(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 719 404**

(51) Int. Cl.:

A23L 33/125 (2006.01)
A23L 33/13 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61K 31/7072 (2006.01)
A61K 31/708 (2006.01)
A61P 1/12 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2011 PCT/US2011/067004**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **05.07.2012 WO12092153**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2011 E 11809048 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019 EP 2658399**

(54) Título: **Composiciones nutricionales que comprenden oligosacáridos de leche humana para el uso en el tratamiento y/o prevención de la infección por rotavirus entérico**

(30) Prioridad:

31.12.2010 US 201061428866 P
26.10.2011 US 201161551758 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.07.2019

(73) Titular/es:

ABBOTT LABORATORIES (100.0%)
100 Abbott Park Road
Abbott Park, IL 60064-3500, US

(72) Inventor/es:

BUCK, RACHAEL;
THOMAS, DEBRA, L. y
SCHALLER, JOSEPH, P.

(74) Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 719 404 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

Composiciones nutricionales que comprenden oligosacáridos de leche humana para el uso en el tratamiento y/o prevención de la infección por rotavirus entérico

CAMPO DE LA DIVULGACIÓN

La presente divulgación se refiere a oligosacáridos de la leche humana (HMO) para modular la inflamación en un bebé, niño pequeño o niño. Más particularmente, la presente divulgación se refiere a los fortificantes de leche humana, a las fórmulas para prematuros y lactantes y a las fórmulas pediátricas que comprenden HMO y nucleótidos que pueden reducir la inflamación y prevenir y/o tratar enfermedades y afecciones inflamatorias, como las infecciones virales entéricas.

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 al 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 a término. 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 inmunitario 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 métodos 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, incluidos un mejor crecimiento y desarrollo del sistema inmunológico. Además, sería beneficioso si las composiciones nutricionales pudieran modular la inflamación y mejorar la inmunidad contra infecciones microbianas, incluyendo infecciones virales y bacterianas, y otras enfermedades inflamatorias.

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

La presente invención es una fórmula pediátrica sintética para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección inducida por rotavirus en un bebé, niño pequeño o niño, comprendiendo la fórmula pediátrica sintética desde 0,001 mg/ml hasta 20 mg/ml de un oligosacárido de leche humana y de 5 mg/l a 350 mg/l de un nucleótido, donde el oligosacárido de la leche humana comprende de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml de 3'-sialil-lactosa, 6'-sialil-lactosa, ácido siálico y combinaciones de los mismos o de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml de lacto-N-neotetraosa.

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 amortiguar la inflamación generalmente en bebés, niños pequeños y niños y, específicamente para amortiguar la inflamación inducida por el virus, incluyendo el virus sincicial respiratorio, la parainfluenza humana y la influenza A, en bebés, niños pequeños y niños, reducen la producción de algunas citoquinas clave de las células inmunitarias humanas sin aumentar la carga viral, lo que puede conducir a una recuperación más rápida de las infecciones. Sorprendentemente, se determinó que los HMO demuestran los efectos de humectación 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 HMO que un lactante amamantado recibiría de la leche materna.

Además, se ha encontrado que los HMO fucosilados, incluida la 3'-fucosil-lactosa, sola o en combinación con ácido siálico, son altamente efectivos para inhibir los virus respiratorios. Incluso en concentraciones muy bajas, 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 amortiguan las citoquinas inflamatorias inducidas por virus y, específicamente, la proteína 10 inducible por interferón (IP-10). Los componentes adicionales, incluidos los antioxidantes, como la vitamina A y la vitamina E, o los nucleótidos, también se pueden agregar a la HMO y las combinaciones de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y/o carotenoides.

Además, se ha descubierto que una combinación de HMO y nucleótidos específicos es eficaz para disminuir las infecciones por rotavirus entérico. Específicamente, esta combinación disminuye la replicación de virus entéricos, como el rotavirus.

También se ha encontrado 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 entercolitis necrotizante. Además, se ha encontrado que estos HMO disminuyen el estrés oxidativo en los bebés. La invención es como se define en las reivindicaciones adjuntas.

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 probó en el Ejemplo 47.
La FIG. 2 es un gráfico que representa los niveles de glutatión en el plasma sanguíneo de los lechones medidos en el Ejemplo 48.
La FIG. 3 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL según se mide en el Ejemplo 49.
La FIG. 4 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL según se mide en el Ejemplo 49.
La FIG. 5 es un gráfico que representa los niveles de IP-10 resultantes de la administración de LNnT como se mide en el Ejemplo 49.
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 49.
La FIG. 7 es un gráfico que muestra los niveles de IP-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL según se mide en el Ejemplo 49.
La FIG. 8 es un gráfico que muestra los niveles de IL-10 resultantes de la administración de 3'SL y 6'SL según se mide en el Ejemplo 49.
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 49.
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 49.
La FIG. 11 es un gráfico que muestra los niveles de NSP4 resultantes del tratamiento de los bucles ileales con varias combinaciones de HMO, nucleótidos y rotavirus según se mide en el Ejemplo 50. Sólo la Figura 11 ilustra la invención reivindicada.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

Las composiciones y métodos 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. Estas y otras características de las composiciones y métodos nutricionales, así como algunas de las muchas variaciones y adiciones opcionales, se describen en detalle a continuación.

Las expresiones "empaquetado con retorta" y "esterilización con 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 típicamente una lata de metal u otro envase similar, con un líquido nutricional y luego someter el paquete lleno con líquido hasta la etapa necesaria de esterilización por calor, para formar un producto líquido nutricional esterilizado, envasado en retorta.

La expresión "envasado 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 de la retorta descrita anteriormente, en donde el líquido nutricional y el envase se esterilizan por separado antes del llenado, y luego se combinan en condiciones de procesamiento esterilizado o aséptico para formar un producto líquido nutricional, esterilizado y envasado asépticamente.

Los términos "grasa" y "aceite" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se emplean indistintamente para referirse a materiales lipídicos derivados o procesados de plantas o animales. Estos términos también incluyen materiales lipídicos sintéticos siempre que tales materiales sintéticos sean adecuados para la administración oral a humanos.

La expresión "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 leche humana no limitativos ejemplares incluyen 3'-sialil-lactosa, 6'-sialil-lactosa, 3'-fucosil-lactosa, 2'-fucosil-lactosa y lacto-N-neo-tetraosa. Un ejemplo de precursor de oligosacáridos de leche humana incluye ácido siálico.

La expresión "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 ser envasado y luego almacenado a 18-24 °C durante al menos 3 meses, incluso de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 24 meses, y también incluye desde unos 12 meses hasta unos 18 meses.

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

La expresión "líquido nutricional" como se usa en este 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 aquí antes de su uso.

La expresión "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 se pueden reconstituir con agua u otro líquido acuoso antes del consumo e incluye polvos tanto secados por pulverización como mezclados en seco.

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

La expresión "semilíquido 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, entre líquidos y sólidos. Algunos ejemplos de semilíquidos incluyen batidos espesos y geles líquidos.

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

La expresión "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 mayor de tres años hasta los doce años.

La expresión "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.

Las expresiones "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 de la leche humana líquidos, sólidos, semisólidos y semilíquidos que son adecuados para el consumo por parte de infantes. Las fórmulas sintéticas incluyen componentes que son de origen semipurificado o purificado. Tal como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, los términos "semipurificado" o "purificado" se refieren a un material que se ha preparado mediante la purificación de un material natural o mediante síntesis. Las expresiones "fórmula infantil" o "fórmula infantil sintética" no incluyen la leche materna.

La expresión "fórmula pediátrica sintética", como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a los reemplazos o sustitutos de la leche humana líquidos, sólidos, semilíquidos y semisólidos 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 semipurificado o purificado. Tal como se usa en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, los términos "semipurificado" o "purificado" se refieren a un material que se ha preparado mediante la purificación de un material natural o mediante síntesis. La expresión "fórmula nutricional pediátrica sintética" no incluye la leche materna.

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

La expresión "fórmula para lactantes 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 lactante prematuro.

La expresión "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 mezclarse con leche materna o fórmula infantil prematura o fórmula infantil para consumo por parte de un bebé prematuro o prematuro.

Las expresiones "ausencia de virus" o "ausencia de 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 producir una respuesta inmune; es decir, una cantidad que es menor que la requerida para que la respuesta inmune natural del cuerpo aumente la producción de citoquinas y otros factores inmunes.

Las expresiones "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.

Las expresiones "enfermedad inflamatoria" o "condición inflamatoria" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, se refieren a cualquier enfermedad, trastorno o condición caracterizada por inflamación. La expresión "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, que incluye una infección viral y bacteriana.

Las expresiones "susceptibles" y "en riesgo" como se usan en este documento, a menos que se especifique lo contrario, significan tener poca resistencia a cierta condición o enfermedad, incluso estar predispuesto genéticamente, tener un historial familiar y/o tener síntomas de la condición o enfermedad.

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

Todos los porcentajes, partes y relaciones usados en el presente documento son en peso de la composición total, a menos que se especifique otra cosa. Todos dichos pesos en cuanto a que se refieren a ingredientes enumerados

están basados en el nivel activo y, por lo tanto, no incluyen disolventes o subproductos que puedan incluirse en materiales comercialmente disponibles, a menos que se especifique otra cosa.

Los rangos numéricos como se usan en este documento pretenden incluir cada número y subconjunto de números dentro de ese rango, ya sea específicamente divulgado o no. Además, estos rangos numéricos deben interpretarse como soporte para una reivindicación referida a cualquier número o subconjunto de números en ese rango. Por ejemplo, una divulgación de 1 a 10 se debe interpretar como que admite un rango 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 otra cosa o lo contrario esté claramente implícito por el contexto en el que se hace la referencia.

Todas las combinaciones de etapas de método o proceso como se usan en la presente memoria pueden practicarse en cualquier orden, a menos que se especifique otra cosa o se implique claramente lo contrario por el contexto en que se hace la combinación referenciada.

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

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 sólida, líquida, semisólida, o semilíquida o pulverulenta, que incluye combinaciones o variaciones de estas, es adecuada para su uso en la presente descripción, siempre y cuando tales formas permitan el suministro oral seguro y eficaz al individuo de los ingredientes esenciales como se define, además, en la presente descripción.

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación incluyen una 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 inmune que incluyen, entre otros, ácidos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA), nucleótidos y antioxidantes, como carotenoides y vitaminas, como se explica a continuación.

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.

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación se formulan de manera deseable como formas de productos dietéticos, que se definen aquí 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 combinaciones 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.

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

Los ejemplos específicos no limitativos 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, fortificadores de leche humana en polvo y líquidos, fórmulas infantiles prematuras líquidas y en polvo, fórmulas infantiles líquidas y en polvo , fórmulas líquidas y elementales y semielementales en polvo, fórmulas 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

Los líquidos nutricionales incluyen líquidos nutricionales tanto concentrados como listos para el consumo. Estos líquidos nutricionales se formulan más típicamente 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, grasas y carbohidratos. Estas emulsiones son generalmente líquidos fluidos o bebibles de 1° C a 25 °C y están típicamente en forma de aceite en agua, agua en aceite o emulsiones acuosas complejas, aunque tales emulsiones están más típicamente en la forma de emulsiones de aceite en agua que tienen una fase acuosa continua y una fase oleosa discontinua.

Las emulsiones nutricionales pueden ser y típicamente son estables en almacenamiento. Las emulsiones nutricionales contienen típicamente hasta aproximadamente el 95 % en peso de agua, incluyendo del 50 % al 95 %, incluyendo también del 60 % al 90 %, y también incluyendo del 70 % al 85 % de agua en 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, incluso de 1,06 g/ml a 1,12 g/ml, y también incluye desde 1,085 g/ml a 1,10 g/ml.

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 comprenden generalmente al menos 19 kcal/fl oz (660 kcal/litro), más típicamente de 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) a 25 kcal/fl oz (820 kcal/litro), incluso más típicamente de 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) a 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/litro).En general, las fórmulas de 22-24 kcal/fl oz se usan más comúnmente en los 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 a término. En algunas realizaciones, la emulsión puede tener una densidad calórica de 50-100 kcal/litro a 660 kcal/litro, incluyendo de 150 kcal/litro a 500 kcal/litro. En algunas realizaciones específicas, la emulsión puede tener una densidad calórica de 25, o 50, o 75, o 100 kcal/litro.

La emulsión nutricional puede tener un pH que varía de 3,5 a 8, pero están más ventajosamente en un rango de 4,5 a 7,5, incluyendo de 5,5 a 7,3, incluyendo de 6,2 a 7,2.

Aunque el tamaño de la porción para la emulsión nutricional puede variar dependiendo de una cantidad de 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 los intervalos de 1 ml a 300 ml, incluidos de 4 ml a 250 ml, e incluso de 10 ml a 240 ml.

