efectos de los HMO en la respuesta inmunitaria temprana al RSV.

Sorprendentemente, como se muestra en la Fig. 21, la combinación de 2'FL y 6'SL reduce sinérgicamente la producción de IP-10 en un 54 %. La proteína 10 inducible por interferón (IP-10, también conocida como CXCL10) es una quimiocina CXC que atrae, se une y activa el receptor CXCR3 en células asesinas naturales y linfocitos T de memoria. La IP-10 se expresa mediante monocitos y algunas otras células, y es inducida por el interferón. Existe una correlación positiva entre la gravedad de la enfermedad clínica por RSV en niños (medida por: duración de la estancia hospitalaria, fiebre y número de días en que se requirió O₂ suplementario) y la IP-10 sérica. Por lo tanto, una disminución en la IP-10 puede indicar una disminución en la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada. Como tal, se puede concluir a partir de los resultados que al administrar la combinación de 2'FL y 6'SL, puede reducirse la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada.

Ejemplo 47

En este Ejemplo, se demuestra la capacidad de la combinación de 2'FL, 3'SL y licopeno para reducir IP-10, un marcador de inflamación viral, *in vitro*.

Específicamente, se añaden 2'FL (a una concentración de 0,1 mg/ml), 3'SL (a una concentración de 0,1 mg/ml) y licopeno (a concentraciones de 0,5 µg/ml, 1,0 µg/ml o 5 µg/ml) o tetrahidrofurano (THF) (a concentraciones de 0,5 µg/ml, 1,0 µg/ml o 5 µg/ml) solos o en combinaciones (como se muestra en la Fig. 22) a células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) frescas y se incuban a 37 °C en el 5 % de CO₂ para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. El THF es un solvente usado para solubilizar el licopeno, y como tal, se incluye un control de concentración de THF para diferenciar los efectos del solvente. Después de aproximadamente 24 horas, algunas variables se incuban con RSV a una multiplicidad de infección (MOI) de 1 durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % en CO₂. La variable de control no infectada se incubaba con medio durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en el 5 % de CO₂. Después de aproximadamente 1 hora, se añade medio fresco solo o que contiene las concentraciones adecuadas de 2'FL, 3'SL y licopeno; 2'FL; 3'SL; 2'FL y 3'SL; licopeno; o THF a las variables apropiadas, y las PBMC se incuban durante 48 horas a 37 °C en el 5 % de CO₂. Los sobrenadantes se recogen a las 48 horas después de la infección. Las citoquinas se miden en los sobrenadantes para cada variable a las 48 horas utilizando los kits de citoquinas humanas Luminex para evaluar los efectos de los HMO en la respuesta inmunitaria temprana al RSV.

La proteína 10 inducible por interferón (IP-10, también conocida como CXCL10) es una quimiocina CXC que atrae, se une y activa el receptor CXCR3 en células asesinas naturales y linfocitos T de memoria. La IP-10 se expresa mediante monocitos y algunas otras células, y es inducida por el interferón. Existe una correlación positiva entre la gravedad de la enfermedad clínica por RSV en niños (medida por: duración de la estancia hospitalaria, fiebre y número de días en que se requirió O₂ suplementario) y la IP-10 sérica. Por lo tanto, una disminución en la IP-10

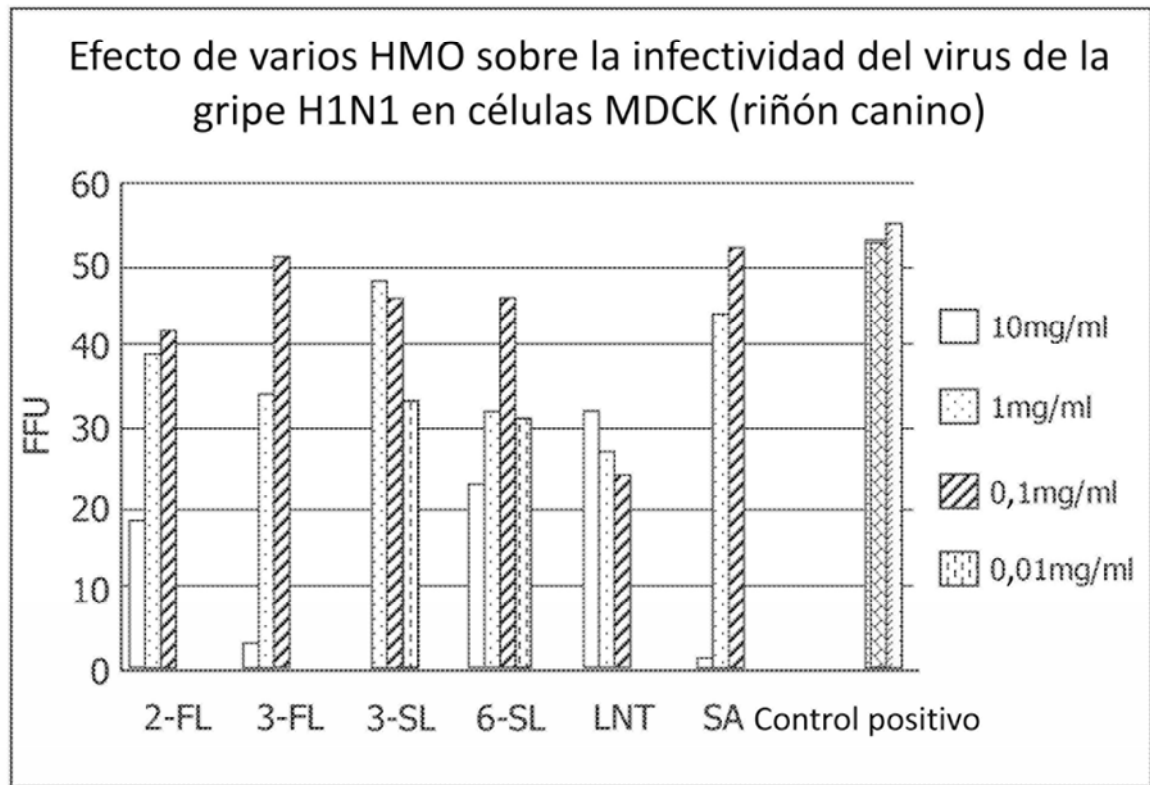
puede indicar una disminución en la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada.

Sorprendentemente, la combinación de 2'FL, 3'SL y licopeno da como resultado una regulación a la baja de IP-10 que se incrementa al aumentar la dosis de licopeno (Ver Fig. 22). La disminución sinérgica (disminución del 86 %) en la IP-10 para 2'FL, 3'SL y licopeno se observa con la concentración más alta de licopeno (5,0 µg/ml) analizada. Como tal, se puede concluir que la combinación de 2'FL, 3'SL y licopeno puede tener un efecto sinérgico en la disminución de la gravedad de la enfermedad de RSV experimentada.

REIVINDICACIONES

1. Una composición nutricional que comprende el oligosacárido 2'-fucosil-lactosa de la leche humana a una concentración de 0,001 mg/ml a 0,23 mg/ml y un carotenoide para reducir el crecimiento de un virus respiratorio para mejorar la salud respiratoria de las vías respiratorias en un bebé, un niño pequeño o un niño.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el carotenoide es licopeno.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el carotenoide está presente a una concentración de 0,1 pg/ml a 10 pg/ml.
4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, donde el carotenoide está presente a una concentración de 0,1 pg/ml a 1,5 pg/ml.
5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde la composición comprende además 6'-sialil-lactosa.
6. La composición de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, donde la composición comprende además 3'-sialil-lactosa.
7. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde la composición comprende además 3'-sialil-lactosa y donde el carotenoide es licopeno.
8. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, donde el licopeno está presente a una concentración de 4 pg/ml a 6 pg/ml.
9. Una composición nutricional que comprende el oligosacárido de la leche humana 2'-fucosil-lactosa a una concentración de 0,001 mg/ml a 0,23 mg/ml y un carotenoide para reducir el crecimiento de un virus respiratorio para mejorar los mecanismos de defensa de las vías respiratorias en un bebé, un niño pequeño o un niño.
10. La composición según la reivindicación 9, para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, donde el carotenoide es licopeno.
11. La composición de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, donde el carotenoide está presente a una concentración de 0,1 pg/ml a 10 pg/ml.
12. La composición de acuerdo con la reivindicación 11, para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, donde el carotenoide está presente a una concentración de 0,1 pg/ml a 1,5 pg/ml.

