

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 556**

51 Int. Cl.:

A23L 33/00 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.12.2016 PCT/EP2016/081308**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.06.2017 WO17103019**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2016 E 16809851 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 3389404**

54 Título: **Mezcla de oligosacáricos de la leche humana**

30 Prioridad:

15.12.2015 EP 15200067
03.02.2016 EP 16154144

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.05.2020

73 Titular/es:

SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (100.0%)
Entre-deux-Villes
1800 Vevey, CH

72 Inventor/es:

MCCONNELL, BRUCE y
VIGSNÆS, LOUISE KRISTINE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 759 556 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

Mezcla de oligosacáridos de la leche humana

- 5 La presente invención, se refiere a mezclas sintéticas de oligosacáridos de la leche humana ("HMOs" - [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Human Milk Oligosaccharides] -), de una forma particular, a LNnT, LNT, 2'-FL, 3'-SL, 6'-SL y DFL ó 3-FL y a aplicaciones de las mezclas en la salud humana.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 Los HMOs, se han convertido en una cuestión de gran interés en los últimos años debido a sus roles interpretativos en numerosos procesos biológicos los cuales acontecen en el organismo humano. La leche de los mamíferos, contiene por lo menos 130 de estos complejos oligosacáridos (véase, a dicho efecto, Urashima et al, Oligosaccharides de leche, Nova Biomedical Books, Nueva York, 2011, ISBN: 978 - 1- 61122 – 831 -1).

- 15 Anteriormente, la única fuente de HMOs había venido siendo la cual contiene, principalmente, agua, conjuntamente con 55 - 70 g/l de lactosa, 24 - 59 g/l de lípidos, aprox. 13 g/l de proteínas, 5 - 15 g/l de HMOs y aprox. 1,5 g/l de minerales.

- 20 No obstante, se han venido desarrollando varios procedimientos, en los últimos años, para sintetizar los HMOs, debido al rol interpretativo que éstos juegan en numerosos procesos biológicos humanos. Así, en este sentido, se han venido desarrollando procedimientos para producir HMOs, mediante fermentaciones microbianas, procedimientos enzimáticos, síntesis químicas o combinaciones de entre estas tecnologías. Así, por ejemplo, mediante procedimientos químicos, se puede preparar la Galp β 1-4GlcNAcp β 1-3Galp β 1-4Glc ó lacto-N-neotetraosa ("LNnT"), tal como se describe en los documentos de patente internacional WO 2011 / 100 980 y WO 2013 / 044 928; la Galp β 1-3GlcNAcp β 1-3Galp β 1-4Glc ó lacto-N-tetraosa ("LNT") se puede sintetizar tal como se describe en los documentos de patente internacional WO 2012 / 155 916 y WO 2013 / 044 928 ; La 6'-O-sialilactosa ("6'-SL") puede sintetizarse tal como se describe en el documento de patente internacional WO 2011/100979 ; Se puede preparar una mezcla de LNT y LNnT, tal como se describe en el documento de patente internacional WO 2013 /091 660 ; La 2'-O-fucosillactosa ("2'-FL") puede prepararse como se describe en los documentos de patente internacional WO 2010 / 115 934 y WO 2010 /115 935 ; La 3-fucosillactosa ("3-FL") puede prepararse de la forma la cual se describe en el documento de patente internacional WO 2013 / 139 344 ; y la 6'-SL se puede preparar tal como se describe en el documento de patente internacional WO 2010 / 100 979 . Como ejemplos de procedimientos biotecnológicos, caben destacar los documentos de patente internacional WO 01 / 04 341 y WO 2007 / 101 862, en los cuales se describe de qué forma se pueden preparar oligosacáridos principales de la leche humana opcionalmente sustituidos por fucosa o ácido siálico, los cuales incluyen a la LNnT, 6'-SL y a la 3'-O-sialilactosa ("3'-SL"), mediante la utilización de la bacteria *E. coli* genéticamente modificada ; y el documento de patente internacional WO 2015 / 032 412, describe la fabricación de 2'-FL y difucosillactosa ó Fuc (α 1-2) Gal (β 1-4) [Fuc (α 1-3)] Glc ("DFL") mediante la utilización de la bacteria *E. coli* genéticamente modificada. Como ejemplo de procedimientos enzimáticos, se pueden preparar oligosacáridos sialilados, tal como se describe en el documento de patente europea EP- A - 577 580. El documento de patente internacional WO – A – 2015 / 071 401, describe composiciones para su uso en la prevención de enterocolitis necrotizante. El documento de patente estadounidense US – A – 2012 / 0 172 307, describe procedimientos para reducir la incidencia del estrés oxidativo, mediante la utilización de HMOs.