Sólidos nutricionales

Los sólidos nutricionales pueden estar en cualquier forma sólida, pero típicamente 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 pueden ser reconstituidas fácilmente por el usuario previsto con un líquido acuoso adecuado, típicamente agua, para formar una composición nutricional para uso oral o enteral inmediato. En este contexto, uso "inmediato" significa generalmente al cabo de aproximadamente 48 horas, lo más típicamente al cabo 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/litros), más típicamente desde 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) hasta 25 kcal/fl oz (820 kcal/litro), incluso más típicamente desde 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/litro) hasta 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/litro).En general, las fórmulas de 22-24 kcal/fl oz se usan más comúnmente en los 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 a término. En algunas realizaciones, el polvo reconstituido puede tener una densidad calórica de 50-100 kcal/litro a 660 kcal/litro, incluyendo de 150 kcal/litro a 500 kcal/litro. En algunas realizaciones específicas, la emulsión puede tener una densidad calórica de 25, o 50, o 75, o 100 kcal/litro.

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 HMOs. Los oligosacáridos son uno de los componentes principales de la leche materna humana, 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 se incluyen en las composiciones nutricionales en combinación con nucleótidos, y en algunas realizaciones, en combinación con otros factores de mejora inmunológica (por ejemplo, LCPUFA, antioxidantes, etc.) como se describe en el presente documento. El HMO o los HMO se pueden aislar o enriquecer de la leche secretada por mamíferos, incluidas, entre otras, especies humanas, bovinas, ovinas, porcinas o caprinas. Los HMO también pueden producirse a través de fermentación microbiana, procesos enzimáticos, síntesis química o combinaciones de los mismos.

Los HMO adecuados para uso en composiciones nutricionales pueden incluir oligosacáridos ácidos, oligosacáridos neutros, oligosacáridos n-acetilglucosilados y precursores de HMO. Los ejemplos no limitativos específicos de HMO que pueden incluirse individualmente o en combinación en las composiciones de la presente divulgación incluyen: ácido siálico (es dcir, 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 Lactodifucototoseosa); oligosacáridos no fucosilados, no sialilados (es decir, Lacto-N-tetraosa y Lacto-N-neotetraosa); oligosacáridos de sialilo (es decir, 3'-Sialil-3-fucosil-lactosa; Desialomonofucosil-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-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 (p. ej., 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.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-neoocataosa, para-lacto-N-octanosa, iso-lacto-N-octaosa, lacto-N-octaosa, monofucosil-lacto-neoocataosa, monofucosil-lacto-N-ocataosa, difucosil-lacto-N-octaosa I, difucosil-lacto-N-octaosa II, difucosil-lacto-N-neoocatasa II, difucosil-lacto-N-neoocataosa I, lacto-N-decaosa, trifucosil-lacto-N-neooctaosa, 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 combinaciones de los mismos. Las composiciones pueden incluir 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 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; combinaciones de 6'SL, 2'FL, y LNnT; combinaciones de 3'SL, 6'SL y LNnT; y LNnT solo.

Los HMO pueden incluir: 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, 2'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.

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, incluyendo al menos aproximadamente 0,01 mg/ml, incluyendo desde 0,001 mg/ml hasta 20 mg/ml, incluidos de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml, incluidos 0,001 mg/ml a 10 mg/ml, incluidos de 0,01 mg/ml a 10 mg/ml, incluidos de 0,001 mg/ml a 5 mg/ml, incluyendo desde 0,01 mg/ml a 5 mg/ml, incluyendo desde 0,001 mg/ml a 0,23 mg/ml, e incluyendo desde 0,01 mg/ml a 0,23 mg/ml de HMO total en

la composición nutricional. Típicamente, la cantidad de HMO en la composición nutricional dependerá del HMO específica o HMO presente y las cantidades de otros componentes en las composiciones nutricionales.

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

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 del 0,0001 % al 0,50 %, incluyendo del 0,001 % al 0,15 %, incluyendo del 0,01 % al 0,10 %, e incluye además del 0,01 % al 0,03 % (en peso del líquido nutricional listo para el consumo).

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

En algunas realizaciones, los HMO se usan en combinación para proporcionar el efecto de mejora inmune deseado. Por ejemplo, en una realización, la composición nutricional incluye 6'SL en combinación con 3'SL en una cantidad total de HMO de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,001 mg/ml a 0,23 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 0,23 mg/ml, incluyendo de 0,001 mg/ml a menos de 0,15 mg/ml, e incluyendo de 0,01 mg/ml a 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 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml e incluyendo más de 0,65 mg/ml a 20 mg/ml.

En una realización específica, la composición nutricional incluye 6'SL, solo o en combinación con otras HMO, en una cantidad de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ ml a 20 mg/ml, incluyendo 0,001 mg/ml a menos de 0,25 mg/ml, incluyendo 0,01 mg/ml a menos de 0,25 mg/ml, incluyendo de más de 0,4 mg/ml a 20 mg/ml, e incluyendo de 0,1 mg/ml a 0,5 mg/ml.

En una realización, 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, incluyendo desde el 88 % (en peso total de HMO) hasta el 96 % (por peso total de HMO), que incluye desde el 88 % (por peso total de HMO) hasta el 100 % (por peso total de HMO), e incluye alrededor del 100 % (por peso total de HMO) de 6'SL.

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

En una realización, cuando la composición nutricional incluye 3'SL, la cantidad total de HMO en la composición nutricional incluye al menos aproximadamente el 85 % (por peso total de HMO) de 3'SL, incluyendo desde el 85 % (por peso total de HMO) hasta el 88 % (por peso total de HMO), incluyendo desde el 85 % (por peso total de HMO) hasta el 100 % (por peso total de HMO), e incluyendo aproximadamente el 100 % (por peso total de HMO) de 3'SL.

En una realización específica, la composición nutricional incluye LNnT, solo o en combinación con otros HMO, en una cantidad de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo 0,001 mg/ml a menos de 0,2 mg/ml, incluyendo 0,01 mg/ml a menos de 0,2 mg/ml, incluyendo de más de 0,32 mg/ml a 20 mg/ml, e incluyendo aproximadamente 2 mg/ml.

La composición nutricional puede incluir 3'FL, en combinación con otros HMO, en una cantidad de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo 0,001 mg/ml a menos de 1 mg/ml, incluyendo 0,01 mg/ml a menos de 1 mg/ml, e incluyendo desde más de 1,7 mg/ml a 20 mg/ml.

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

La composición nutricional puede incluir 2'FL, en combinación con otras HMO, en una cantidad de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo 0,001 mg/ml a menos de 2 mg/ml e incluyendo 0,01 mg/ml a menos de 2 mg/ml. La composición nutricional puede incluir 2'FL, en combinación con otras HMO, en una cantidad

de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml e incluyendo más de 2,5 mg/ml a 20 mg/ml.

La composición nutricional puede incluir 2'FL en combinación con 3'FL en una cantidad total de HMO de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluyendo de 0,01 mg/ml a 20 mg/ml.

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

En una realización adicional, la composición nutricional incluye una combinación de 6'SL, 3'SL y ácido siálico en una cantidad total de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml, incluidos aproximadamente 2 mg/ml. En esta realización, el 6'SL está presente en una cantidad del 40 % en peso del total de HMO, el 3'SL está presente en una cantidad del 10 % en peso del total de HMO, y el ácido siálico está presente en una cantidad de 50 % en peso del total de HMO.

Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA)

Además de los HMO descritos anteriormente, los productos nutricionales de la presente divulgación pueden incluir 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 las respuestas inmunes antivirales y la inflamación de amortiguación. En algunas realizaciones, el HMO o los HMO utilizados en combinación con los LCPUFA para proporcionar el efecto sinérgico son HMO ácidos.

Los LCPUFA de ejemplo para 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 araquidónico (ARA), ácido linoleico, ácido linolénico (ácido alfa linolénico) y ácido gamma-linolénico derivado de fuentes de aceite tales 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 menhaden, salmón, anchoa, bacalao, mero, atún o arenque. Los LCPUFA particularmente preferidos para uso en las composiciones nutricionales con los HMO incluyen DHA, ARA, EPA, DPA y combinaciones de 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, incluyendo menos del 2 % en peso del contenido total de grasa, e incluyendo a continuación el 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 típicamente comprenderán concentraciones totales de LCPUFA de 0,01 mM a 10 mM e incluyendo de 0,01 mM a 1 mM. Alternativamente, las composiciones nutricionales comprenden concentraciones totales de LCPUFA de 0,001 g/l a 1 g/l.

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

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

Antioxidantes

Además, las composiciones nutricionales pueden comprender uno o más antioxidantes en combinación con los HMO (y opcionalmente los LCPUFA) y los nucleótidos para proporcionar soporte nutricional, así como para reducir el estrés

oxidativo. En algunas realizaciones, la composición nutricional incluye una combinación HMO y antioxidantes de manera que la composición proporciona un beneficio sinérgico al usuario final, tal como un beneficio sinérgico en la modulación de las respuestas inmunes antivirales y la inflamación de amortiguación. En algunas realizaciones, la HMO o 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 licopeno, y combinaciones de los mismos, por ejemplo.

Como se señaló, los antioxidantes para 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 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 definen en el presente documento, se pueden usar para modular la inflamación y/o los niveles de proteína C reactiva en prematuros y recién nacidos a término.

En general, es preferible que las composiciones nutricionales comprendan al menos una de luteína, licopeno, zeaxantina, beta-caroteno para proporcionar una cantidad total de carotenoide de 0,001 µg/ml a 10 µg/ml. Más particularmente, las composiciones nutricionales comprenden luteína en una cantidad de 0,001 µg/ml a 10 µg/ml, incluyendo de 0,001 µg/ml a 0,0190 µg/ml, incluyendo de 0,001 µg/ml a 0,0140 µg/ml, y también incluyen de 0,044 µg/ml a 10 µg/ml de luteína. También es generalmente preferible que las composiciones nutricionales comprendan de 0,001 µg/ml a 10 µg/ml, de 0,001 µg/ml a 0,0130 µg/ml, incluyendo de 0,001 µg/ml a 0,0075 µg/ml de licopeno, y también de 0,0185 µg/ml a 10 µg/ml de licopeno. También es generalmente preferible que las composiciones nutricionales comprendan de 1 µg/ml a 10 µg/ml, incluyendo de 0,001 µg/ml a 0,025 µg/ml de betacaroteno, incluyendo de 0,001 µg/ml a 0,011 µg/ml de beta-caroteno, y también incluye desde 0,034 µg/ml hasta aproximadamente 10 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 sintetizados artificialmente.

Cada uno de los carotenoides en las combinaciones seleccionadas puede obtenerse a partir de cualquier fuente de material conocida o adecuada para 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. Los ejemplos no limitantes de algunas fuentes adecuadas de luteína, licopeno, betacaroteno o combinaciones de los mismos incluyen licopeno LycoVit® (disponible en BASF, Mount Olive, NJ), extracto de tomate Lyc-O-Mato® en aceite, polvo o perla forma (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® (disponibles en Cognis, Cincinnati, OH), y el betacaroteno Lucarotin® (disponible en BASF, Mount Olive, NJ).

Nucleótidos

Además de ls HMO, las composiciones nutricionales de la presente invención comprenden nucleótidos. Los nucleótidos pueden estar en forma de monofosfato, difosfato o trifosfato. Los nucleótidos pueden ser un ribonucleótido o un desoxirribonucleótido. Los nucleótidos pueden ser monoméricos, diméricos o poliméricos (incluidos el ARN y el ADN). Los nucleótidos pueden estar presentes en la composición nutricional como un ácido libre o en forma de una sal, preferiblemente una sal monosódica. La composición nutricional puede incluir una combinación de HMO y nucleótidos de modo que la composición proporcione un beneficio sinérgico para el usuario final, tal como un beneficio sinérgico en la modulación de las respuestas inmunes antivirales y la inflamación de la inflamación y/o la mejora de la integridad de la barrera intestinal.

La incorporación de nucleótidos en las composiciones nutricionales puede mejorar la integridad y/o maduración de la barrera intestinal, lo cual es beneficioso para los bebés prematuros y de término que tienen una flora intestinal menos desarrollada y, por lo tanto, una barrera intestinal de maduración más lenta.

Los nucleótidos adecuados para 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.En una realización, las composiciones nutricionales incluyen citidina 5'-monofosfato, uridina 5'-monofosfato, adenosina 5'-monofosfato, guanosina 5'-monofosfato e inosina 5'-monofosfato.En otra realización, las composiciones nutricionales incluyen citidina 5'-monofosfato, uridina 5'-monofosfato, adenosina 5'-monofosfato y guanosina 5'-monofosfato.

Los nucleótidos están presentes en los productos nutricionales en cantidades totales de nucleótidos de al menos 5 mg/l, incluyendo al menos 10 mg/l, incluyendo de 5 mg/l a 350 mg/l, incluyendo de 20 mg/l a 350 mg/l, incluyendo de 40 mg/l a 350 mg/l, incluyendo de 10 mg/l a 320 mg/l, incluyendo de 72 mg/l a 320 mg/l, incluyendo de 10 mg/l a 200 mg/l , incluyendo de 42 mg/l a 102 mg/l, incluyendo 72 mg/l, e incluyendo 320 mg/l del producto nutricional.

En una realización específica, los nucleótidos están presentes en los productos nutricionales en una cantidad total de 72 mg/l del producto nutricional y comprenden 43 % de citidina 5'-monofosfato, 18,5 % de uridina 5'-monofosfato, 16,5 % de adenosina 5'- monofosfato y 22 % de guanosina 5'-monofosfato en peso total de nucleótidos.