FIG. 1



Control del virus infeccioso = ~52-55 FFU

FIG. 2

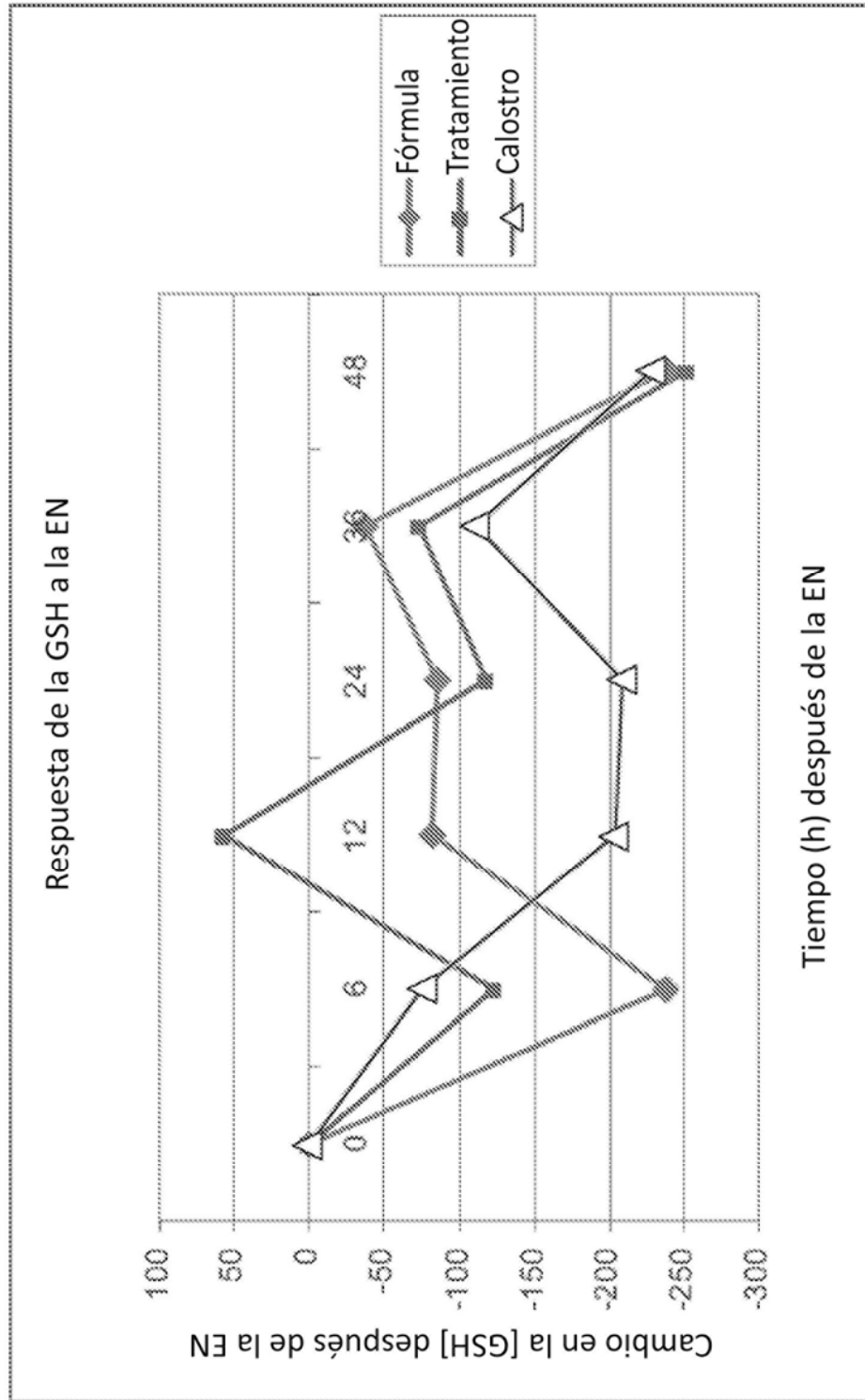


FIG. 3

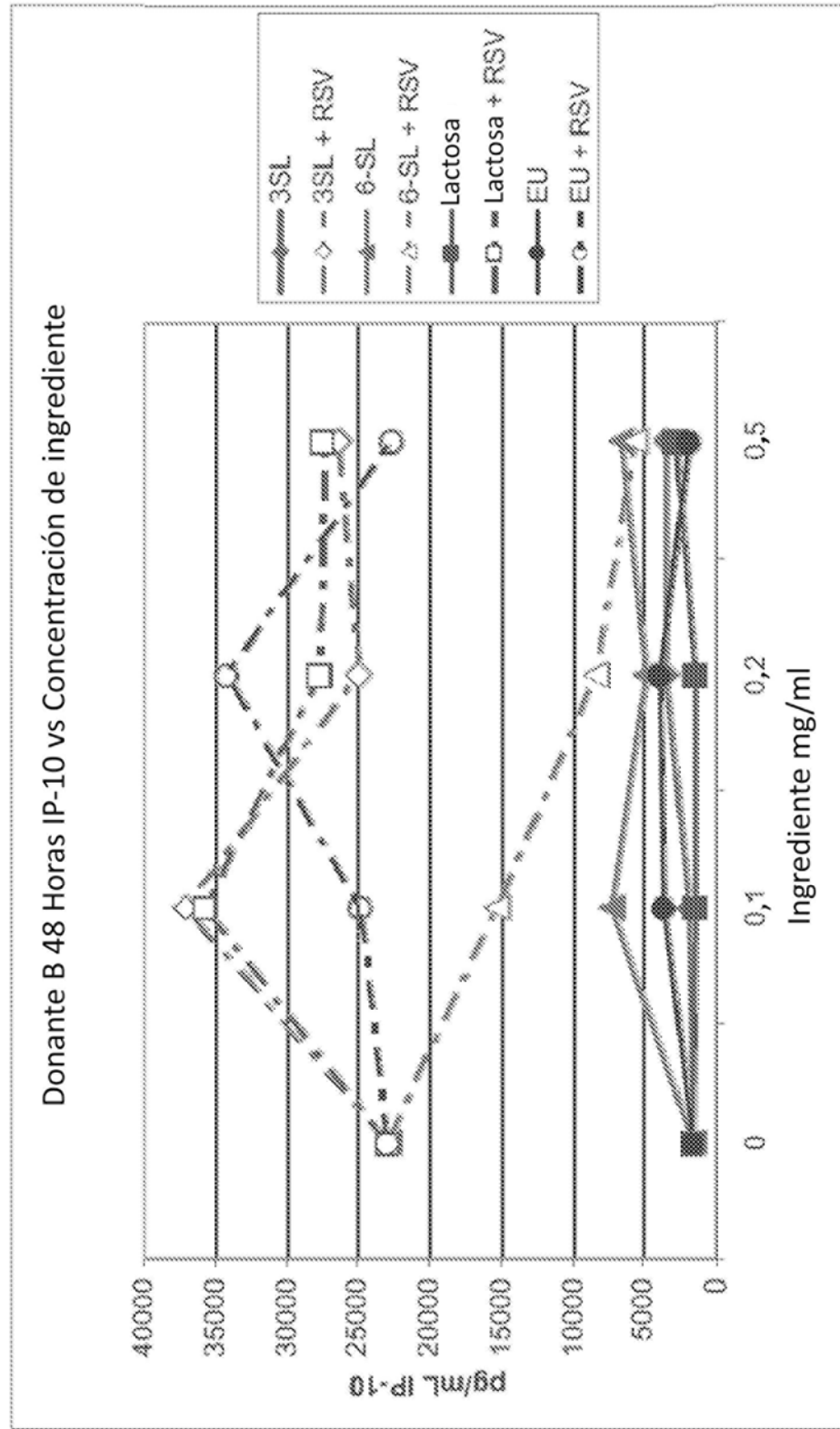


FIG. 4

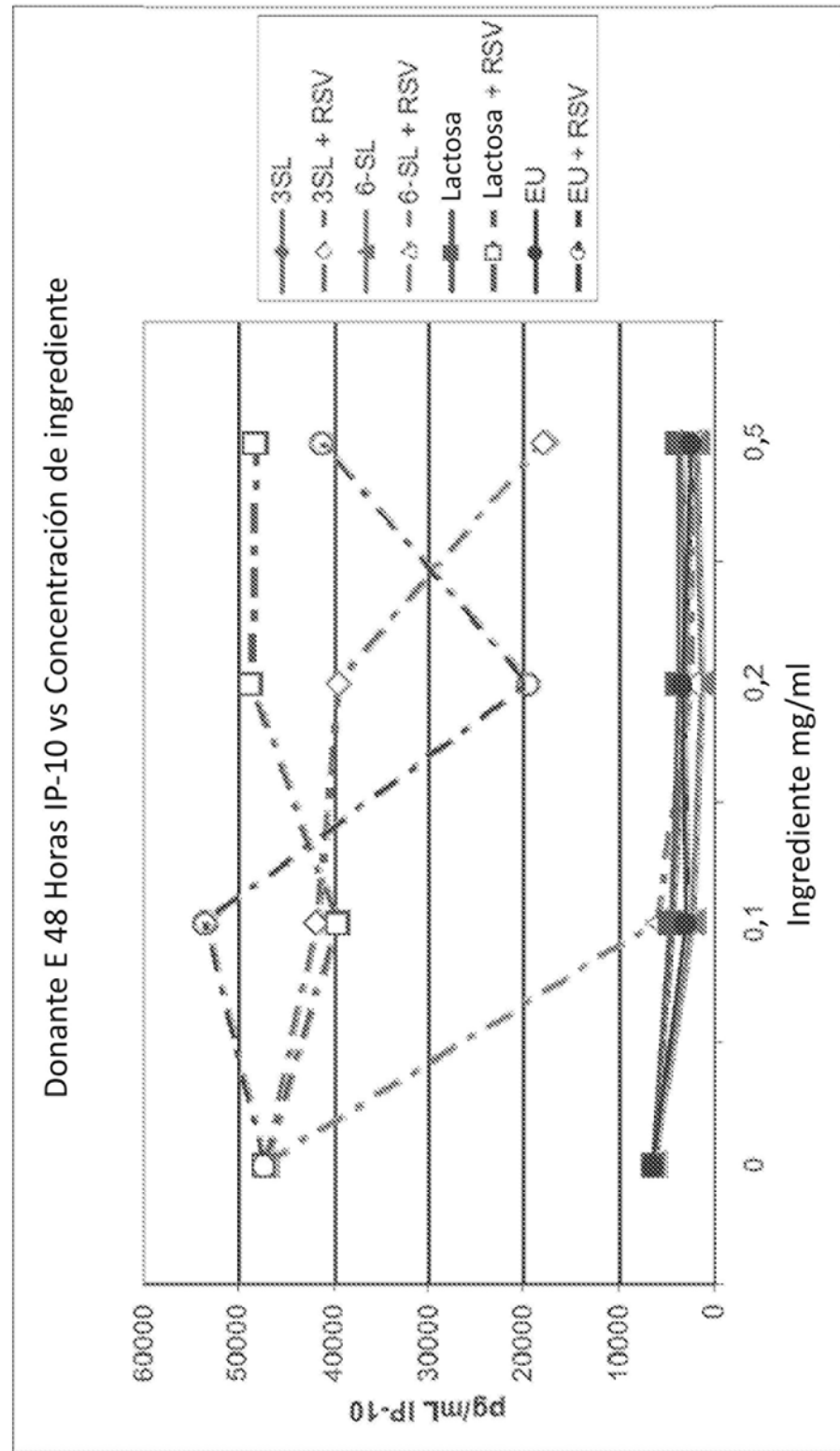


FIG. 5