- 45 El documento de patente estadounidense US – A – 2012 / 0 172 331, describe métodos de uso de los HMO, para mejorar la salud de la vías aéreas respiratorias.

- 50 El documento de patente europea EP - A - 2 454 948, describe mezclas de oligosacáridos y productos alimenticios los cuales comprenden dichas mezclas.

El documento de patente internacional WO – A – 2015 / 071 403, describe composiciones para su uso en la prevención o el tratamiento de la enterocolitis necrotizante en niños lactantes actantes y en niños pequeños.

- 55 Se han venido realizando así mismo, también, esfuerzos para desarrollar procedimientos para sintetizar mezclas enzimáticas de oligosacáridos HMOs, sin tener que sintetizar todos los componentes oligosacáridos de la mezcla, tal como se describe en los documentos de patente internacional WO 2012 / 156 897 y WO 2012 / 156 898. Estos procedimientos, han proporcionado mezclas de reacción las cuales contienen una pluralidad de oligosacáridos diferentes.

- 60 Se están acumulando evidencias, en cuanto al hecho de que, la comunidad microbios residente, a la cual se le denomina microbiota, en el tracto digestivo humano, juega un rol interpretativo importante en la salud y en las enfermedades. Cuando la composición de la microbiota intestinal se desequilibra, entonces, el huésped humano puede sufrir consecuencias. Investigaciones recientemente llevadas a cabo, han implicado desequilibrios de la microbiota intestinal, en trastornos individuales tan diversos como los consistentes en el cáncer, la obesidad, la

enfermedad inflamatoria intestinal, la psoriasis, el asma y, posiblemente, incluso en el autismo. Se cree que las fibras no digeribles individuales, incluidos los HMOs, modulan positivamente la microbiota, y éstas son de un interés creciente, para tratar uno o más de tales tipos de trastornos. Pero, sin embargo, muchas fibras digestibles, modulan, de una forma no específica la microbiota, mientras que, otras, no son capaces de proporcionar una modulación lo suficientemente amplia, pero específica.

Así, por lo tanto, ha existido habido una necesidad en cuanto al hecho de poder modular específicamente la microbiota, con objeto de abordar los trastornos individuales de diferentes formas y, así, mismo, también, para abordar de una forma simultánea múltiples trastornos. De una forma particular, ha existido una necesidad, en cuanto al hecho de poder disponer de una composición, la cual pueda usarse para, *entre otras cosas*, tratar y / o prevenir infecciones bacterianas y virales, de una forma particular en el tracto intestinal y respiratorio, para mejorar la función cognitiva y / o para aumentar la eficacia de los agentes anticancerígenos contra los tumores

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención, se define mediante las reivindicaciones anexas. Un primer aspecto de la invención, se refiere a una mezcla sintética de HMOs o a una composición la cual comprende los mismos, consistiendo, dichos HMOs, en LNnT, LNT, 2'-FL, 3'-SL, 6'-SL y DFL ó 3-FL, de forma preferible, DFL. Esta mezcla puede incluir, de una forma opcional, a la lactosa. La mezcla de HMOs, consiste, de una forma preferible, esencialmente en:

- i. de aprox. un 55 %, en peso, a aprox. un 75 % en peso, de 2'-FL, de una forma más preferible, de aprox. un 60 %, en peso, a aprox. un 70 %, en peso;
- ii. de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. 10 % en peso, de LNnT, de una forma más preferible, de aprox. un 3 %, en peso, a aprox. un 7 %, en peso;
- iii. de aprox. un 10 %, en peso, a aprox. 20 % en peso, de LNT, de una forma más preferible, de aprox. un 12 %, en peso, a aprox. un 18 %, en peso;
- iv. de aprox. un 1 %, en peso, a aprox. 10 % en peso, de DFL ó 3-FL-, de una forma más preferible, de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. un 8 %, en peso;
- v. de aprox. un 1 %, en peso, a aprox. 10 % en peso, de 3'-SL, de una forma más preferible, de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. un 8 %, en peso; y
- vi. de aprox. un 5 %, en peso, a aprox. 15 % en peso, de 6'-SL, de una forma más preferible, de aprox. un 7 %, en peso, a aprox. un 13 %, en peso.

Un segundo aspecto de la invención, se refiere a una composición para su uso en: i) prevenir o evitar y / o tratar infecciones virales y / o bacterianas, en un ser humano, de una forma particular, en niños lactantes o bebés, o en niños pequeños; ii) modular, de una forma específica, la microbiota indígena de un ser humano, de una forma particular, en niños lactantes o bebés, o en niños pequeños; y / o iii) mejorar la función cognitiva de los humanos, de una forma particular, de los niños lactantes o bebés, o de los niños pequeños. La composición, comprende una mezcla sintética de HMOs de la presente invención, la cual consiste en LNnT, LNT, 2'-FL, 3'-SL, 6'-SL y DFL o 3-FL, de una forma preferible, en DFL, tal y como se ha descrito anteriormente, arriba. Esta composición contiene una pluralidad de diferentes HMOs, con nuevas combinaciones de propiedades y actividades biológicas. La composición en cuestión, es especialmente de utilidad contra las infecciones intestinales virales y bacterianas a través de la modulación específica de la microbiota intestinal, mediante un aumento en *Bifidobacterium*, la modulación de la unión intestinal de virus y bacterias patógenas con las células epiteliales intestinales, y la mejora de la función de barrera intestinal. La composición en cuestión, también es de utilidad, así mismo, contra las infecciones virales y las bacterianas del tracto respiratorio, al inhibir la unión del patógeno con las células epiteliales humanas.

En una forma particular de presentación, la composición de la presente invención, es para su uso en la prevención y / o tratamiento de las infecciones virales causadas por el virus de la gripe.

FIGURAS

Figura 1 : Proporción de ratones los cuales muestran una puntuación clínica superior a 1, lo cual significa que, éstos mostraban síntomas de enfermedad. (n = 10 por grupo)

Figura 2 : Área bajo la curva (AUC – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Area under de curve] -), para la puntuación de la enfermedad clínica durante un período de 14 días después de la infección por influenza. (n = 10 por grupo), significancia una estadística la cual se determina mediante el test de ensayo de Kruskal-Wallis (no paramétrico), mediante el test de ensayo de comparación múltiple de Dunn en comparación con el control. Se indican los valores p.

Figura 3 : Peso corporal (en gramos) durante los 14 días posteriores a la infección por influenza. El grupo que recibió una mezcla de 1% o 5% de HMO estaba perdiendo significativamente menos peso corporal en comparación con el grupo control, lo cual indica el hecho de que, estos ratones, se encontraban menos enfermos, en comparación con los ratones control. (n = 10 por grupo). El test de ensayo estadístico, mediante ANOVA de 2 vías, el peso

corporal se vio significativamente afectado mediante el transcurso del tiempo y el tratamiento ($p < 0,0001$) y la mezcla de control versus 1% de mezcla de HMOs tenía una $p = 0,0002$, y el control versus una mezcla de 5 % de HMOs tenía una $p = 0,0001$.

5 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

Tal como se usa en este documento, los términos que se facilitan a continuación, tienen los siguientes significados.

El término **"niño lactante" o "bebé"** significa un niño de una edad inferior a los 12 meses.

10 La expresión **"niño pequeño"** significa un niño de una edad comprendida entre uno y tres años, al cual también se le denomina también chiquillo o criatura.