En una realización específica, los nucleótidos están presentes en los productos nutricionales en una cantidad total de 72 mg/l del producto nutricional y comprenden de 29 a 39 mg de citidina 5'-monofosfato; 15 a 21 mg de uridina 5'-monofosfato; 10 a 15 mg de adenosina 5'-monofosfato; y de 14 a 20 mg de guanosina 5'-monofosfato.

En una realización específica, los nucleótidos están presentes en la relación en peso de citidina 5'-monofosfato: uridina 5'-monofosfato es de 1,5: 1 a 2,6: 1; de citidina 5'-monofosfato: adenosina 5'-monofosfato es de 2: 1 a 3,9: 1; y de citidina 5'-monofosfato: guanosina 5'-monofosfato es de 1,75: 1 a 2,8: 1.

En una realización específica, cuando la composición nutricional es un polvo nutricional, los nucleótidos pueden estar presentes a un nivel de al menos aproximadamente el 0,007 %, incluido entre el 0,0078 % y el 0,1556 %, e incluyendo aproximadamente el 0,056 % (en peso del polvo nutricional), o al menos alrededor de 0,007 gramos, incluyendo de 0,0078 gramos a 0,1556 gramos, e incluyendo alrededor de 0,056 gramos de nucleótido por 100 gramos de polvo nutricional.

En otra realización específica, cuando la composición nutricional es un líquido nutricional listo para el consumo, los nucleótidos están presentes a un nivel de al menos aproximadamente el 0,001 %, incluido del 0,001 % al 0,0197 %, e incluyendo aproximadamente el 0,0071 % (en peso del líquido nutricional), o al menos aproximadamente 0,001 gramos, incluyendo de 0,001 gramos a 0,0197 gramos, e incluyendo aproximadamente 0,0071 gramos de nucleótido por 100 gramos de líquido nutricional listo para el consumo.

En otra realización específica, cuando la composición nutricional es un líquido nutricional concentrado, los nucleótidos están presentes a un nivel de al menos aproximadamente el 0,0019 %, incluido entre el 0,0019 % y el 0,0382 %, e incluyendo aproximadamente el 0,0138 % (en peso del líquido nutricional), o al menos aproximadamente 0,0019 gramos, incluyendo de 0,0019 gramos a 0,0382 gramos, e incluyendo aproximadamente 0,0138 gramos de nucleótidos por 100 gramos de líquido nutricional concentrado.

Macronutrientes

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

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 infantil prematura, fórmula infantil, etc.), forma del producto (es decir, sólido nutricional, polvo, listo para usar). líquido de alimentación, o líquido concentrado) y las necesidades dietéticas específicas del usuario previsto, tales concentraciones o cantidades generalmente se encuentran dentro de uno de los siguientes rangos incorporados, incluyendo cualquier otro ingrediente esencial de grasa, proteína y/o carbohidrato como se describe aquí.

Para las fórmulas líquidas para prematuros y lactantes a término, las concentraciones de carbohidratos generalmente oscilan entre el 5 % y el 40 %, incluyendo entre el 7 % y el 30 %, incluyendo entre el 10 % y el 25 % en peso de las fórmulas prematuras o lactantes a término; las concentraciones de grasa generalmente oscilan entre el 1 % y el 30 %, incluido entre el 2 % y el 15 %, y también entre el 3 % y el 10 % en peso de la fórmula para prematuros o lactantes a término; y las concentraciones de proteínas oscilan entre el 0,5 % y el 30 %, incluido entre el 1 % y el 15 %, y también entre el 2 % y el 10 % en peso de la fórmula prematuro o del lactante.

Para los fortificadores de leche humana líquida, las concentraciones de carbohidratos generalmente oscilan entre el 10 % y el 75 %, incluyendo entre el 10 % y el 50 %, incluso entre el 20 % y el 40 % en peso del fortificador de leche humana; las concentraciones de grasa generalmente oscilan entre el 10 % y el 40 %, incluyendo entre el 15 % y el 37 %, y también entre el 18 % y el 30 % en peso del fortificador de leche humana; y las concentraciones de proteínas oscilan entre el 5 % y el 40 %, incluido entre el 10 % y el 30 %, y también entre el 15 % y el 25 % en peso del fortificador de leche humana.

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 un porcentaje del total de calorías en la composición nutricional líquida como se establece a continuación en la siguiente tabla. Estos macronutrientes para composiciones nutricionales líquidas de la presente divulgación se formulan más típicamente dentro de cualquiera de los rangos calóricos (realizaciones AF) descritos en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término "aproximadamente").

Nutriente % Cal total.	**Realización A**	**Realización B**	**Realización C**
Carbohidratos:	0-98	2-96	10-75
Proteína:	0-98	2-96	5-70
Grasas:	0-98	2-96	20-85

	Realización D	**Realización E**	**Realización F**
Carbohidratos:	30-50	25-50	25-50
Proteína:	15-35	10-30	5-30
Grasas:	35-55	1-20	2-20

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

Nutriente % Cal total.	**Realización G**	**Realización H**	**Realización I**
Carbohidratos:	20-85	30-60	35-55
Grasas:	5-70	20-60	25-50
Proteína:	2-75	5-50	7-40

Cuando el producto nutricional es un producto prematuro en polvo o fórmula infantil a término, el componente proteico está presente en una cantidad del 5 % al 35 %, incluido del 8 % al 12 % e incluido del 10 % al 12 % en peso del producto de o término fórmula infantil; el componente graso está presente en una cantidad de 10 % a 35 %, incluyendo de 25 % a 30 %, e incluyendo de 26 % a 28 % en peso de la fórmula para prematuros o lactantes a término; y el componente de carbohidrato está presente en una cantidad de 30 % a 85 %, incluyendo de 45 % a 60 %, incluyendo de 50 % a 55 % en peso de la fórmula para prematuro o lactante.
Para los fortificadores de leche materna en polvo, el componente proteico está presente en una cantidad de 1 % a 55 %, incluyendo de 10 % a 50 %, e incluyendo de 10 % a 30 % en peso del fortificador de leche humana; el componente graso está presente en una cantidad de 1 % a 30 %, incluyendo de 1 % a 25 %, e incluyendo de 1 % a 20 % en peso del enriquecedor de leche humana; y el componente de carbohidrato está presente en una cantidad de 15 % a 75 %, incluyendo de 15 % a 60 %, incluyendo de 20 % a 50 % en peso del fortificador 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 deseado. 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, tales cantidades o concentraciones totales se formulan lo más típicamente y preferiblemente dentro de cualquiera de los rangos incorporados descritos en la siguiente tabla (cada valor numérico está precedido por el término "aproximadamente").

Nutriente % Cal total.	Realización J	Realización	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, además de los LCPUFA descritos anteriormente, comprender una fuente o fuentes adicionales de grasa. Las fuentes adicionales de grasa adecuadas para su uso en el presente documento incluyen cualquier fuente de grasa o 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.
Ejemplos no limitativos adicionales de grasas adecuadas o fuentes de las mismas para uso en los productos nutricionales descritos en este documento incluyen aceite de coco, aceite de coco fraccionado, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de cártamo alto en ácido oleico, ácidos oleicos (EMERSOL 6313 OLEIC ACID, Cognis Oleochemicals, Malasia), aceite de 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, aceite de canola, aceites marinos, aceites de pescado, aceites fúngicos, aceites de algas, aceites de semillas de algodón, y combinaciones de los mismos.

Proteína

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden opcionalmente comprender además proteína. Cualquier fuente de proteína que sea adecuada para uso en composiciones nutricionales orales y que sea compatible con los elementos y características esenciales de dichos productos es adecuada para uso en las composiciones nutricionales.

Los ejemplos no limitativos de proteínas adecuadas o fuentes de las mismas para 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), vegetales (por ejemplo, soja) o combinaciones de los mismos. Los ejemplos no limitativos de tales proteínas incluyen aislados de proteínas de la leche, concentrados de proteínas de la leche como se describe en el presente documento, aislados de proteínas de caseína, caseína hidrolizada extensivamente, proteína de suero de leche, caseinatos de sodio o calcio, leche de vaca entera, leche parcial o completamente desgrasada, aislados de proteína de soja, soja concentrados de proteínas, y así sucesivamente. En una realización específica, 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 pueden comprender además opcionalmente cualquier hidrato de carbono que sea adecuado para su uso en un producto nutricional oral y que sea compatible con los elementos y características esenciales de dichos productos.

Los ejemplos no limitantes de carbohidratos adecuados o fuentes de los mismos para uso en los productos nutricionales descritos aquí pueden incluir maltodextrina, almidón o almidón de maíz hidrolizado o modificado, polímeros de glucosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, carbohidratos derivados del arroz, carbohidratos derivados de guisantes, carbohidratos derivados de patatas, 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, estevia) y combinaciones 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 pueden comprender además 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 objetivo. Muchos de estos ingredientes opcionales son conocidos o adecuados para el 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 lo esencial y otros ingredientes en la forma del producto seleccionado.

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

Las composiciones nutricionales pueden comprender además un agente edulcorante, que incluye preferiblemente al menos un alcohol de azúcar tal como maltitol, eritritol, sorbitol, xilitol, manitol, isolmalta y lactitol, y también incluye preferiblemente al menos un edulcorante artificial o de alta potencia tal como acesulfame K, aspartamo, sucralosa, sacarina, estevia y tagatosa. Estos agentes edulcorantes, especialmente como una combinación de un alcohol de azúcar 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 favor 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 oscilar entre al menos el 0,01 %, incluido entre el 0,1 % y el 10 %, y también entre el 1 % y el 6 % en peso del producto nutricional. Las concentraciones opcionales de edulcorantes artificiales pueden variar de 0,01 %, incluyendo de 0,05 % a 5 %, incluyendo también de 0,1 % a 1,0 % en peso del producto nutricional.

Se puede incluir un agente fluido 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 hacer que una forma de realización de polvo fluya fácilmente desde su recipiente. Cualquier agente conocido de fluir o antiaglomerante que sea conocido o, por lo demás, adecuado para usar en forma de polvo o producto nutricional es adecuado para su uso en el presente documento, cuyos ejemplos no limitativos incluyen fosfato tricálcico, silicatos y combinaciones de los mismos. La concentración del agente que fluye o el agente antiaglomerante en la composición nutricional varía según la forma del producto, los otros ingredientes seleccionados, las propiedades de flujo deseadas, etc., pero lo más típicamente posible varía de 0,1 % a 4 %, incluyendo 0,5 % a 2 %, en peso de la composición nutricional.

También se puede incluir un estabilizante en las composiciones nutricionales. Cualquier estabilizador que sea conocido o adecuado para el uso en una composición nutricional también es adecuado para su uso en el presente documento, algunos ejemplos no limitativos de los cuales incluyen gomas como la goma xantano. El estabilizador puede representar de 0,1 % a 5,0 %, incluyendo de 0,5 % a 3 %, incluyendo de 0,7 % a 1,5 %, en peso de la composición nutricional.

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

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

Métodos de elaboración

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden prepararse mediante cualquier técnica de fabricación conocida o eficaz 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 pueden ser aplicadas fácilmente por un experto en la técnica a las composiciones nutricionales descritas en este documento.

Las composiciones nutricionales de la presente divulgación se pueden preparar por lo tanto mediante cualquiera de una variedad de métodos de formulación o fabricación conocidos o, de lo contrario, 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-MIN) y una suspensión de proteína en agua (PIW).La suspensión de PIF se forma calentando y mezclando un aceite (por ejemplo, aceite de canola, aceite de maíz, etc.) y luego añadiendo un emulsionante (por ejemplo, lecitina), vitaminas liposolubles y una porción de la proteína total (por ejemplo, concentrado de proteína de leche, etc.) con calor continuo y agitación. La suspensión de CHO-MIN se forma agregando con agitación caliente al agua: minerales (por ejemplo, citrato de potasio, fosfato de dipotasio, citrato de sodio, etc.), minerales de traza y ultratraza (premezcla de TM/UTM), agentes espesantes o de suspensión (por ejemplo, avicel, gelano, carragenina).La suspensión CHO-MIN resultante se mantiene durante 10

minutos con calor continuo y agitación antes de añadir minerales adicionales (por ejemplo, cloruro de potasio, carbonato de magnesio, yoduro de potasio, etc.) y los carbohidratos (por ejemplo, HMOs, fructooligosacárido, sacarosa, jarabe de maíz, etc.).La suspensión de PIW se forma luego mezclando con calor y agitando la proteína restante.

Las suspensiones resultantes se mezclan luego con agitación calentada y el pH se ajusta a 6,6-7,0, después de lo cual la composición se somete a un proceso de alta temperatura y corto tiempo (HTST) durante el cual la composición se trata con calor, se emulsiona y se homogeneiza, y luego se deja enfriar. Se agregan vitaminas solubles en agua y ácido ascórbico, el pH se ajusta al rango deseado si es necesario, se agregan sabores y se agrega agua para alcanzar el nivel sólido total deseado. La composición se envasa asépticamente para formar una emulsión nutricional envasada asépticamente. Esta emulsión puede diluirse después aún más, tratarse con calor y empaquetarse formando un líquido listo para usar o concentrado, o puede tratarse con calor y procesarse posteriormente y empaquetarse en forma de un polvo reconstituible, p. ej., secado por pulverización, mezclado en seco o aglomerado.