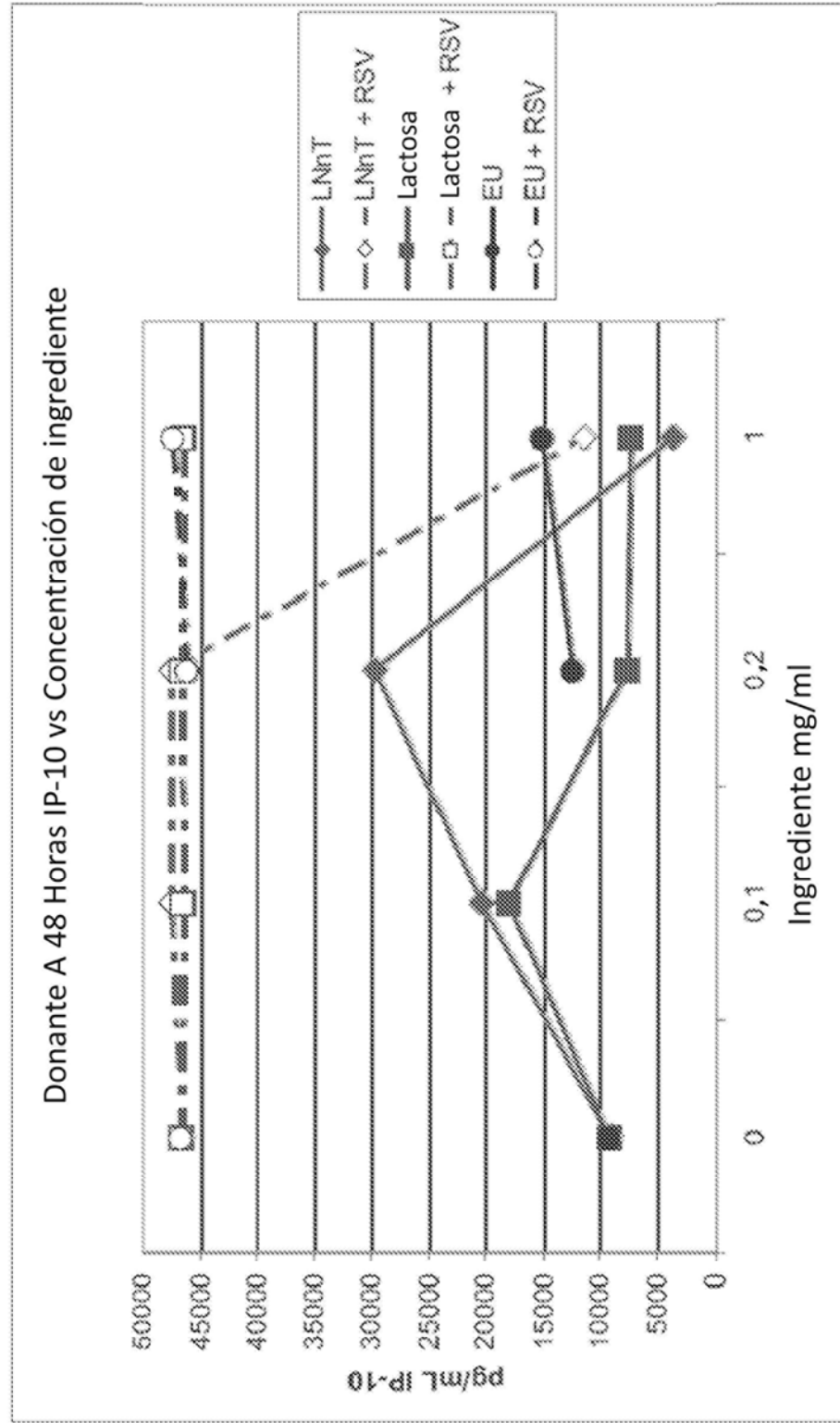


FIG. 6

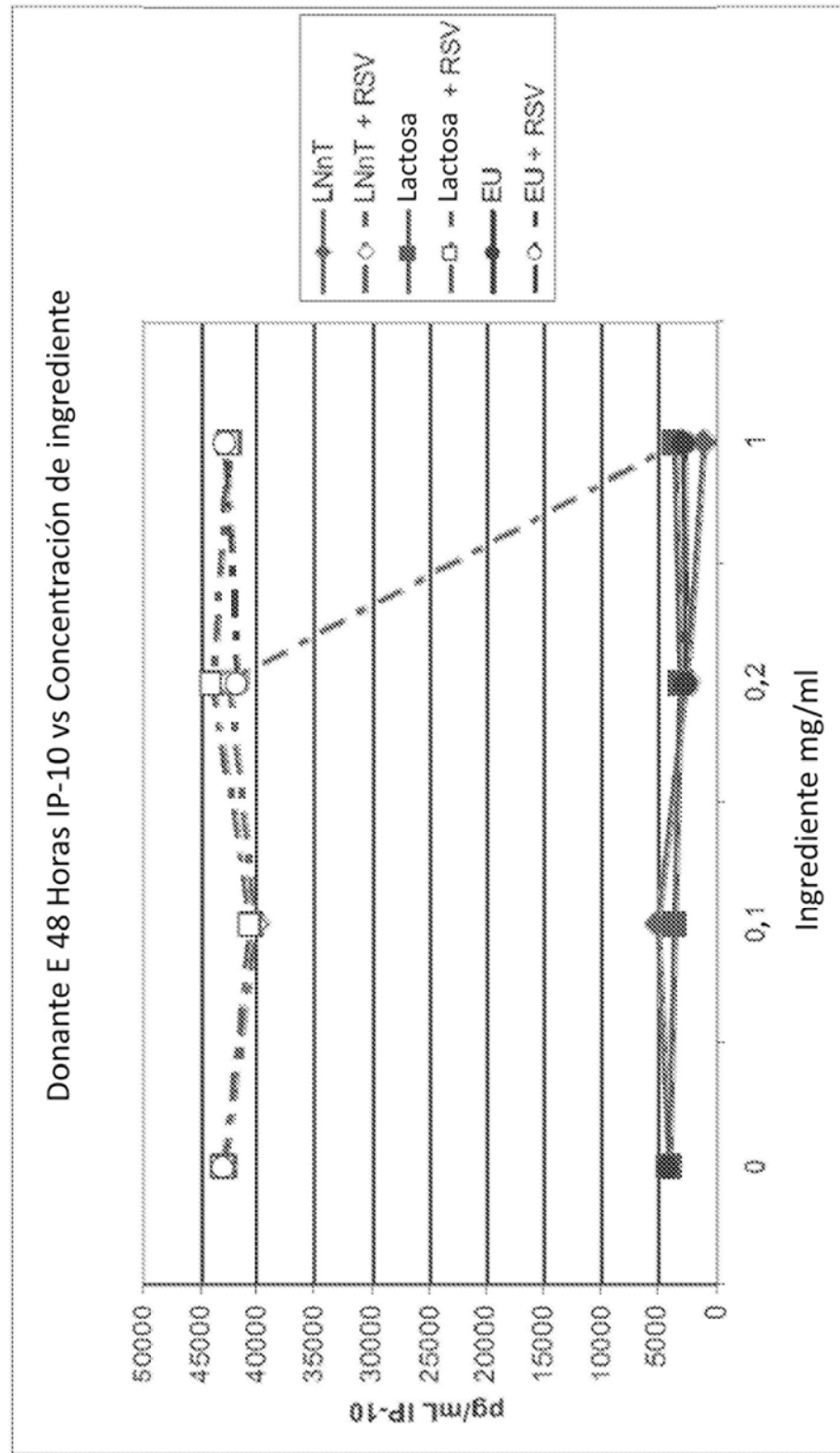


FIG. 7

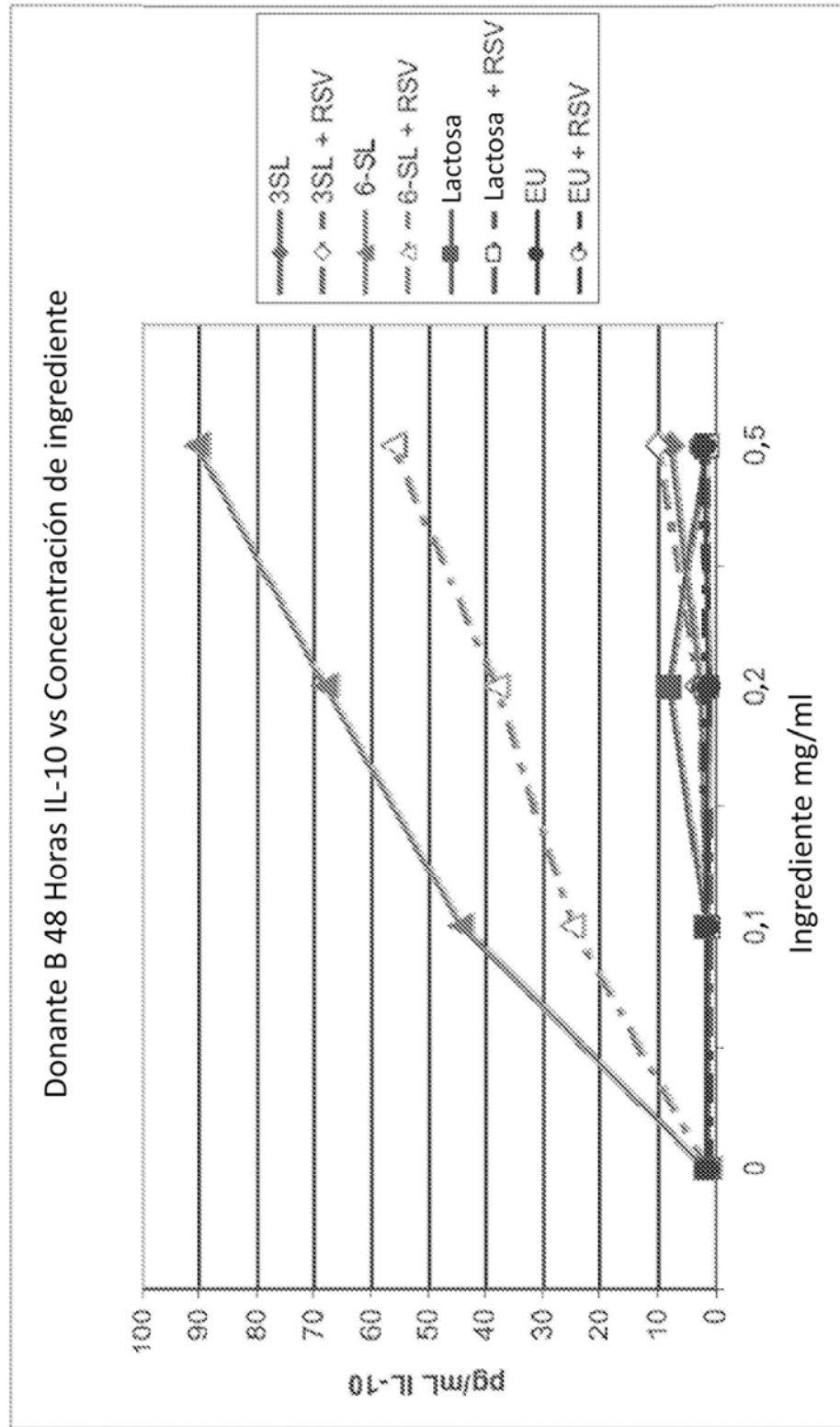


FIG. 8

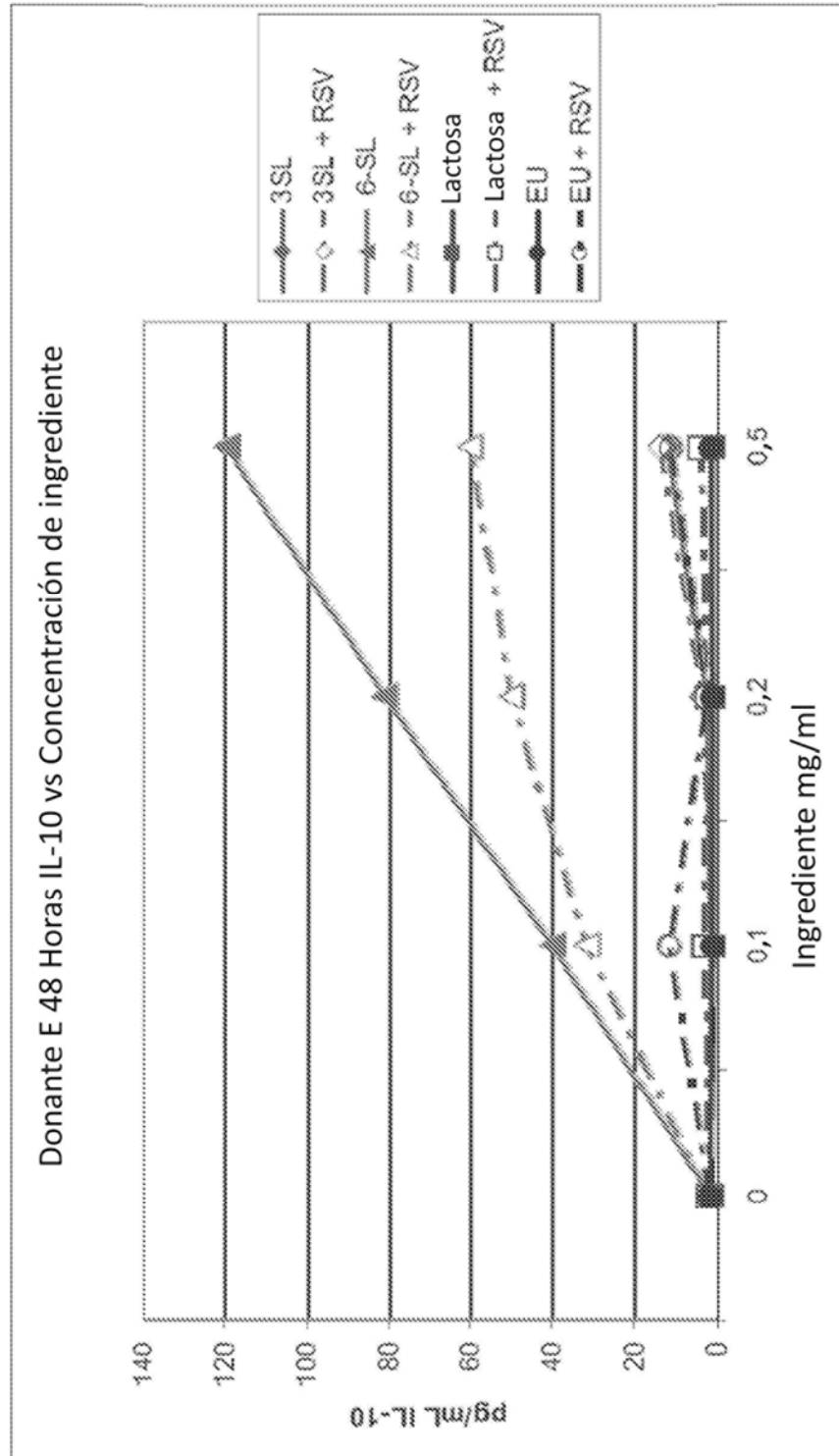


FIG. 9