15 Las expresiones **"una composición para niños lactante o bebés, o niños pequeños"** y **"una composición para ser administrada a niños lactantes o bebés o niños pequeños"** se pueden usar indistintamente.

20 En algunas formas de presentación, la composición la cual comprende la mezcla de HMOs en concordancia con la invención, es una composición nutritiva. La expresión **"composición nutritiva"** significa una composición mediante la cual se nutre a sujeto. Esta composición nutritiva, de una forma general, se toma por vía oral o intravenosa, y generalmente, ésta incluye una fuente de lípidos o grasas y una fuente de proteínas. En una forma particular de presentación, la composición nutritiva es una composición nutritiva sintética.

25 La expresión **"fórmula para niños lactantes"**, tal como ésta se usa en el presente documento, se refiere a un producto alimenticio destinado a un uso nutritivo particular por parte de niños lactantes, durante los primeros meses de su vida, y la cual satisface por sí misma los requisitos nutritivos de esta categoría de personas (Artículo 2 (c) de la Directiva de la Comisión Europea 91 / 321 / CEE 2006 / 141 / CE, de fecha 22 de diciembre de 2006, sobre fórmulas para niños lactantes y fórmulas de seguimiento). Ésta también se refiere, así mismo, a una composición nutritiva destinada a los niños lactantes, tal como ésta se define en el Codex Alimentarius (Codex STAN 72 - 1981) y Especialidades para Niños Lactantes (incluyendo a Alimentos para Propósitos Médicos Especiales). La expresión
30 **"fórmula para niños lactantes"** abarca tanto a **"fórmula inicial para niños lactantes"** como **"fórmula de seguimiento"** o **"fórmula de continuación"**.

35 Una **"fórmula de seguimiento"** o **"fórmula de continuación"** se proporciona desde el sexto mes de vida en adelante. Ésta constituye el principal elemento líquido en la dieta progresivamente diversificada de esta categoría de personas.

La expresión **"comida para niños lactantes o bebés"** significa un alimento destinado a un uso nutritivo particular por parte de bebés o niños lactantes o niños pequeños, durante los primeros años de vida.

40 La expresión **"composición de cereales para niños lactantes o bebés"** significa un producto alimenticio destinado a un uso nutritivo particular por lactantes o niños pequeños durante el primer año de vida.

El término **"fortificante"** se refiere a composiciones nutritivas líquidas o sólidas, las cuales son adecuadas para mezclarse con leche materna o una fórmula para niños pequeños lactantes o bebés.

45 En concordancia con la presente invención, se ha descubierto, de una forma sorprendente, el hecho de que, una mezcla sintética de HMOs, la cual consista en LNnT, LNT, 2'-FL, 3'-SL, 6'-SL y DFL ó 3-FL, de una forma preferible, DFL, y opcionalmente, lactosa, puede proporcionar una composición antiinfecciosa para prevenir o tratar infecciones bacterianas o virales, mediante la modulación específica de la microbiota intestinal, la unión de virus, la reducción de la translocación patógena y la mejora de la función de barrera intestinal. De una forma adicional, la mezcla de HMOs de la presente invención actúa como un receptor señuelo, y se une a los rotavirus, para evitar el hecho de que, los rotavirus, e adhieran a las células intestinales humanas. Estas propiedades, conjuntamente con una mejora en la función de barrera intestinal, hacen que la mezcla de HMOs sea adecuada para prevenir y tratar infecciones
50 intestinales.

55 Así, por lo tanto, en algunos aspectos de la invención, la composición es para su uso en la prevención y / o el tratamiento de infecciones virales y / o bacterianas en un ser humano, de una forma particular, niños lactantes o bebés, o niños pequeños.

60 En una forma particular de presentación, la composición de la presente invención es para uso en la prevención y / o tratamiento de infecciones virales causadas por el virus de la gripe.

65 La composición de la presente invención puede usarse, de una forma particular, para prevenir o evitar, o tratar los síntomas los cuales se encuentran asociados con la gripe, tales como los consistentes en la fiebre, el dolor articular, los dolores de cabeza, el cansancio, la pérdida de peso corporal ...