El sólido nutricional, tal como un polvo nutricional secado por pulverización o un polvo nutricional mezclado en seco, puede prepararse por cualquier colección de técnica conocida o efectiva, adecuada para preparar y formular un polvo nutricional.

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 métodos y técnicas de secado por pulverización diferentes para uso en el campo de la nutrición, todos los cuales son adecuados para uso en la fabricación de los polvos nutricionales de secado por pulverización de la presente invención.

Un método 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 luego secar mediante pulverización la suspensión o líquido para producir un polvo nutricional secado por pulverización. El método 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.

Otros métodos adecuados para hacer productos nutricionales se describen, por ejemplo, en la patente de EE. UU. N.º 6.365.218 (Borschel, et al.) la patente de EE.UU. N.º 6.589.576 (Borschel, et al.), la patente de EE.UU. N.º 6.306.908 (Carlson, et al.), la solicitud patente de EE.UU. N.º 20030118703 A1 (Nguyen, et al.), cuyas descripciones se incorporan en el presente documento por referencia en la medida en que son coherentes con el presente documento.

Métodos de uso

Las composiciones nutricionales 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, infante, 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 tener riesgo de contraer la enfermedad o afección (es decir, puede en realidad aún no tienen la enfermedad o condición, pero tienen un riesgo elevado en comparación con la población general por padecerla debido a ciertas condiciones, antecedentes familiares, etc.)Si el bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño o el niño realmente tiene la enfermedad o afección, o está en riesgo o es susceptible a la enfermedad, el bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño o el niño se clasifica aquí como asistencia "en necesidad de" en el tratamiento y la lucha contra la enfermedad o condición. Por ejemplo, el bebé prematuro, el bebé, el niño pequeño o el niño en realidad pueden tener una inflamación respiratoria o estar en riesgo de contraer una inflamación respiratoria (susceptible de padecer una inflamación respiratoria) debido a antecedentes familiares u otras afecciones médicas, por ejemplo. Ya sea que el infante, infante, niño pequeño o niño prematuro realmente tenga la enfermedad o afección, o si solo está en riesgo o es susceptible de contraer la enfermedad o afección, está dentro del alcance de la presente divulgación ayudar al infante prematuro, infante, niño pequeño o niño con las composiciones nutricionales descritas en este documento.

Con base en los subconjuntos o subclases específicos de los individuos identificados anteriormente (es decir, el subconjunto o subclase de individuos que "necesitan" asistencia para tratar una o más enfermedades específicas o afecciones específicas mencionadas aquí), no todos los bebés prematuros, bebés, niños pequeños y los niños caerán dentro del subconjunto o subclase de bebés prematuros, bebés, niños pequeños y niños que padecen ciertas enfermedades o afecciones.

Las composiciones nutricionales que comprenden HMO, solas o en combinación con uno o más componentes adicionales, pueden proporcionar una fuente nutricional para reducir la inflamación, como la inflamación respiratoria (por ejemplo, la inflamación inducida por el virus sincicial respiratorio), la inflamación entérica y la 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 pueden proporcionar crecimiento y maduración de las células epiteliales intestinales en un bebé. La administración de las composiciones nutricionales, incluidas las HMO y los nucleótidos, puede activar aún más 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. Además, el uso de HMO en combinación con nucleótidos en composiciones nutricionales como se describe en este documento reduce el crecimiento de rotavirus entérico y, por lo tanto, reduce las infecciones entéricas inducidas por rotavirus. 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 imita más estrechamente a sus beneficios.

Junto con un mejor crecimiento y maduración del sistema inmunitario del bebé como se describió anteriormente, el uso de composiciones nutricionales también puede funcionar como un modulador inmunitario, reduciendo así la inflamación inducida por infección en bebés, niños pequeños y niños, como la infección inducida por virus respiratorios, y en particular, la inflamación inducida por RSV y otras enfermedades inflamatorias mediadas por infección.

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 condición metabólica en la cual hay una mayor producción y acumulación de biomoléculas oxidadas como los peróxidos de lípidos y sus catabolitos, carbonilos de proteína 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 lactante, 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 lactante, incluso en ausencia de un virus. Esta producción da como resultado una inmunidad mejorada para prevenir más la infección microbiana y reducir el crecimiento de virus. Las citoquinas derivadas de monocitos producidas por la administración de las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden incluir, por ejemplo, interleuquina-10, interleuquina-8, interleuquina-1α, interleuquina-1β, interleuquina-1ra y combinaciones de las mismas.

Otro beneficio de utilizar HMO en composiciones nutricionales es que se ha descubierto que las HMO pueden modular la producción de IP-10, que es una quimioquina 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 VRS en niños y los niveles séricos de IP-10. En consecuencia, una disminución en IP-10 señala una disminución en la severidad de la infección por RSV. La producción de IP-10 se reduce al nivel encontrado en los controles no infectados.

Junto con la reducción de IP-10, se ha encontrado que las 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 los 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 conducir a una reducción del estrés oxidativo y la inflamación en el bebé.

Además, se ha encontrado que la combinación de HMO y nucleótidos disminuye la expresión del ARNm de NSP4, lo que señala una disminución en la replicación del rotavirus.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran realizaciones y/o características específicas de las composiciones nutricionales de la presente divulgación. Los ejemplos se proporcionan 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 otra cosa.

Las composiciones ejemplificadas son composiciones nutricionales estables en almacenamiento preparadas de acuerdo con los métodos 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 con retorta.

Ejemplos 1-5:

Los ejemplos 1-5 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	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
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 rico en ácido 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
Concentrado de proteína de suero	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 cálcico	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
Estabilizador	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 vitamina/mineral	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro sódico	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

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	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
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 rico en ácido 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
Concentrado de proteína de suero	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 cálcico	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
Estabilizador	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 vitamina/mineral	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro sódico	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 11-15

Los ejemplos 11-15 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.11	Ej.12	Ej.13	Ej.14	Ej.15
Agua	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
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 rico en ácido 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
Concentrado de proteína de suero	12,20	12,20	12,20	12,20	12,20
Citrato de potasio	1,277	1,277	1,277	1,277	1,277
Carbonato cálcico	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 vitamina/mineral	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g
10 % de licopeno en aceite de girasol	2,10 g	2,10 g	2,10 g	2,10 g	2,10 g
Licopeno	209,50 mg	209,50 mg	209,50 mg	209,50 mg	209,50 mg
Aceite de girasol con alto contenido de oleico	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
5 % de luteína en aceite de maíz	1,76 g	1,76 g	1,76 g	1,76 g	1,76 g
Luteína	87,99 mg	87,99 mg	87,99 mg	87,99 mg	87,99 mg
Aceite de maíz	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
30 % de B-caroteno en aceite de maíz	153,63 mg	153,63 mg	153,63 mg	153,63 mg	153,63 mg
Beta-caroteno	46,09 mg	46,09 mg	46,09 mg	46,09 mg	46,09 mg
Aceite de maíz	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
Aceite de girasol con alto contenido de oleico	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
Cloruro sódico	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

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	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
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 rico en ácido 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'-fucosilctosa (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
Concentrado de proteína de suero	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 cálcico	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
Estabilizador	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 vitamina/mineral	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Licopeno	132,00 mg	132,00 mg	132,00 mg	132,00 mg	132,00 mg
Luteína	55,44 mg	55,44 mg	55,44 mg	55,44 mg	55,44 mg
Beta-caroteno	29,04 mg	29,04 mg	29,04 mg	29,04 mg	29,04 mg
Cloruro sódico	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

Los ejemplos 21-25 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.21**	**Ej.22**	**Ej.23**	**Ej.24**	**Ej.25**
Agua	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
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 rico en ácido 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'-fucosilctosa (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
Concentrado de proteína de suero	12,20	12,20	12,20	12,20	12,20
Citrato de potasio	1,277	1,277	1,277	1,277	1,277
Carbonato cálcico	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 vitamina/mineral	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g	41,90 g
10 % de licopeno en aceite de girasol	2,10 g	2,10 g	2,10 g	2,10 g	2,10 g
Licopeno	209,50 mg	209,50 mg	209,50 mg	209,50 mg	209,50 mg
Aceite de girasol con alto contenido de oleico	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
5 % de luteína en aceite de maíz	1,76 g	1,76 g	1,76 g	1,76 g	1,76 g
Luteína	87,99 mg	87,99 mg	87,99 mg	87,99 mg	87,99 mg
Aceite de maíz	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
30 % de B-caroteno en aceite de maíz	153,63 mg	153,63 mg	153,63 mg	153,63 mg	153,63 mg
Beta-caroteno	46,09 mg	46,09 mg	46,09 mg	46,09 mg	46,09 mg
Aceite de maíz	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
Aceite de girasol con alto contenido de oleico	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
Cloruro sódico	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 (que no ilustran la invención)

Los ejemplos 26-30 ilustran los líquidos fortificadores 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	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
Leche sin grasa (28 % de sólidos)	353	353	353	353	353

Sólidos de Jarabe de Maíz	85,3	85,3	85,3	85,3	85,3
Triglicéridos de cadena media	24	24	24	24	24
Concentrado de proteína de suero de la leche	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'-fucosilctosa (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 cálcico	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

Ejemplos 31-35

Los ejemplos 31-35 ilustran los 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.

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 rico en ácido 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
Concentrado de proteína de suero	51,08	51,08	51,08	51,08	51,08
Citrato de potasio	9,168	9,168	9,168	9,168	9,168
Carbonato cálcico	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 vitamina/mineral	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 sódico	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	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					

Ejemplos 36-40

Los ejemplos 36-40 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.36**	**Ej.37**	**Ej.38**	**Ej.39**	**Ej.40**
Agua	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
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 rico en ácido 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)	0,0379	0,0379	0,0379	0,0379	0,0379
3' Sialil-lactosa (3'SL)	0,0095	0,0095	0,0095	0,0095	0,0095
Ácido siálico	0,0474	0,0474	0,0474	0,0474	0,0474
Galactooligosacáridos (GOS)	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63
Concentrado de proteína de suero	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 cálcico	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
Estabilizador	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 vitamina/mineral	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro sódico	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 41-45

Los ejemplos 41-45 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.41**	**Ej.42**	**Ej.43**	**Ej.44**	**Ej.45**
Agua	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.	C.S.
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 rico en ácido 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
Lacto-N-neotetraosa (LNnT)	0,0948	0,090	0,085	9,479	9,005
Galactooligosacáridos (GOS)	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63
Concentrado de proteína de suero	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 cálcico	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
Estabilizador	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 vitamina/mineral	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
Vitamina A, D_3, E, K_1premezcla	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 de carotenoides mixta	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g	26,40 g
Cloruro sódico	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					

Ejemplo 46 (no de acuerdo con la presente invención)

En este ejemplo, se analiza el efecto de los oligosacáridos (HMO) de la leche humana purificada 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 1.000 unidades/ml de uno de los tres virus respiratorios:(1) virus sincicial respiratorio (VSR); (2) virus de la parainfluenza humana (HPIV3); o (3) el virus de la influenza H1N1 con una de las 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).Las HMO se agregan en concentraciones de 1 mg/ml o 10 mg/ml.

Las actividades antivirales de los diversos HMO en los virus respiratorios se evalúan y los resultados se muestran en la siguiente tabla:

HMO	**IC50 (mg HMO/ml)**		
	VSR	**HPIV3**	**Gripe H1N1**
3'SL	> 10	> 10	~ 5
6'SL	> 10	> 10	~ 10
3'FL	~ 5	~ 2	~ 5
2'FL	> 10	> 10	~ 10
LNnT	> 10	NT	> 10
SA	NT	~ 2	~ 5
NT = no analizado			

Los resultados muestran que 3'FL, a una concentración de 1 mg/ML (IC50 ~2-5 mg/ML), tiene actividad antiviral para los tres virus respiratorios. Este resultado es inesperado, ya que los informes anteriores publicados solo muestran formas de oligosialiladas que 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 47 (no de acuerdo con la presente invención)

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 de 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 el stock de virus. Durante el cultivo y expansión del virus inicial 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 acoplado con un anticuerpo secundario de IgG de ratón biotinilado. Para visualizar los focos celulares infectados por el virus, el desarrollo del color se realiza utilizando estrepavidina HRP (ABC de Vector Laboratories, Inc.). Aunque el número total de focos de virus parece ser proporcional a la concentración de virus infeccioso, 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 prolongada, el ensayo FFU se refina aún más variando la concentración del virus y aplicando un medio de recubrimiento de goma 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, todavía se cuantifican con facilidad 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 varias HMO para la capacidad de bloquear la infectividad del virus H1N1.Específicamente, los HMO se agregan, en concentraciones de 0,01 mg/ml, 0,1 mg/ml, 1,0 mg/ml y 10 mg/ml, a la suspensión de virus inoculante, se incuban a 37 °C durante una hora y luego se agregan a células monocapa MDCK. Esta mezcla se deja unir a la capa celular durante treinta minutos a 37 °C. La capa de células se lava luego, y las células se incuban más durante aproximadamente 18-24 horas antes de fijarse y procesarse para la tinción inmunocitoquímica. Los resultados se recogen 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 48 (no de acuerdo con la presente invención)

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

Los lechones prematuros se cosechan 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 comercialmente de 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 próximas 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 extrae 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 comercialmente (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 0 a 6 horas después de la alimentación. GSH permanece más bajo en el grupo de control 24 horas después de EN. En contraste, los lechones alimentados con la composición de una combinación de HMO tienen un patrón de niveles de GSH en el plasma sanguíneo que son comparables a los lechones de calostro.