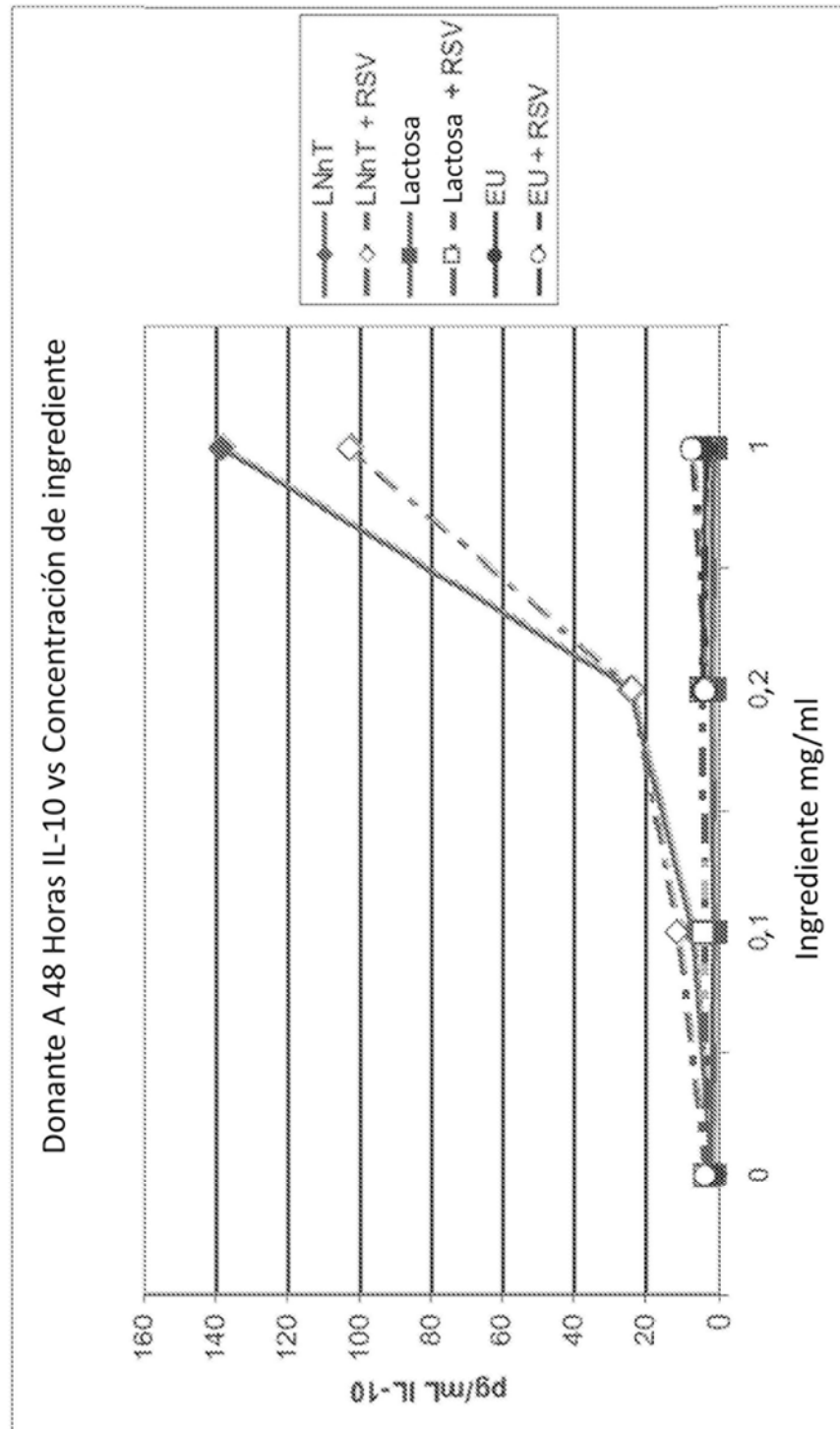


FIG. 10

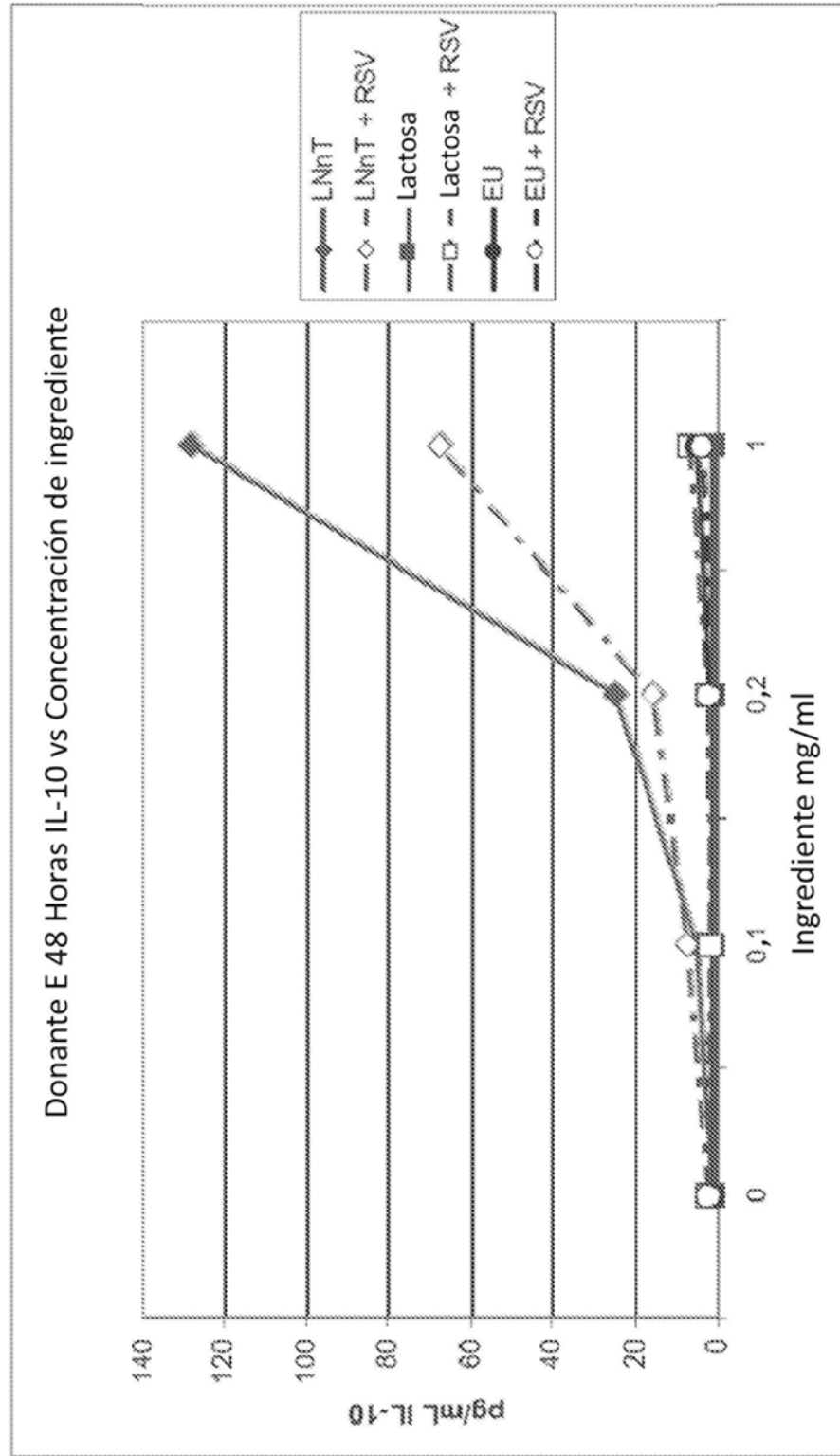


FIG. 11

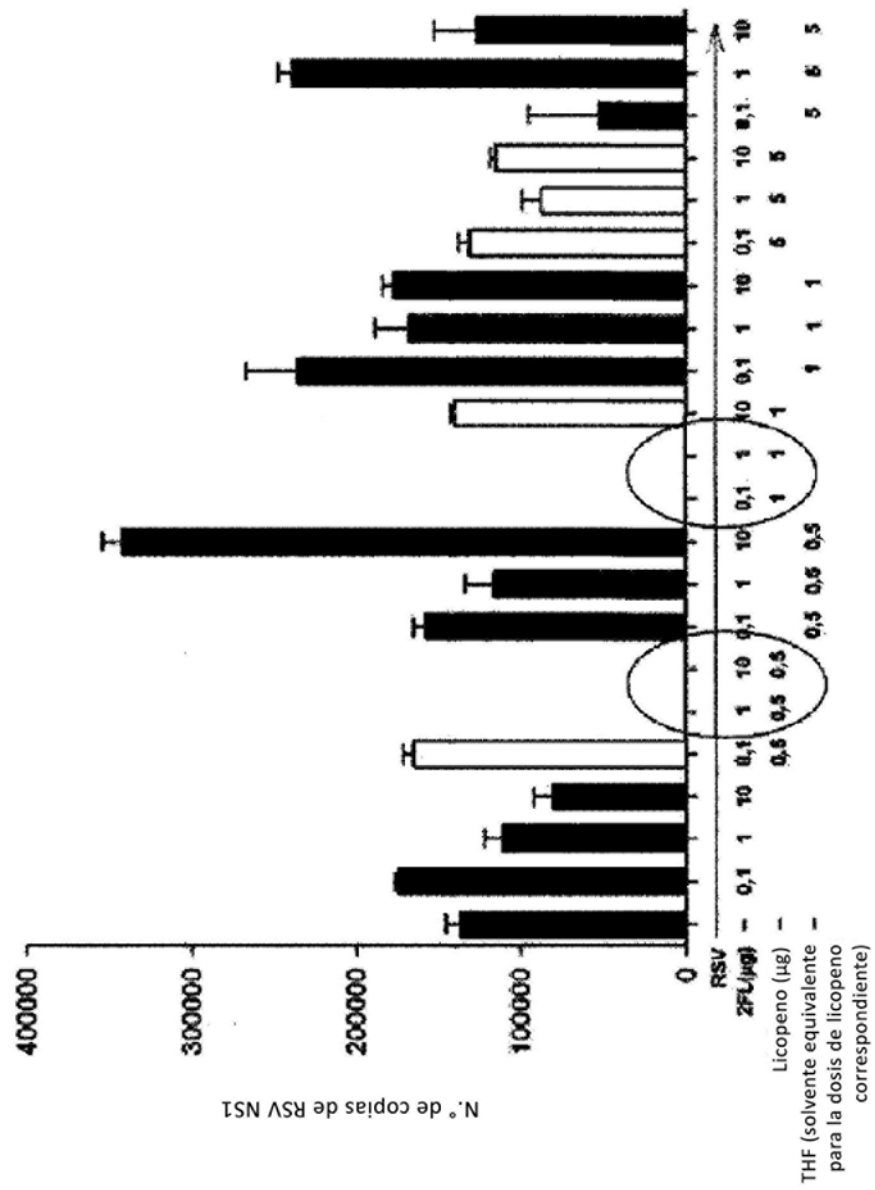


FIG. 12

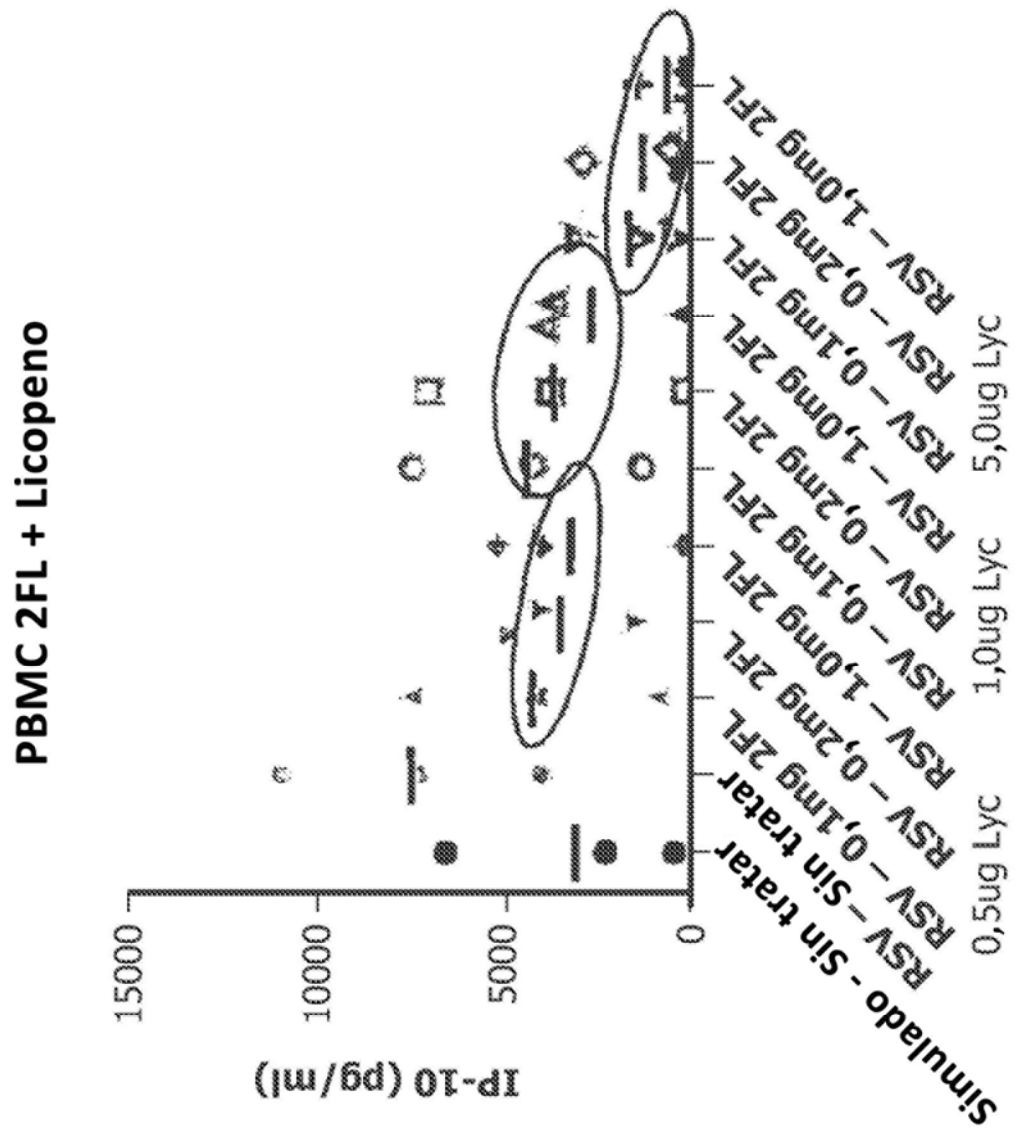


FIG. 13

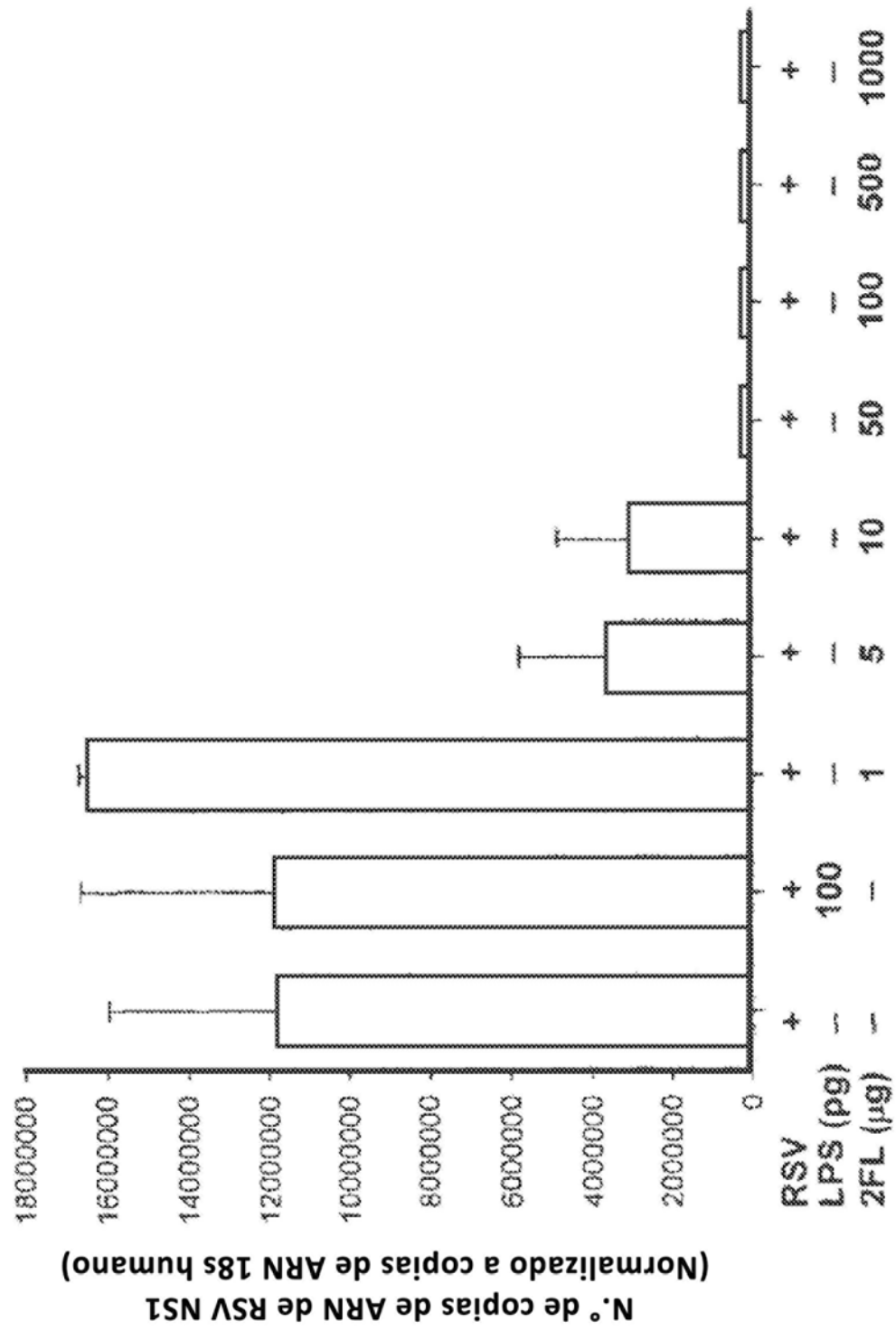