La composición de la presente invención puede usarse, de una forma particular, para reducir el uso de medicamentos en caso de gripe. En una forma particular de presentación, ésta también puede evitar, así mismo, el uso de antibióticos, después de una sobreinfección bacteriana subsiguientemente a la gripe.

5 También se ha descubierto, así mismo, el hecho de que, la mezcla de HMOs de la presente invención, puede aumentar las concentraciones de gangliósido cerebral y de ácido siálico-gálico-proteico, lo cual conduce a un aumento de la sinaptogénesis y el desarrollo neurológico. Esto provoca el hecho de que, la mezcla de HMOs, sea adecuada para su administración a humanos, de una forma particular, a niños lactantes o bebés, para mejorar su función cognitiva.

La mezcla HMOs de la presente invención también puede, así mismo:

- 15 i) aumentar la abundancia intestinal indígena de *Bifidobacterium* y
- ii) aumentar la abundancia intestinal de *Barnesiella* y / o por lo menos mantener la abundancia intestinal de *Faecalibacterium*, y
- iii) reducir la abundancia intestinal de *Ruminococcus gnavus* y / o *Proteobacterias*.

Estos efectos pueden hacer que un medio intestinal sea menos propenso a la inflamación. Junto con una mejora en la función de barrera intestinal, estos efectos de la mezcla de HMO pueden prevenir y / o tratar afecciones como la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome del intestino irritable y otras afecciones asociadas con la inflamación y la función de barrera deteriorada.

25 Sorprendentemente, el aumento de las bifidobacterias en el intestino, inducida por la mezcla de HMOs de la presente invención, aumenta la eficacia de los agentes anticancerígenos contra los tumores. Las bifidobacterias, actúan como ayudantes inmunes, fortaleciendo la respuesta de un paciente con cáncer, a un agente anticancerígeno. Esta propiedad, provoca el hecho de que, la mezcla HMOs, sea adecuada como ayuda en la terapia contra el cáncer.

30 De una forma preferible, la mezcla de HMOs de la presente invención, contiene tiene: i) de aprox. un 55 %, en peso, a aprox. un 75 %, en peso de 2'-FL, de una forma más preferible, de aprox. un 60 %, en peso, a aprox. un 70 %, en peso; ii) de aprox. un 2 % en peso a aprox. un 10 % en peso de LNnT, de una forma más preferible, de aprox. un 3 % en peso, a aprox. un 7 % en peso; iii) de aprox. un 10 %, en peso, a aprox. un 20 %, en peso, de LNT, de una forma más preferible, de aprox. un 12 %, en peso, a aprox. un 18 %, en peso; iv) de aprox. un 1 %, en peso, a aprox. un 10 %, en peso de DFL ó 3-FL, de una forma más preferible, de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. un 8 %, en peso; v) de aprox. un 1 %, en peso, a aprox. un 10 %, en peso, de 3'-SL, de una forma más preferible, de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. un 8 %, en peso; y vi) de aprox. un 5 %, en peso, a aprox. un 15 %, en peso, de 6'-SL, de una forma más preferible, de aprox. un 7 %, en peso, a aprox. un 13 %, en peso. La mezcla de HMOs de la presente invención también puede contener, así mismo, lactosa, pero no se considera un ingrediente activo de la mezcla.

40 La mezcla de HMOs, se puede administrar, a un humano, en cualquier forma la cual sea adecuada, tal como, por ejemplo, una forma de dosificación unitaria (como, por ejemplo, una tableta, una cápsula, una bolsita o saquito de materia en polvo, etc.) o una composición nutritiva.