Ejemplo 49 (no de acuerdo con la presente invención)

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 agrega 3'SL o 6'SL, en concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml o 0,5 mg/ml a células mononucleares de sangre periférica fresca y se incuba a 37 °C en 5 % de CO2 para pretratar células durante aproximadamente 24 horas. Se agrega LNnT, a concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, o 1 mg/ml a células mononucleares de sangre periférica nuevas y se incuba a 37 °C en CO2 al 5 % para pretratar las células durante aproximadamente 24 horas. La lactosa se incluye como un 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. Algunas variables se incuban con RSV a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,1 durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en 5 % en CO2.Las variables de control no infectadas se incuban con medio durante aproximadamente 1 hora a 37 °C en 5 % de CO2.Los sobrenadantes se recogen a las 24 y 48 horas después de la infección.

Las citoquinas se miden en sobrenadantes para cada variable a las 24 y 48 horas para evaluar los efectos de las HMO en la respuesta inmune 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 FIGS. 3 y 4 para 3'SL y 6'SL, y en las FIGS. 5 y 6 para LNnT.IP-10 es una quimioquina CXC que atrae, se une y activa el receptor CXCR3 en células asesinas naturales y células T de memoria. La IP-10 se expresa mediante monocitos y varias otras células, y es inducida por el interferón. Existe una correlación positiva entre la gravedad de la enfermedad clínica por VSR 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 en suero. Por lo tanto, una disminución en IP-10 señala una disminución en la severidad de la enfermedad con RSV experimentada.

Los resultados de IP-10 para 3'SL y 6'SL se detallan en las FIGS. 3 y 4 y muestran cierta variabilidad en la respuesta del donante, pero sorprendentemente, 6'SL regula claramente hacia abajo IP-10 en variables infectadas por virus en ambos donantes. Tenga en cuenta que 6'SL puede reducir IP-10 a niveles que se encuentran en los controles no infectados.3'SL no es efectivo en el Donante B, pero regula hacia abajo IP-10 inducido por RSV en el Donante E. Estos datos muestran que tanto el 3'SL como el 6'SL amortiguan IP-10 inducido por RSV, pero ese 6'SL es más efectivo en la regulación negativa 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 IP-10 en algunos individuos.

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

En las FIGS. 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 FIGS. 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 células T CD8+ activadas, por células 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 unitaria de endotoxinas emparejadas diferencia claramente que el aumento en IL-10 no se debe a la presencia de niveles muy bajos de endotoxinas en 6'SL o 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 para reducir la inflamación inducida por el virus, medida por una disminución en 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-1β, interferón-γ, IL-8, IL-1α, IL-1β, 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-1β, Interferón-γ, IL-8 e 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-1β, interferón-γ, IL-8, IL-1α, IL-1β e IL-1ra.

Ejemplo 50

En este Ejemplo, se demuestra la capacidad de la combinación de HMO y nucleótidos para reducir la replicación del rotavirus. Específicamente, se analiza el tratamiento con HMO y nucleótidos dentro del lumen ileal de los lechones sanos e infectados con rotavirus de forma aguda.

Dos grupos de lechones (ambos n = 9) se alimentan desde la edad de 48 horas hasta la edad de 21 días, ya sea una fórmula de bajo nucleótido que comprende aproximadamente 72 mg/l de una mezcla de nucleótidos o una fórmula de alto nucleótido que comprende aproximadamente 320 mg/l de una mezcla de nucleótido.

En el día 21, se realiza una laparotomía de la línea media y se aíslan seis asas de íleo in situ. Cada bucle tiene una longitud de aproximadamente 10 cm y está seguido por un segmento entre bucles de aproximadamente 2 cm. La ligadura se lleva a cabo mediante una ligadura circunferencial intestinal a través del mesenterio sin dañar las arcadas vasculares mesentéricas ampliamente visibles y, por lo tanto, manteniendo un suministro completo de sangre para los bucles y los segmentos entre bucles.

Los siguientes tratamientos se inyectan en los bucles: medios; LNnT; una mezcla de HMO ácida que comprende aproximadamente 40 % en peso de 6'SL, aproximadamente 10 % en peso de 3'SL y aproximadamente 50 % en peso de ácido siálico; medios y rotavirus; LNnT y rotavirus; y la mezcla ácida de HMO que comprende aproximadamente 40 % en peso de 6'SL, aproximadamente 10 % en peso de 3'SL y aproximadamente 50 % en peso de ácido siálico y rotavirus. En cada tratamiento que contiene HMO, los HMO se incluyen en una concentración total de aproximadamente 2 mg/ml de solución de tratamiento. En cada grupo que contiene rotavirus, el rotavirus se incluye

en una concentración de aproximadamente 107 unidades formadoras de focos en la solución de tratamiento. Cada bucle se trata durante 6 horas, y los productos de transcriptasa inversa postratamiento de las células de la mucosa ilíaca se analizan mediante PCR cuantitativa en tiempo real en los ensayos de expresión del gen TaqMan de los genes diana NSP4, IL-8 y TNF-α. Se utiliza la proteína ribosomal de ADNc L19 de referencia (RPL19) como control endógeno. Los niveles de expresión de los genes de interés se estandarizan al ARNm de RPL19 y se expresan como diferencias de pliegues que corresponden a una relación con el valor medio para el grupo de control.

Como se muestra en la FIG. 11, los bucles tanto del grupo alimentado con una fórmula de bajo nucleótido como del grupo alimentado de una fórmula de alto nucleótido que se tratan con LNnT y rotavirus o con la mezcla ácida de HMO y rotavirus tienen una expresión reducida de NSP4, lo que indica una menor replicación del rotavirus, en comparación con Bucles tratados con RV y medios (es decir, grupos no tratados con HMO).Además, como puede verse en la FIG. 11, sorprendentemente, hubo una reducción más significativa en la expresión de NSP4 en los bucles del grupo alimentado con la fórmula de nucleótidos bajos en comparación con los bucles del grupo alimentado con la fórmula de nucleótidos altos. Además, los bucles ileales no tratados con rotavirus no muestran expresión de NSP4, y no hay diferencia en la expresión del ARNm de citoquinas en la mucosa ileal analizada por bucle o tratamiento dietético. Como tal, se puede concluir que tanto los HMO neutros (es decir, LNnT) como los HMO ácidos (es decir, 3'SL, 6'SL y ácido siálico) en combinación con nucleótidos, incluso en un nivel bajo, reducen la replicación del rotavirus.

REIVINDICACIONES

1. Una fórmula pediátrica sintética para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección inducida por rotavirus en un bebé, niño pequeño o niño, donde la fórmula pediátrica sintética comprende desde 0,001 mg/ml hasta 20 mg/ml de un oligosacárido de leche humana y de 5 mg/l a 350 mg/l de un nucleótido, donde el oligosacárido de la leche humana comprende de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml de 3'-sialil-lactosa, 6'-sialil-lactosa, ácido siálico y combinaciones de los mismos o de 0,001 mg/ml a 20 mg/ml de lacto-N-neotetraosa.

2. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el oligosacárido de la leche humana es lacto-N-neotetraosa.

3. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el oligosacárido de la leche humana se selecciona del grupo que consiste en 3'-sialil-lactosa, 6'-sialil-lactosa, ácido siálico y combinaciones de los mismos.

4. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 3, donde el oligosacárido de la leche humana comprende 40 % en peso de 6'-sialil-lactosa, 10 % en peso de 3'-sialil-lactosa y 50 % en peso de ácido siálico.

5. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el nucleótido se selecciona del grupo que consiste en citidina 5'-monofosfato, uridina 5'-monofosfato, adenosina 5'-monofosfato, guanosina 5'-monofosfato, y combinaciones de los mismos.

6. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde el nucleótido comprende 43 % de citidina 5'-monofosfato, 18,5 % de uridina 5'-monofosfato, 16,5 % de adenosina 5'-monofosfato y 22 % de guanosina 5'-monofosfato.

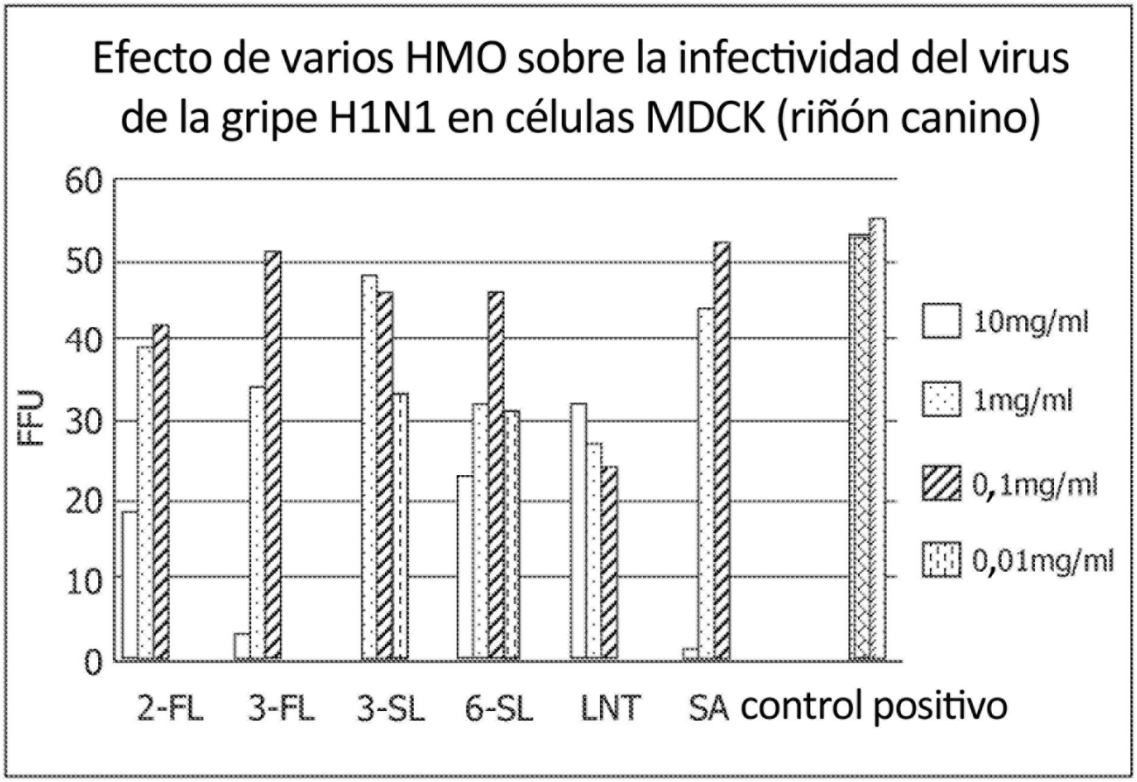
7. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde el nucleótido comprende citidina 5'-monofosfato en una concentración de 29-39 mg/l, uridina 5'-monofosfato en una concentración de 15-20 mg/l, adenosina 5 ' -monofosfato en una concentración de 10-15 mg/l, y guanosina 5'-monofosfato en una concentración de 14-20 mg/l.

8. La fórmula pediátrica sintética para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, donde la relación en peso de citidina 5'-monofosfato a uridina 5'-monofosfato es de 1,5:1 a 2,6:1, la relación en peso de citidina 5'-monofosfato a adenosina 5'-monofosfato es de 2:1 a 3,9:1, y la relación en peso de citidina 5'-monofosfato a guanosina 5'-monofosfato es de 1,75:1 a 2,8:1.

9. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde los nucleótidos están presentes en una concentración de 40 mg/l a 320 mg/l.

10. La fórmula pediátrica sintética para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde los nucleótidos están presentes en una concentración de 72 mg/l a 320 mg/l.