FIG. 14

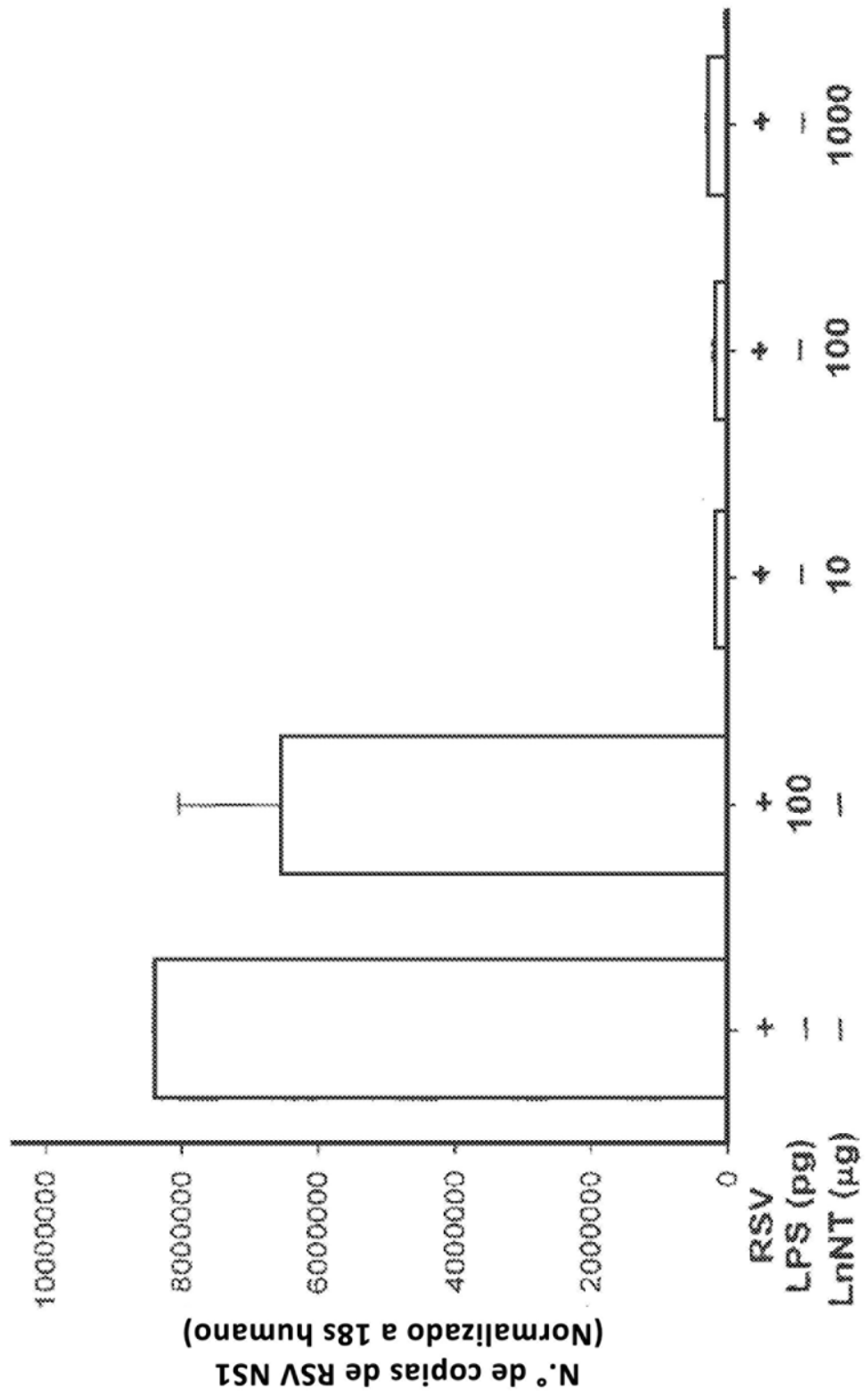


FIG. 15

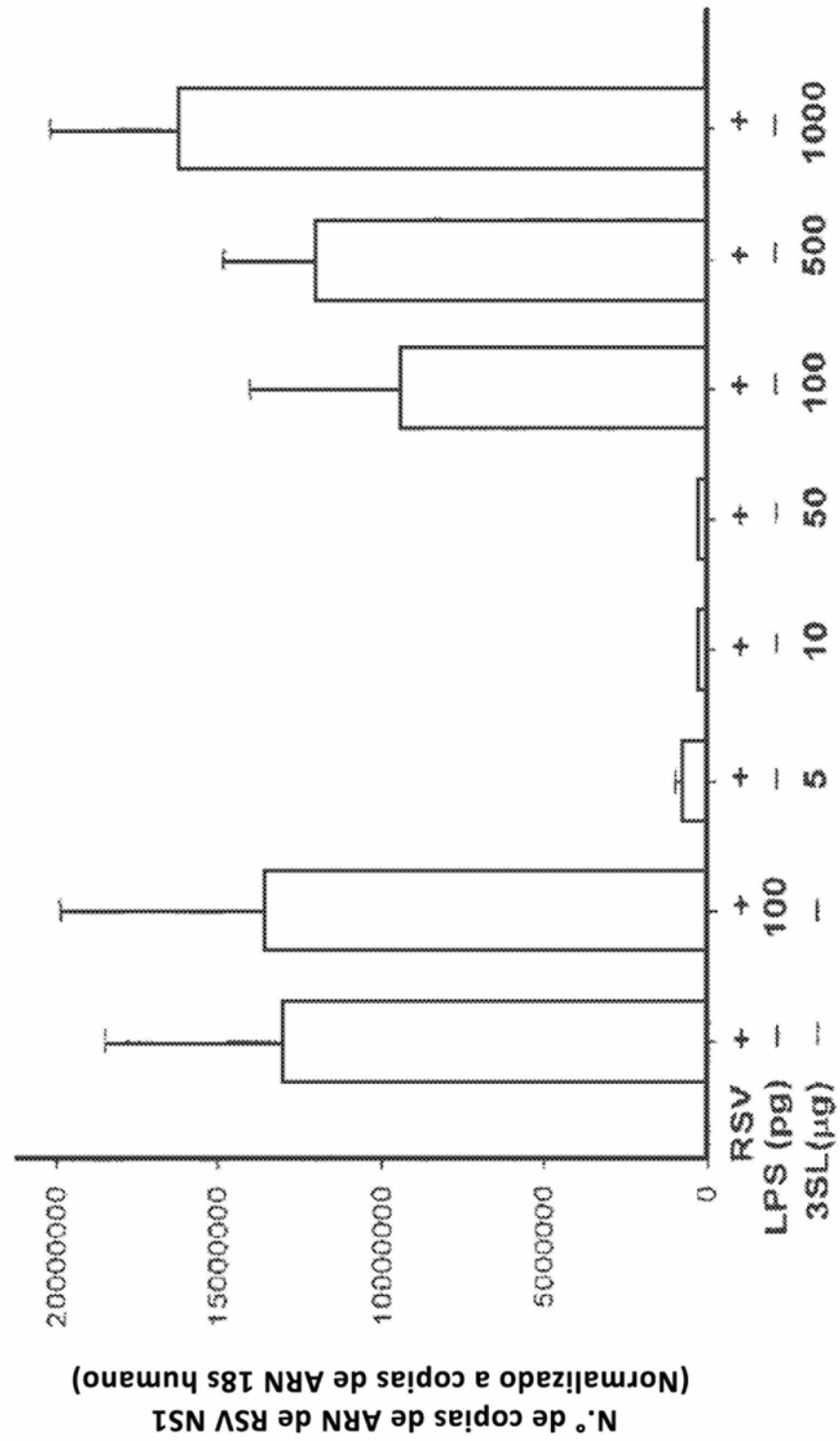


FIG. 16

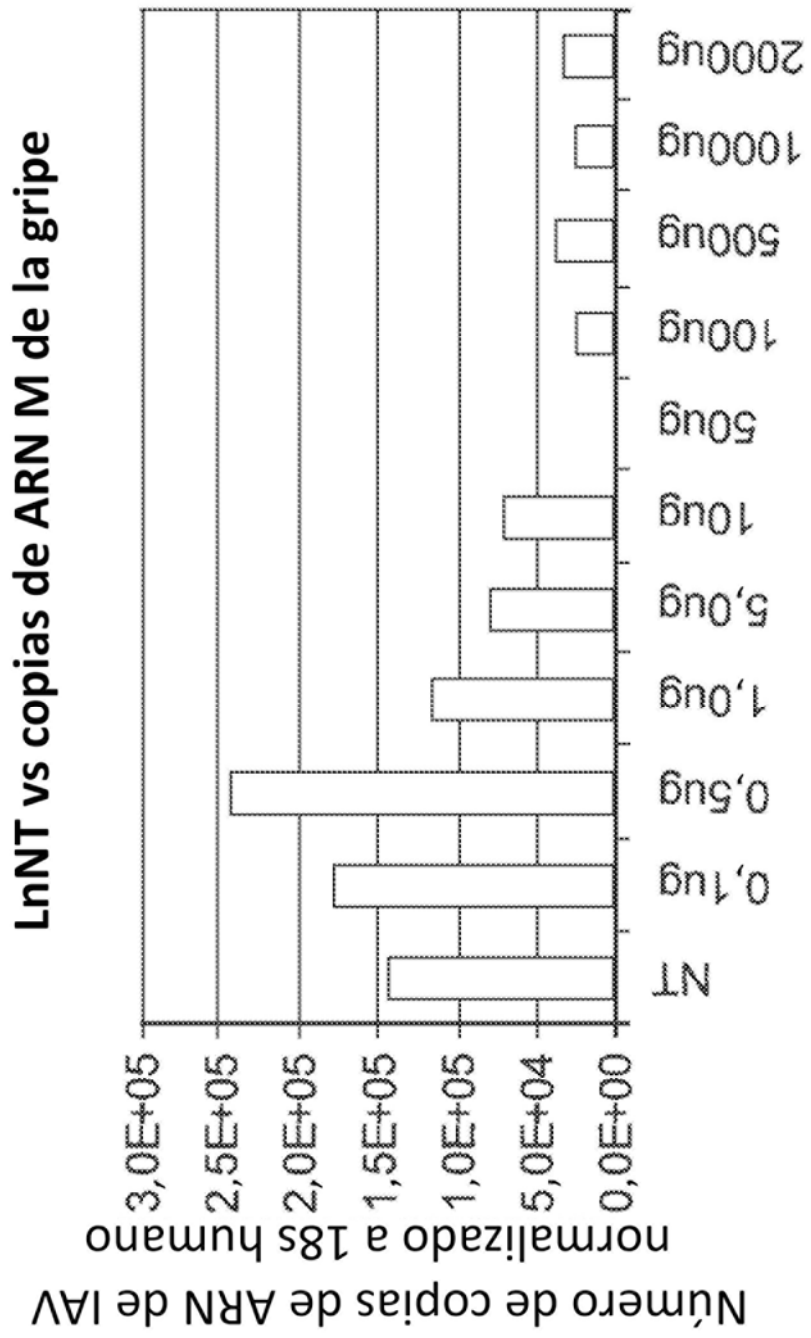


FIG. 17

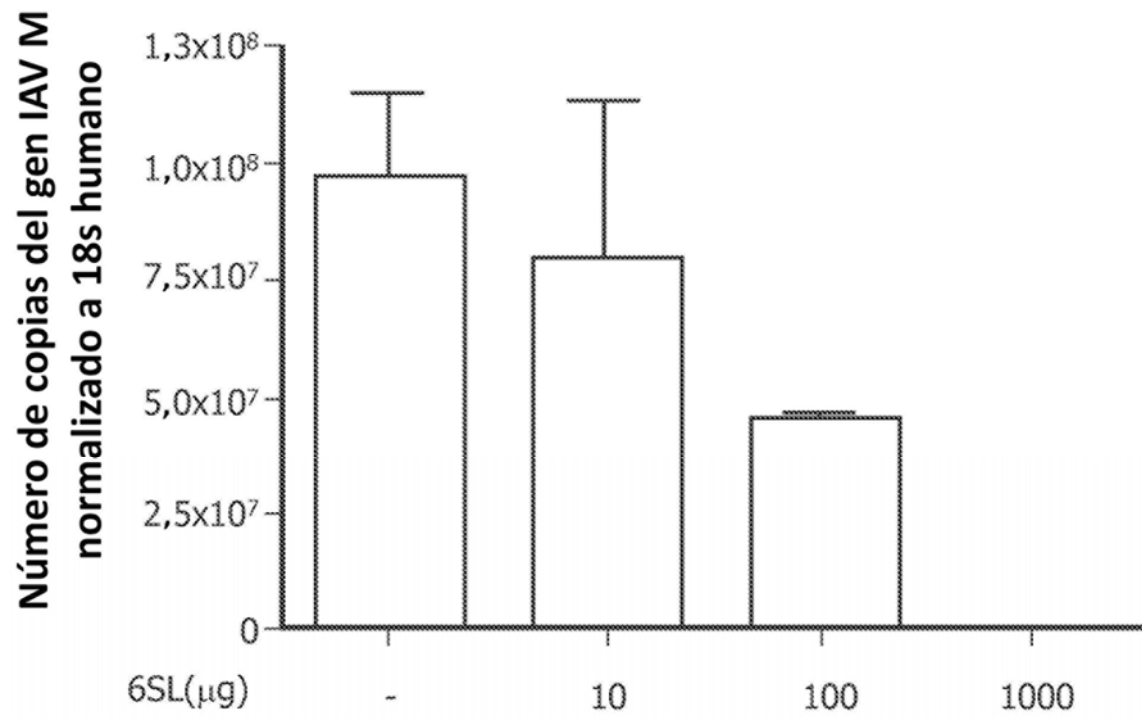