45 La forma de la unidad de dosificación, puede contener un portador o soporte, el cual sea aceptable, tal como, por ejemplo, una solución salina tamponada con fosfato, mezclas de etanol en agua, agua y emulsiones tales como las consistentes en una emulsión de aceite / agua o agua / aceite, así como también diversos agentes humectantes o excipientes. La forma de la unidad de dosificación, también puede contener, así mismo, otros materiales que no producen una reacción adversa, alérgica o no deseada cuando ésta se administra a un paciente. Los portadores o soportes, y otros materiales, pueden incluir disolventes, dispersantes, agentes de recubrimiento, agentes promotores de la absorción, agentes de liberación controlada y uno o más excipientes inertes, tales como los almidones, los polioles, los agentes granulantes, la celulosa microcristalina, los diluyentes, los lubricantes, los aglutinantes y los agentes desintegrantes. En caso deseado, las dosis de tabletas de la composición se pueden recubrir mediante técnicas de recubrimiento acuosas o no acuosas, estándar.

55 Una forma de la unidad de dosificación de la presente invención, puede administrarse por vía oral, tal como, por ejemplo, como una tableta, una cápsula o gránulo que contenga una cantidad predeterminada de la mezcla, o como una materia en polvo o gránulos que contengan una concentración predeterminada de la mezcla o un gel, una pasta, una solución, una suspensión, una emulsión, un jarabe, un bolo, un electuario o una suspensión, en un líquido acuoso o no acuoso, el cual contenga una concentración predeterminada de la mezcla. Una composición la cual se administre por vía oral, puede incluir uno o agentes tales como los aglutinantes, los lubricantes, los diluyentes inertes, los agentes aromatizantes y los humectantes. Una composición la cual se administre por vía oral, tal como la consistente en una tableta, puede recubrirse, de una forma opcional, y ésta puede formularse para proporcionar una liberación sostenida, retardada o controlada de la mezcla de HMOs contenida en ésta.

65

Una forma de la unidad de dosificación de la presente invención también se puede administrar mediante un supositorio rectal, mediante un tubo de aerosol, mediante un tubo nasogástrico o infusión directa en el tracto GI (gastrointestinal) o el estómago.

- 5 Una forma de la unidad de dosificación de la presente a invención también puede incluir, así mismo, agentes terapéuticos tales como los agentes antivirales, los antibióticos, los probióticos, los analgésicos y los agentes antiinflamatorios. La dosificación adecuada de dicha composición para un paciente, puede determinarse de una forma convencional, en función de factores tales como los consistentes en el estado inmunitario del paciente, el peso corporal y la edad. En algunos casos, la dosis se encontrará en una concentración similar a la encontrada para los HMOs de la composición, en la leche materna humana. La cantidad requerida, se encontraría, de una forma general, en el intervalo que va de aprox. 200 mg a aprox. 20 g por día, en ciertas formas de presentación, en un intervalo que va de aprox. 300 mg a aprox. 15 g por día, en un intervalo que va de aprox. 400 mg a aprox. 10 g por día, en ciertas formas de presentación, en un intervalo que va de aprox. 500 mg a aprox. 10 g por día, y en ciertas formas de presentación, en un intervalo que va de aprox. 1 g a aprox. 10 g por día. Los regímenes de dosificación apropiados, pueden determinarse mediante procedimientos los cuales son conocidos por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica.

- La mezcla HMOs de la presente invención también se puede agregar a una composición nutritiva. Así, por ejemplo, ésta se puede agregar a una fórmula para niños lactantes o bebés, a una composición alimenticia, a una solución de rehidratación o a un suplemento o mantenimiento dietético para personas mayores o personas inmunocomprometidas. La composición nutritiva, puede consistir, por ejemplo, en una fórmula para niños lactantes o bebés, en una fórmula de inicio para niños lactantes o bebés, en una fórmula de seguimiento o de continuación, en un producto alimenticio para niños lactantes o bebés, en una composición de cereales para niños lactantes o bebés, en un fortificante como un fortificante de la leche materna humana o en un suplemento. En algunas formas de particulares de presentación, la composición de la invención, se trata de una fórmula para niños lactantes o bebés, en un fortificante o en un suplemento, el cual puede estar destinado a los primeros 4 ó 6 meses de edad. En una forma preferida de presentación, la composición nutritiva de la invención, es una fórmula para niños pequeños lactantes o bebés. En algunas otras formas de presentación, la composición nutritiva de la presente invención, es un fortificante. El fortificante puede ser un fortificante de la leche materna (tal como, por ejemplo, un fortificante de leche materna humana) o un fortificante de una fórmula, tal como un fortificante de una fórmula infantil o un fortificante de una fórmula de seguimiento / de continuación.