FIG. 1



Control de virus infeccioso = ~52-55 FFU

FIG. 2

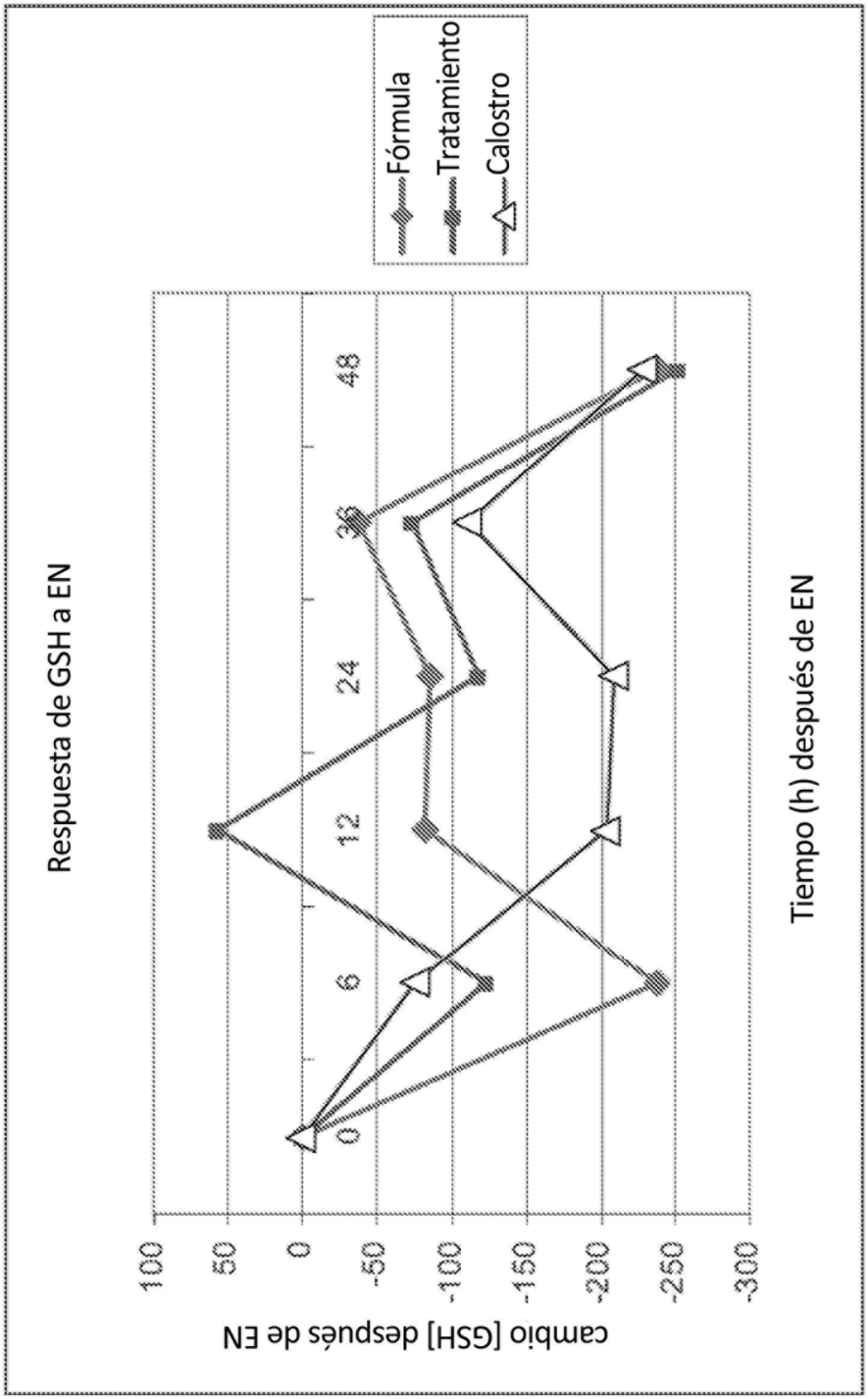

Respuesta de GSH a EN
cambio [GSH] después de EN
100
50
0
-50
-100
-150
-200
-250
-300
0
6
12
24
36
48
Tiempo (h) después de EN
Fórmula
Tratamiento
Calostro

FIG. 3

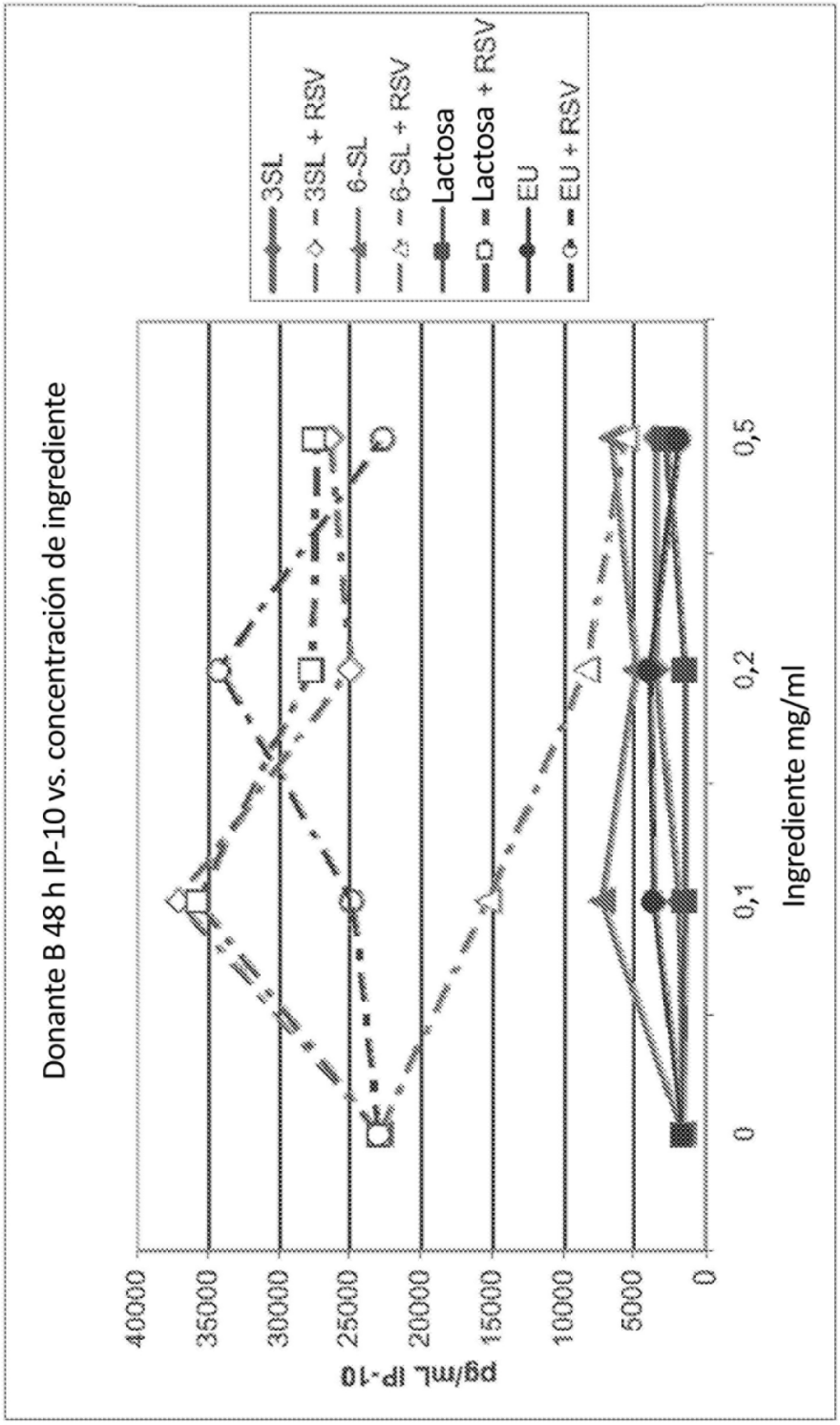

Donante B 48 h IP-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IP-10
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
0
0,1
0,2
0,5
Ingrediente mg/ml
3SL
3SL + RSV
6-SL
6-SL + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 4

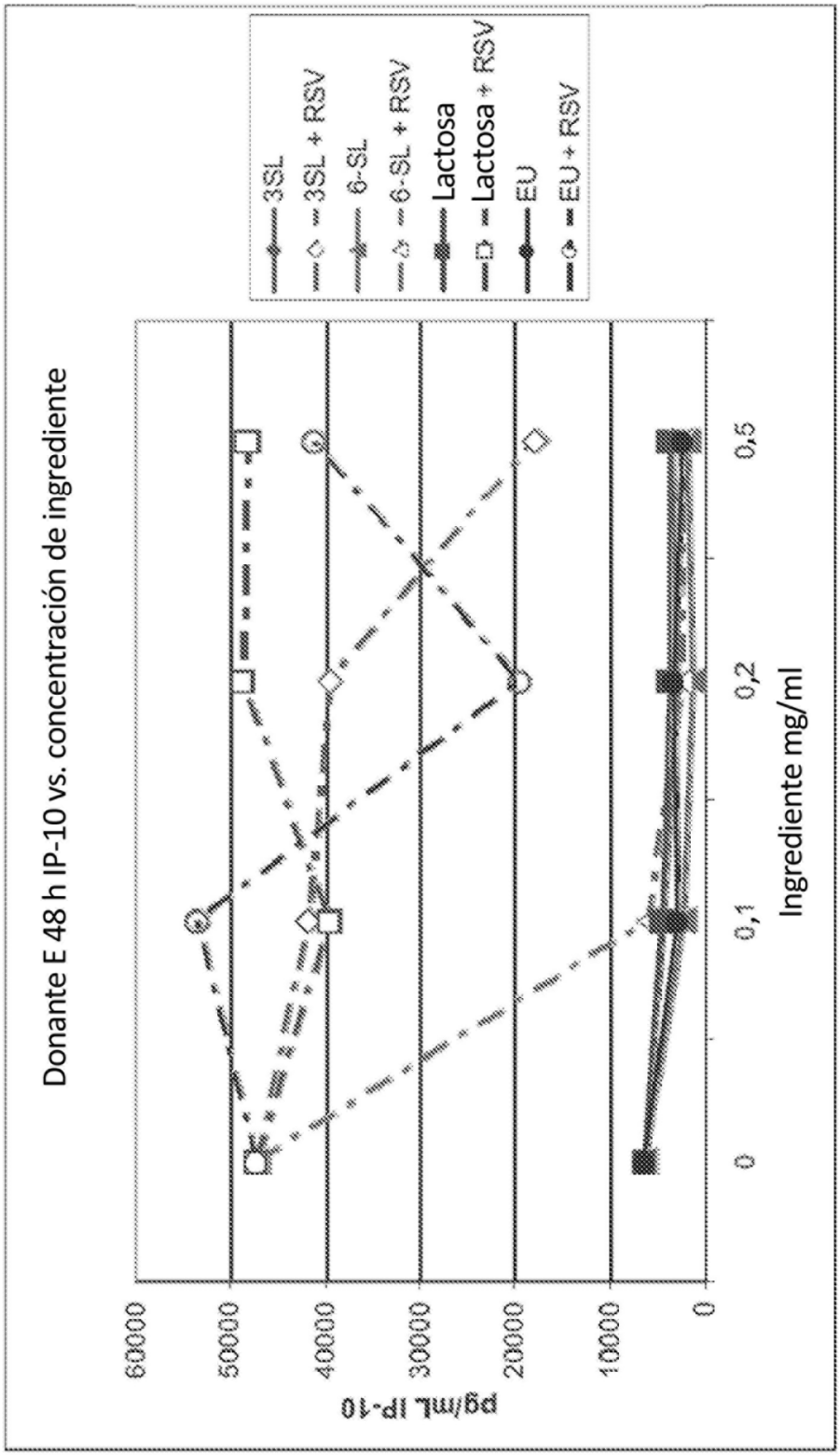

Donante E 48 h IP-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IP-10
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
0,1
0,2
0,5
Ingrediente mg/ml
3SL
3SL + RSV
6-SL
6-SL + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 5