FIG. 18

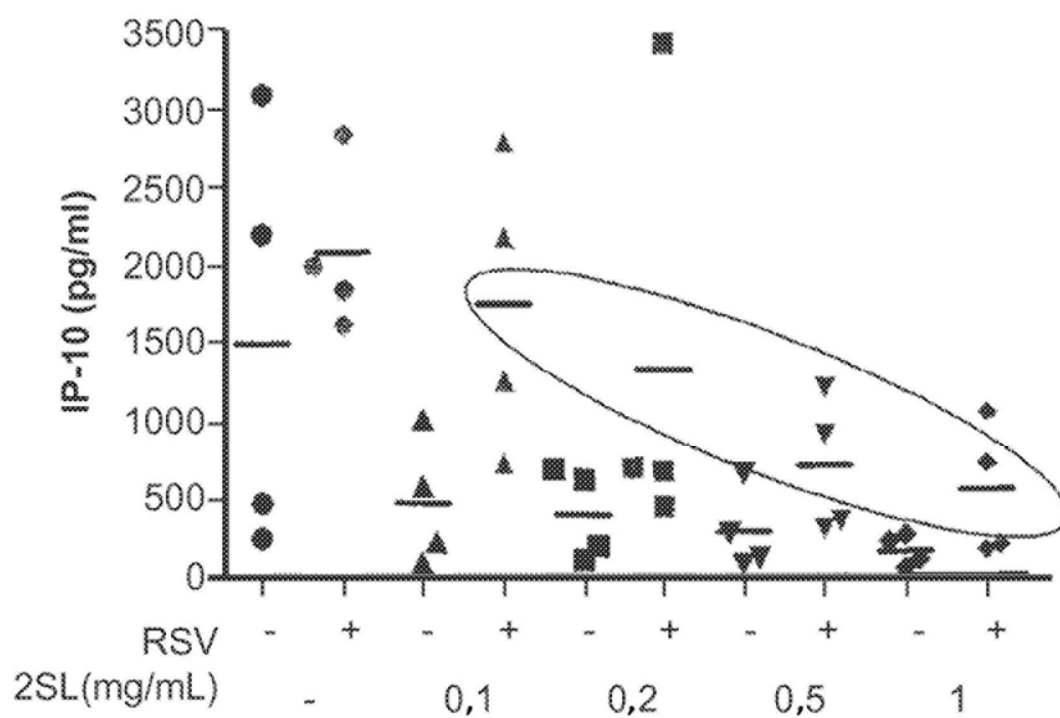


FIG. 19A

Donante B 48 horas IP-10 vs Concentración de ingrediente

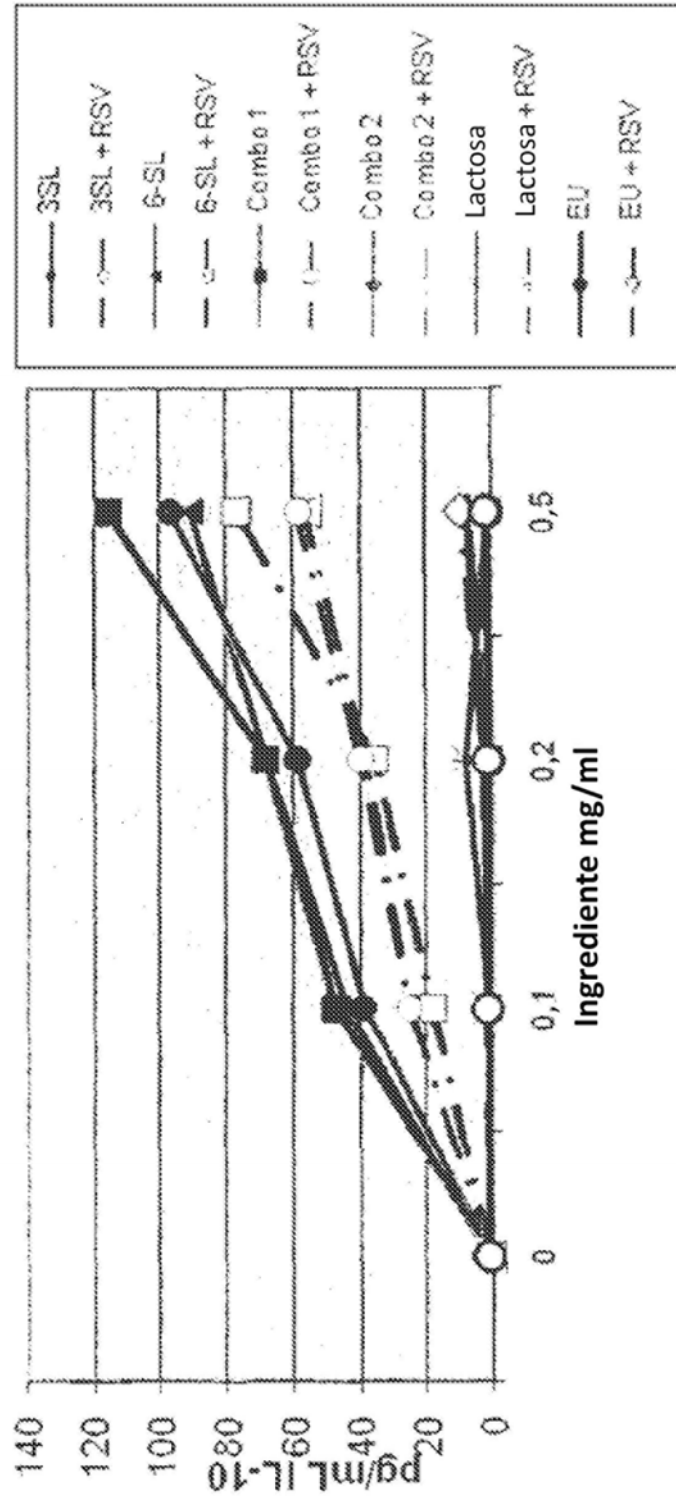


FIG. 19B

Donante E 48 horas IP-10 vs Concentración de ingrediente