- Los macronutrientes, tales como las grasas comestibles, los hidratos de carbono y las proteínas también se pueden incluir en la citada composición nutritiva. Las grasas comestibles incluyen, por ejemplo, al aceite de coco, al aceite de soja y a los monoglicéridos y diglicéridos. Los hidratos de carbono, incluyen, por ejemplo, a la glucosa, la lactosa comestible y al almidón de maíz hidrolizado. Las proteínas incluyen, por ejemplo, a la proteína de soja, al suero láctico y a la leche descremada. También pueden incluirse, en dichas composiciones nutritivas, vitaminas y minerales (tales como, por ejemplo, el calcio, el fósforo, el potasio, el sodio, el cloruro, el magnesio, el manganeso, el hierro, el cobre, el zinc, el selenio, el yodo y las vitaminas A, E, D, C y del complejo B).

- La composición nutritiva se puede preparar de cualquier forma la cual sea apropiada. Se procederá, a continuación, a describir una composición, a título de ejemplo.

- Así, por ejemplo, una fórmula tal como la consistente en una fórmula para niños lactantes, puede prepararse procediendo a mezclar la fuente de proteínas, la fuente de hidratos de carbono y la fuente de grasas, en unas proporciones las cuales sean apropiadas. En el caso en el que éstas se usen, los emulsionantes, pueden incluirse en este punto. Las vitaminas y minerales, también se pueden agregar en este punto, pero, generalmente, éstos se agregan más tarde, con objeto de evitar la degradación térmica. Cualesquiera vitaminas lipofílicas, emulsionantes y similares, pueden disolverse en la fuente de grasa, antes de proceder a la mezcla. El agua, de una forma preferible, agua que haya sido sometida a ósmosis inversa, puede entonces añadirse y mezclarse a la mezcla, para formar una mezcla líquida. La temperatura del agua, debe encontrarse comprendida, de una forma conveniente, dentro de un rango comprendido dentro de unos márgenes situados entre los aprox. 50 °C y los aprox. 80 °C, para ayudar a la dispersión de los ingredientes. Se pueden usar licuefactantes o fluidificantes, los cuales se encuentren comercialmente disponibles en el mercado, para formar la mezcla líquida.

- La mezcla de HMOs de la presente invención, se puede agregar en esta etapa, especialmente, si el producto final debe tener una forma líquida. Si el producto final se va a tratar de una materia en polvo, también se pueden agregar en esta etapa, en el caso en el que se desee.

- Se procede, a continuación, a homogeneizar la mezcla líquida, tal como, por ejemplo, en dos etapas.

- La mezcla líquida puede entonces tratarse térmicamente para reducir las cargas bacterianas, calentando rápidamente la mezcla líquida, por ejemplo, a una temperatura comprendida en el intervalo situado entre los aprox. 80 °C y los aprox. 150 °C durante un período de tiempo comprendido entre los aprox. 5 segundos y los aprox. 5 minutos. Esto puede llevarse a cabo mediante inyección de vapor, una autoclave o un intercambiador de calor, tal

como, por ejemplo, un intercambiador de calor de placas.

A continuación, la mezcla líquida se puede enfriar a una temperatura situada dentro de unos márgenes comprendidos entre los aprox. 60 °C y los aprox. 85 °C, por ejemplo mediante un enfriamiento rápido. La mezcla líquida se puede homogeneizar de nuevo, tal como, por ejemplo, en dos etapas, entre aprox. 10 MPa y aprox. 30 MPa, en la primera etapa y entre aprox. 2 MPa y aprox. 10 MPa, en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada, puede enfriarse, a continuación, para agregar componentes sensibles al calor, tales como las vitaminas y los minerales. El valor pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada, se ajustan, de una forma conveniente, en este punto.