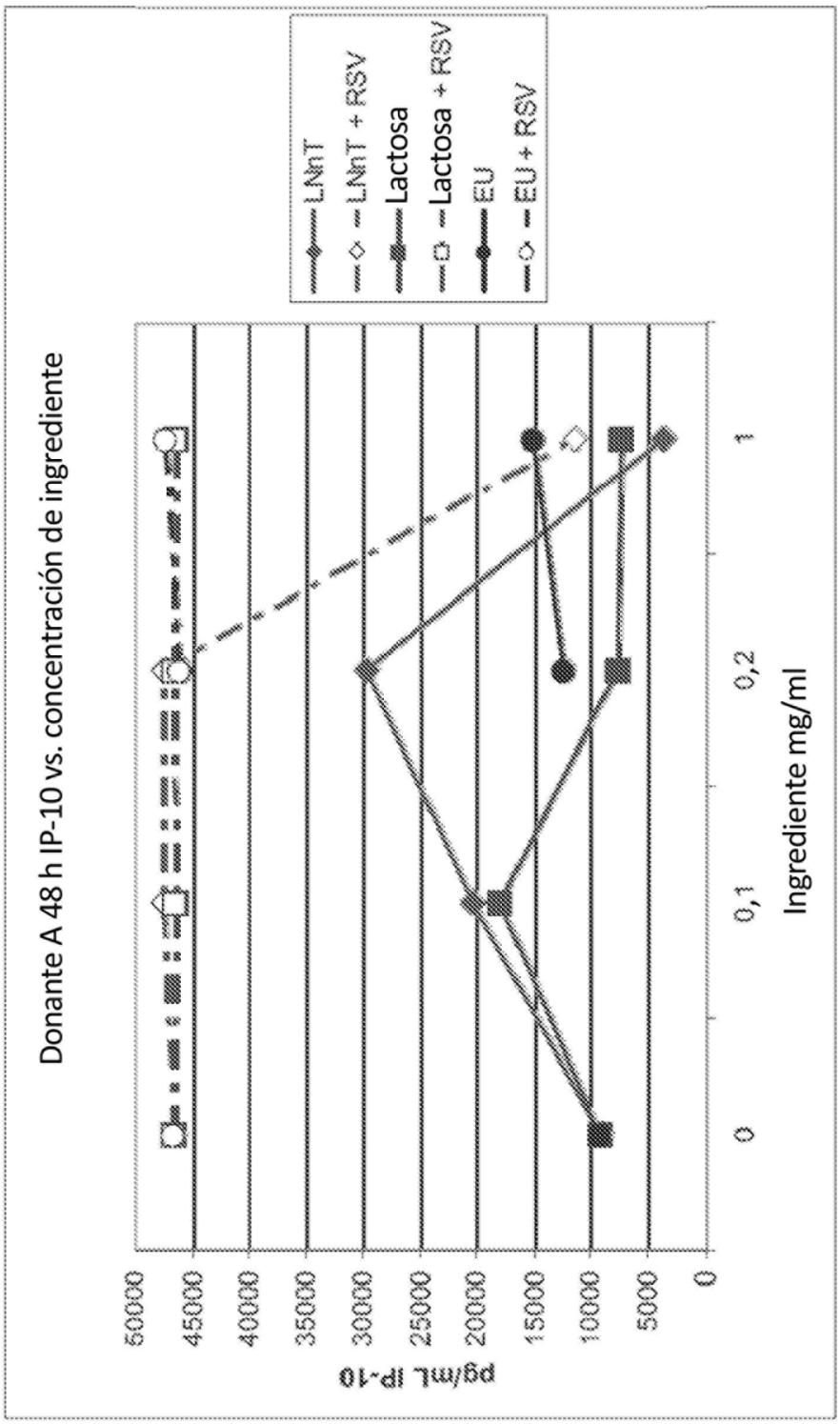

Donante A 48 h IP-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IP-10
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
0
0,1
0,2
1
Ingrediente mg/ml
LNnT
LNnT + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 6

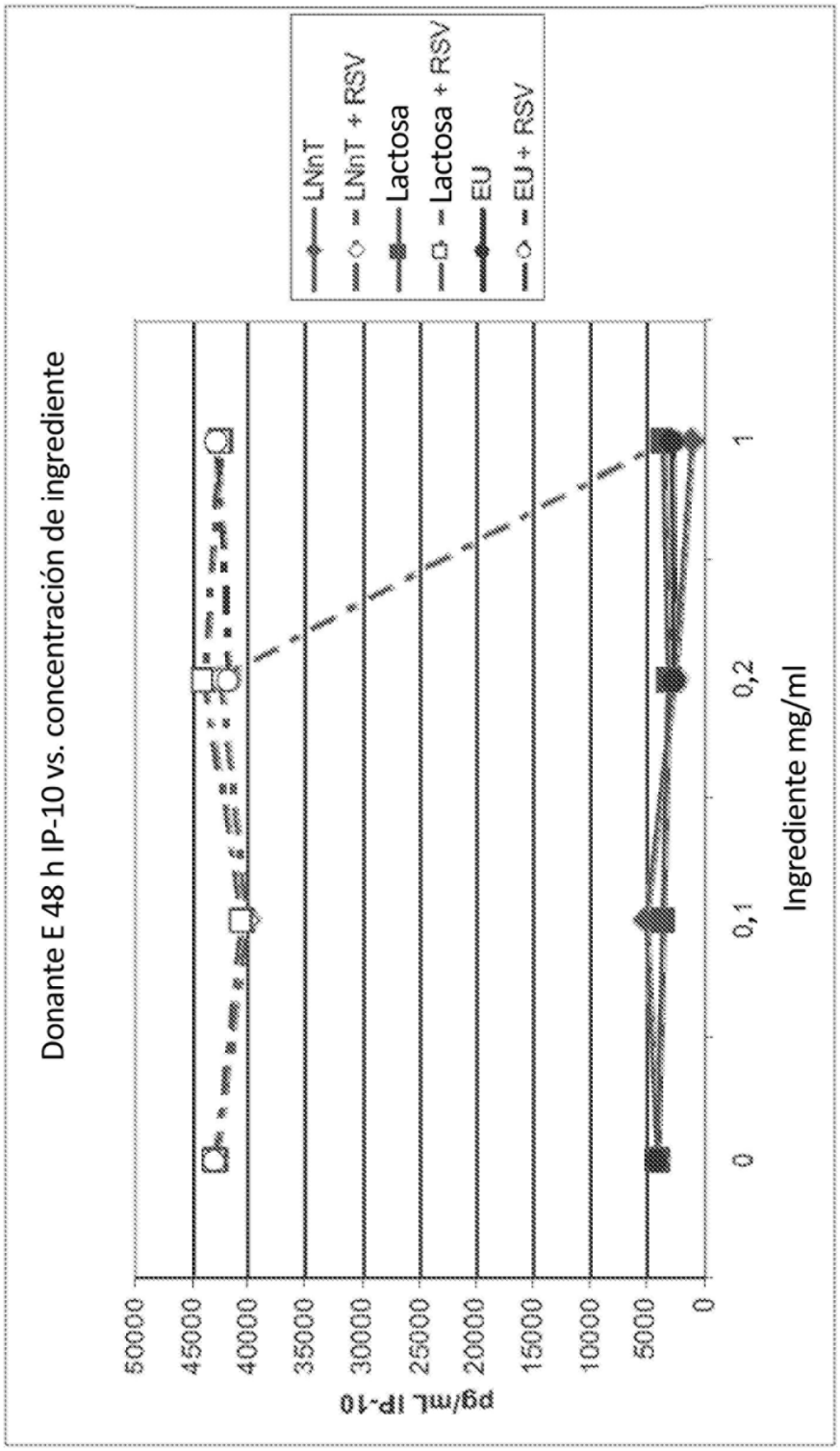

Donante E 48 h IP-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IP-10
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
0
0,1
0,2
1
Ingrediente mg/ml
LNnT
LNnT + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 7

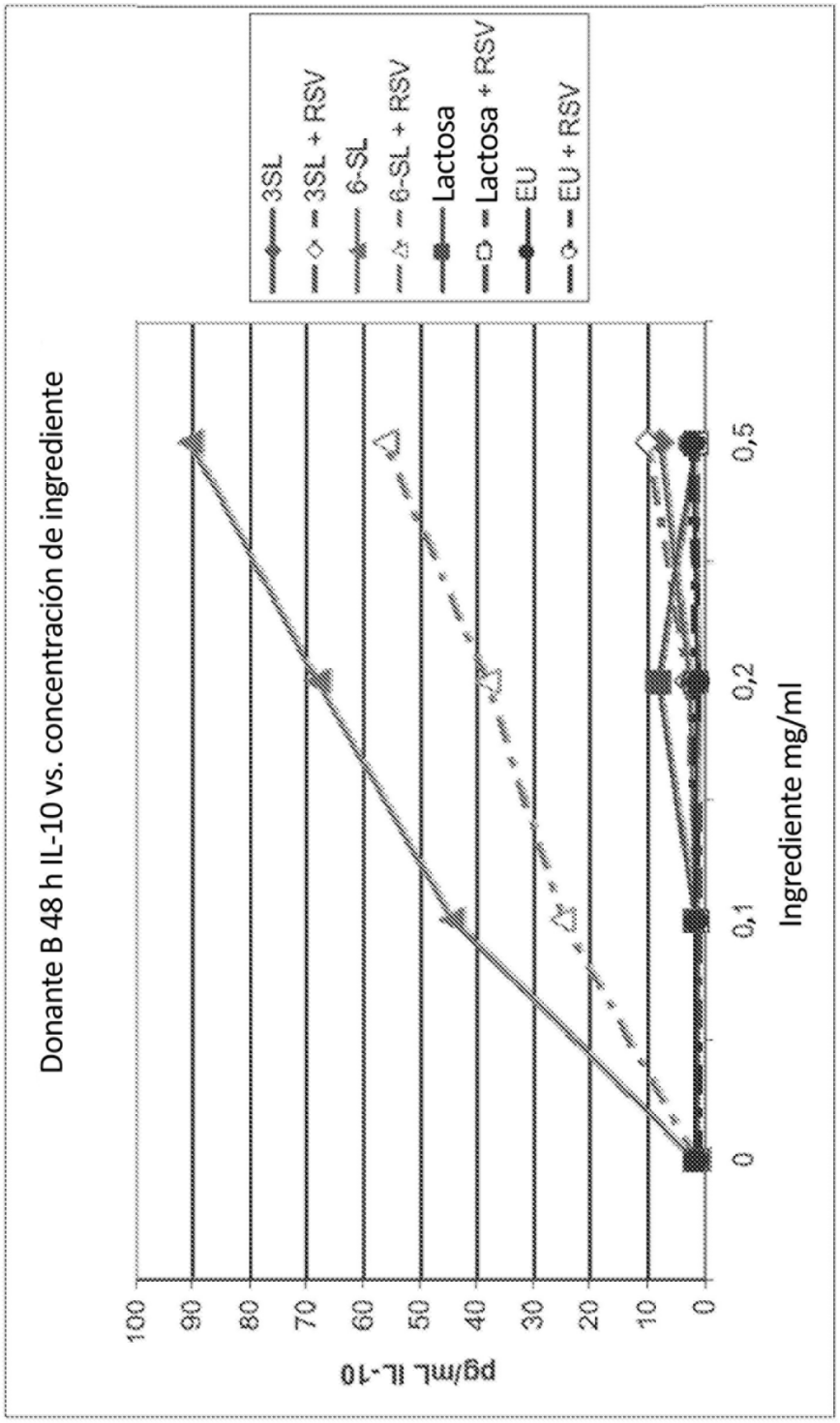

Donante B 48 h IL-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IL-10
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
0,1
0,2
0,5
Ingrediente mg/ml
3SL
3SL + RSV
6-SL
6-SL + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 8

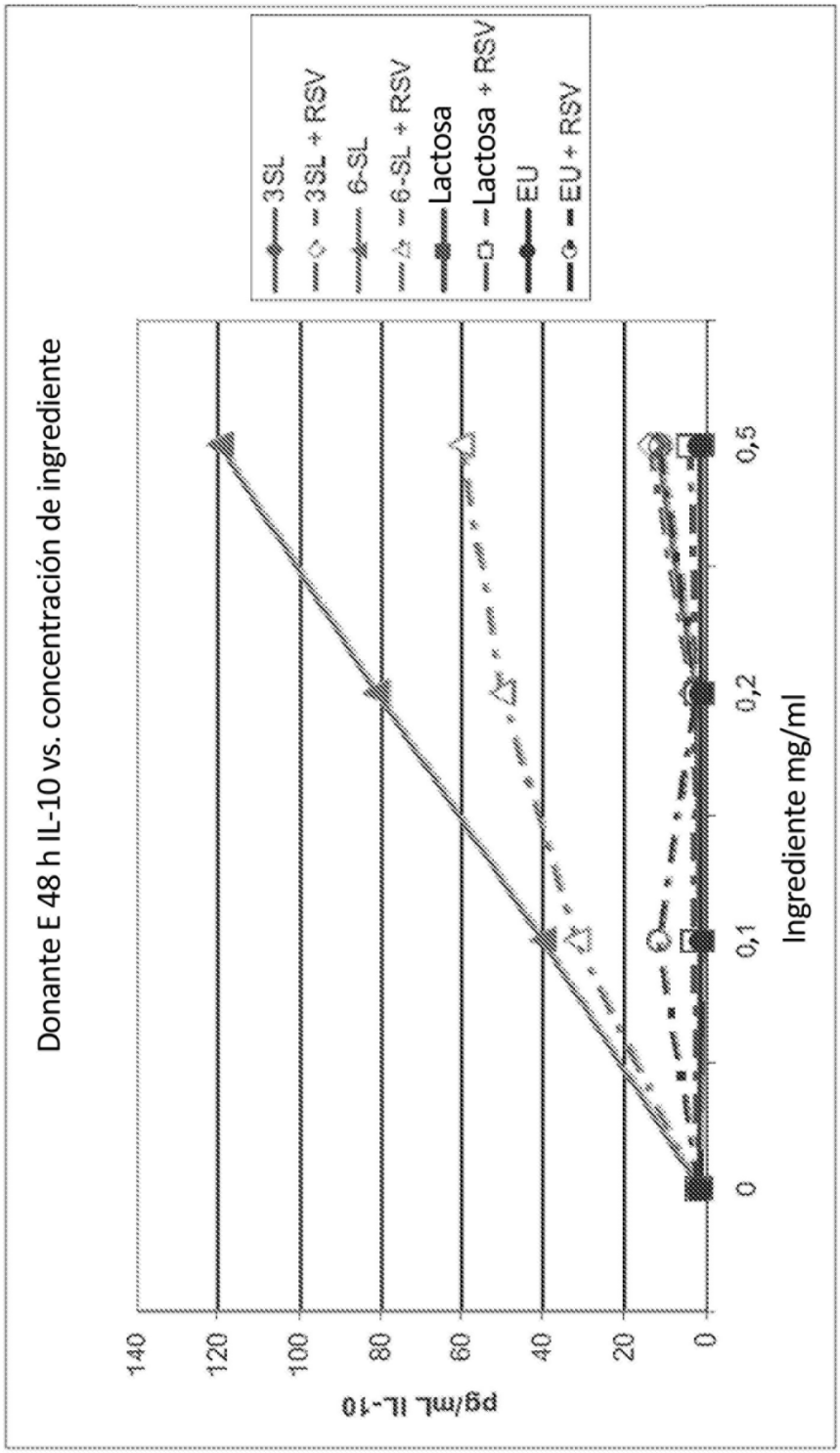

Donante E 48 h IL-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IL-10
140
120
100
80
60
40
20
0
0
0,1
0,2
0,5
Ingrediente mg/ml
3SL
3SL + RSV
6-SL
6-SL + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 9