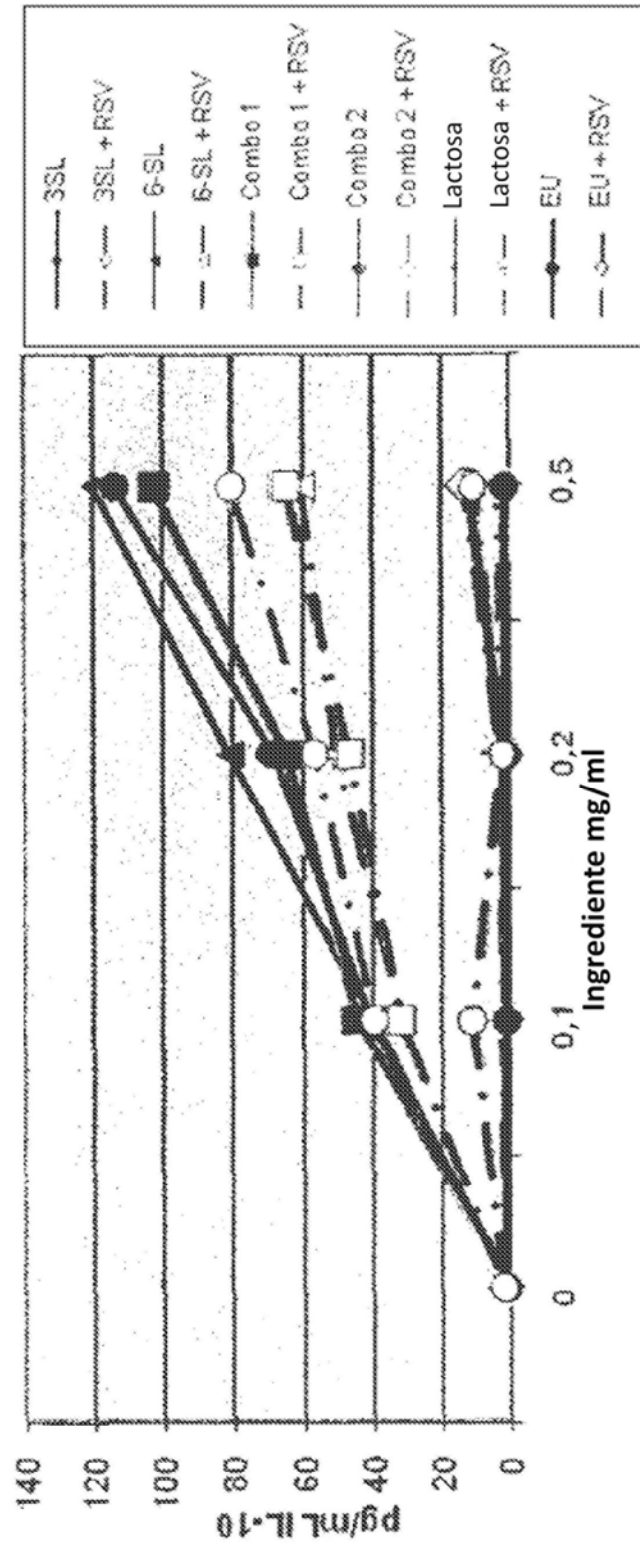


FIG. 20A

Donante A 48 horas IL-10 vs Concentración de ingrediente

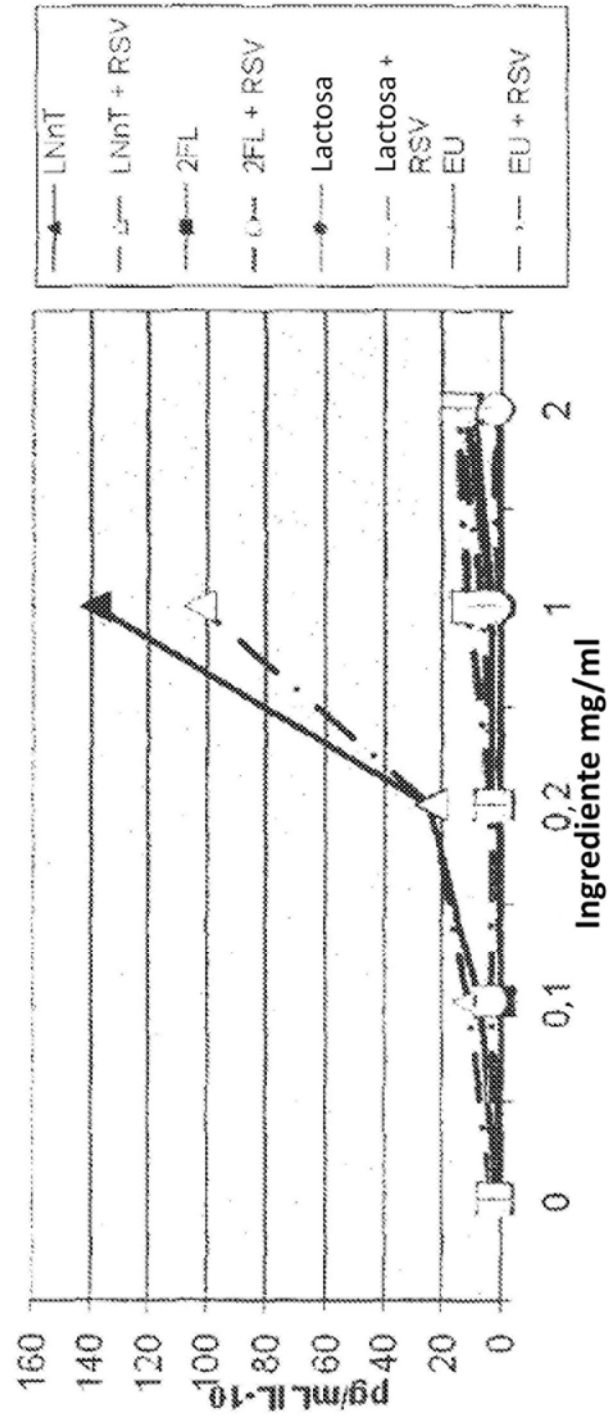


FIG. 20B

Donante E 48 horas IL-10 vs Concentración de ingrediente

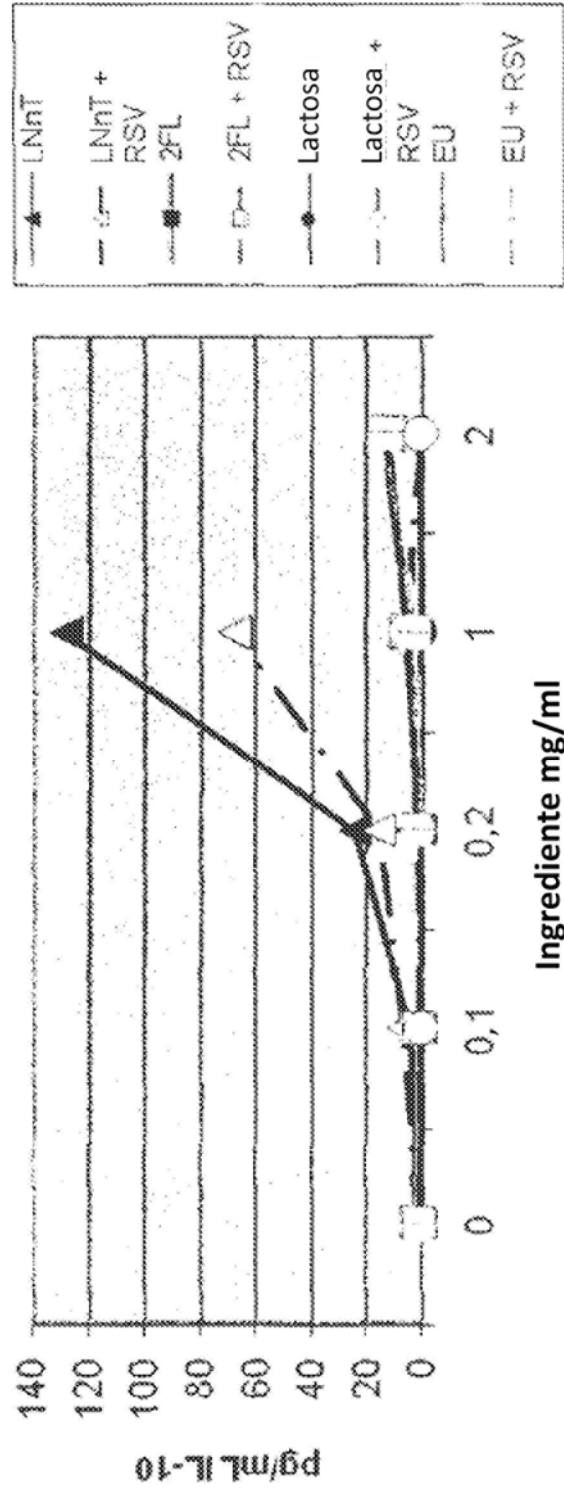


FIG. 21

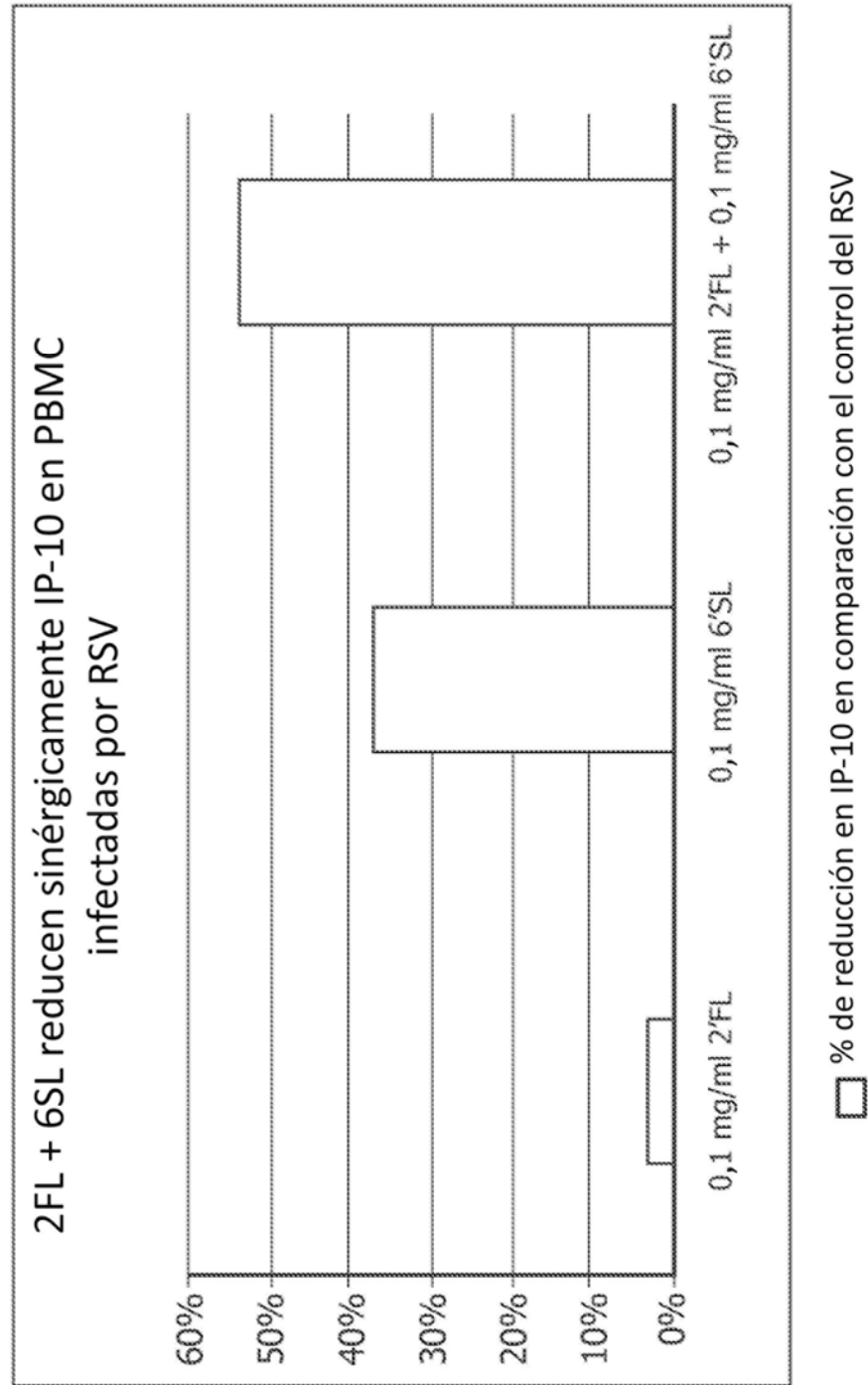


FIG. 22

2FL + 3SL + licopeno reducen sinérgicamente IP-10 en
PBMC infectadas por RSV