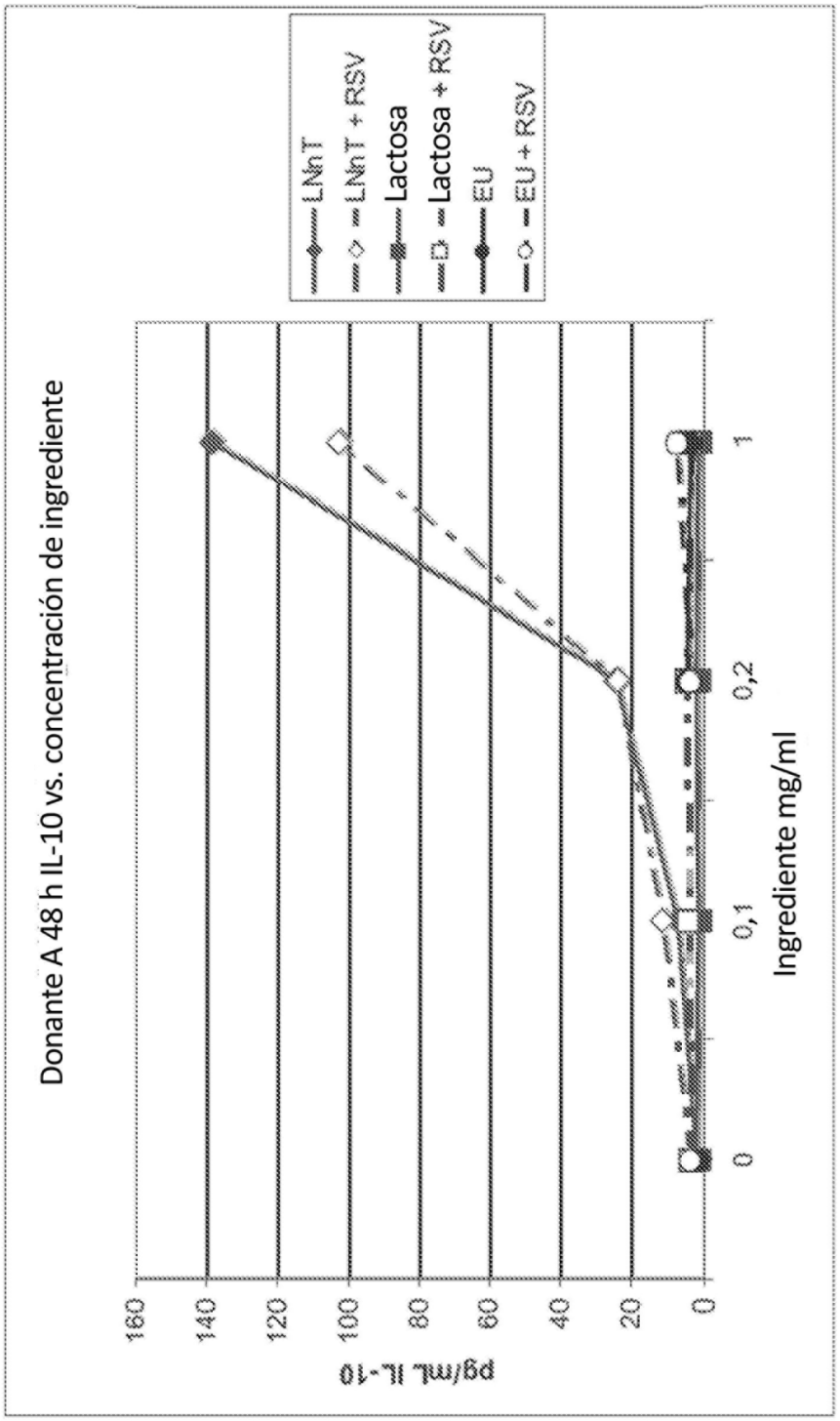

Donante A 48 h IL-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IL-10
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0
0,1
0,2
1
Ingrediente mg/ml
LNnT
LNnT + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 10

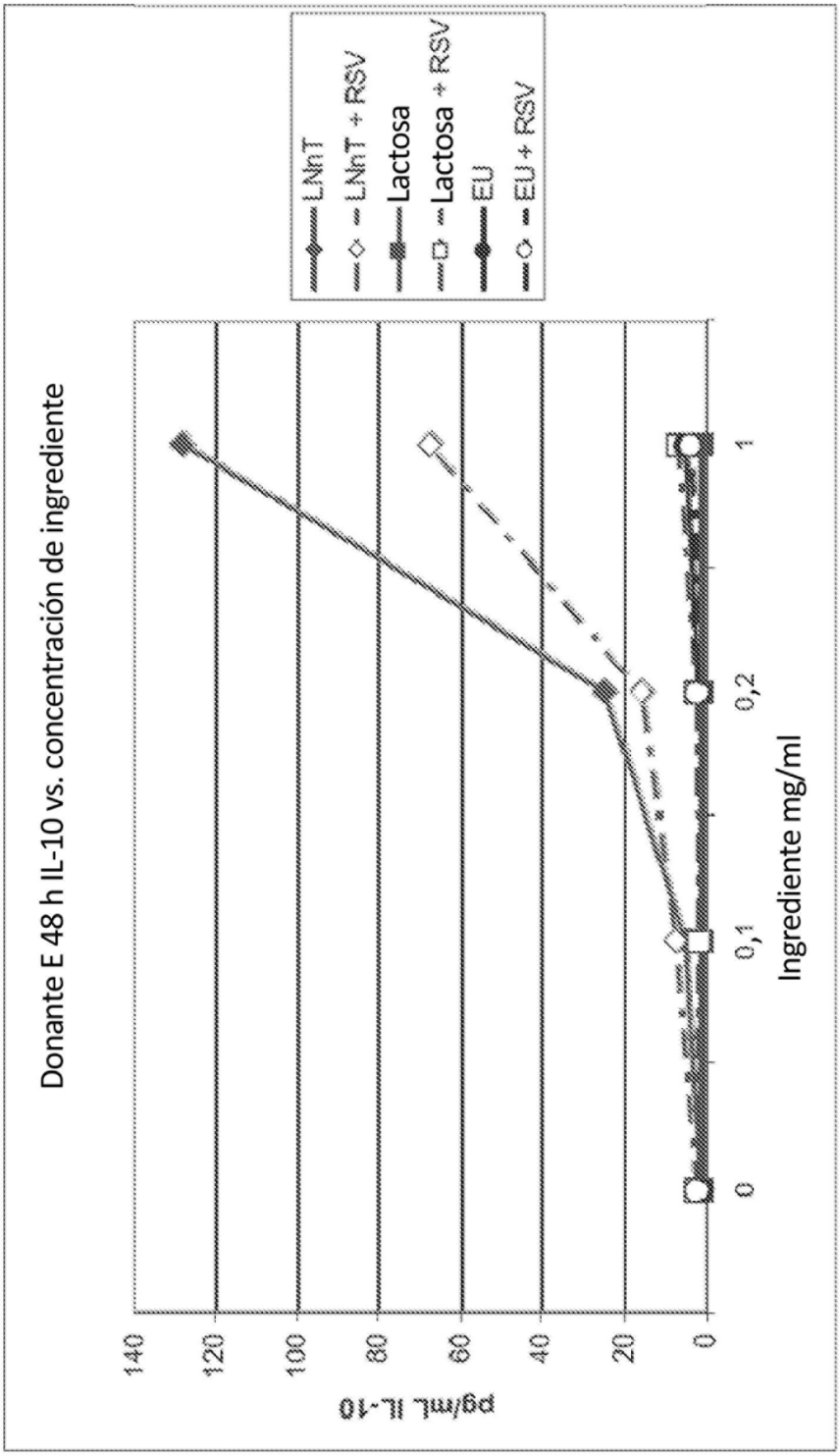
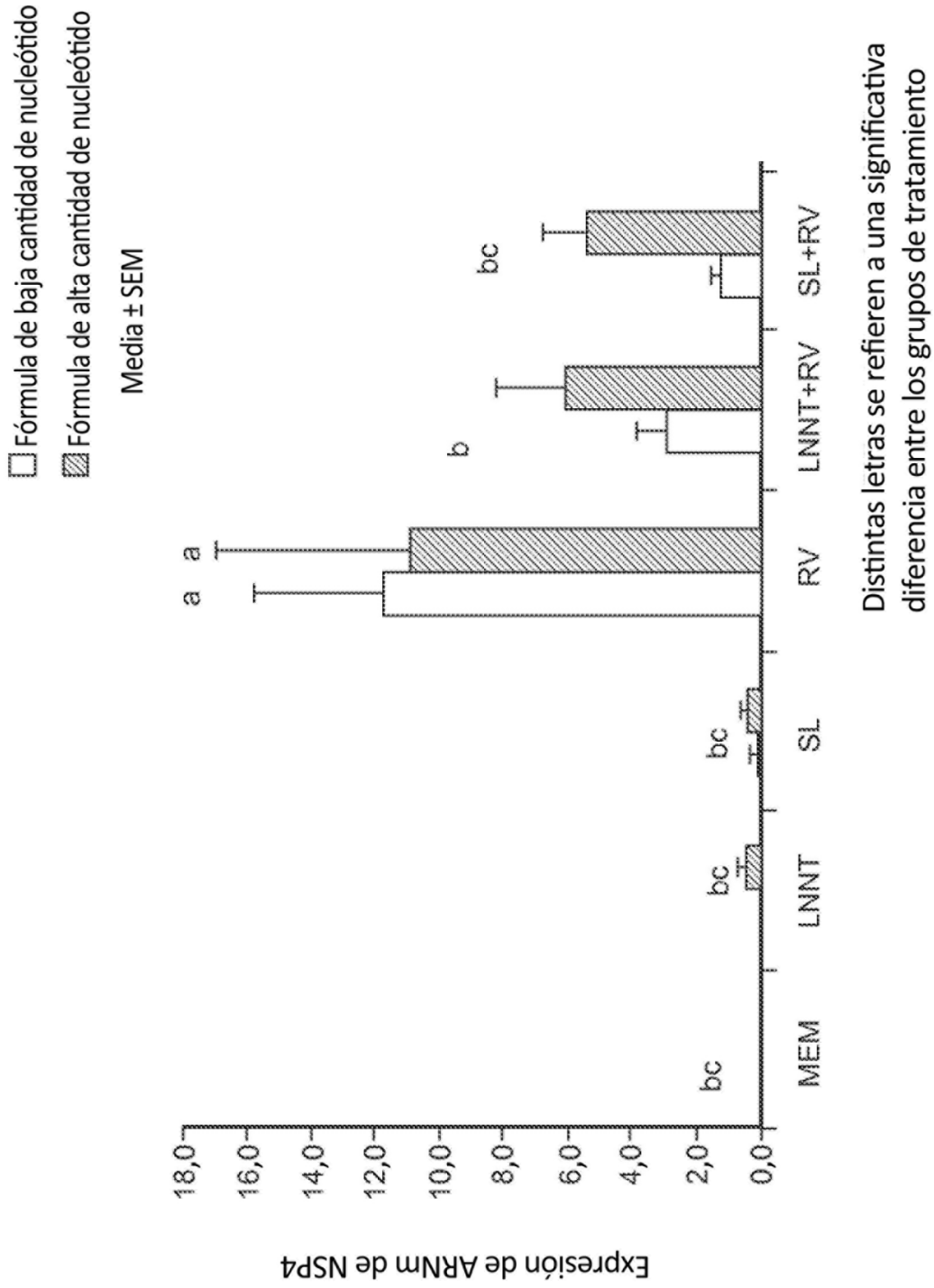

Donante E 48 h IL-10 vs. concentración de ingrediente
pg/mL IL-10
140
120
100
80
60
40
20
0
0
0,1
0,2
1
Ingrediente mg/ml
LNnT
LNnT + RSV
Lactosa
Lactosa + RSV
EU
EU + RSV

FIG. 11


Fórmula de baja cantidad de nucleótido
Fórmula de alta cantidad de nucleótido
Media ± SEM
Expresión de ARNm de NSP4
18,0
16,0
14,0
12,0
10,0
8,0
6,0
4,0
2,0
0,0
bc
bc
bc
a
a
b
bc
MEM
LNNT
SL
RV
LNNT+RV
SL+RV
Distintas letras se refieren a una significativa diferencia entre los grupos de tratamiento