Si el producto final debe ser una materia en polvo, entonces, la mezcla homogeneizada, se transfiere a un aparato de secado el cual sea adecuado, tal como un secador por pulverización o un liofilizador o secador por congelación, y este se convierte en una materia en polvo. La materia en polvo, debe tener un contenido de humedad de menos de aprox. 5 % en peso. La mezcla de HMOs de la presente invención, también se puede agregar, de una forma alternativa, en esta etapa, mediante mezclado en seco, o, procediendo a mezclarlos mediante batido, en una forma de jarabe de cristales, conjuntamente con la(s) cepa(s) probiótica(s) (en el caso en que ésta(s) se utilice(n)), y la mezcla, se seca por pulverización o liofilización (secado por congelación).

Si se prefiere una composición líquida, entonces, la mezcla homogeneizada, puede esterilizarse y a continuación, proceder a su llenado, asépticamente, en recipientes los cuales sean adecuados o ésta puede rellenarse, en primer lugar, en los recipientes y, después, someterse a su esterilización mediante retortado.

Ejemplos

Ejemplo 1

Se procede a reclutar un total de 50 sujetos sanos, hombres y mujeres, para participar en el estudio.

Después de una visita de selección y un período de prueba de 1 - 2 semanas, los sujetos, se seleccionan y se asignan al azar, en 2 grupos, de 25 sujetos cada uno de ellos. A un grupo se le administra un producto de tratamiento el cual contiene 5 g de la siguiente mezcla de HMOs de la presente invención:

- i) 14,2 %, en peso, de LNT
- ii) 5,3 % en peso, de LNnT
- iii) 63,7%, en peso, de 2'-FL
- iv) 4,2%, en peso, de DFL,
- v) 3,7 %, en peso, de 3'-SL y
- vi) 8,9 %, en peso, de 6'-SL

Al otro grupo se le administra un placebo (el cual contiene 2 gramos de glucosa). El producto de tratamiento y el placebo, se encuentran en forma de una materia en polvo, en un recipiente de la unidad de dosificación.

Los sujetos, se eligen para poder participar, si éstos tienen por lo menos 18 años de edad. Todos los sujetos reclutados son capaces y están dispuestos a comprender y a cumplir con los procedimientos del estudio. Los sujetos, se excluyen, en el caso en que: éstos hayan participado en un estudio clínico un mes antes de la visita de selección; éstos tengan unos resultados anormales en las pruebas de selección, los cuales sean clínicamente relevantes para la participación en el estudio; éstos padezcan de una enfermedad grave, tal como una malignidad, diabetes, una enfermedad coronaria grave, una enfermedad renal, una enfermedad neurológica o una enfermedad psiquiátrica grave, o cualquier afección la cual pueda confundir los resultados del estudio; éstos hayan utilizado suplementos probióticos en dosis altas (se permite el yogur), en los 3 meses previos al estudio; éstos hayan consumido fármacos antibióticos en los 3 meses previos al estudio; éstos hayan consumido regularmente cualquier medicamento el cual pudiera interferir con la evaluación de los síntomas, en las 2 semanas previas al estudio; y las mujeres embarazadas o niños y niñas lactantes.

En la visita de selección, se procede a registrar el historial médico y la medicación concomitante y se recoge una muestra de sangre para análisis de seguridad. Se distribuye un equipo, a modo de kit, de muestra fecal. Se procede a facilitar instrucciones a los pacientes, con objeto de que éstos guarden y mantengan sus muestras en el congelador hasta la próxima visita.

En la segunda visita, se verifican los criterios de elegibilidad y los sujetos, se eligen al azar, a las tres secciones, en el ensayo. Se procede a recoger las muestras fecales y se distribuyen equipos para nuevas muestras. Los sujetos, se familiarizan mediante un sistema interactivo con Internet, el cual registra datos diariamente y a éstos, se les proporcionan productos de tratamiento o de control. Se procede a recordar, a los sujetos, que éstos no cambien su dieta, habitual durante el estudio. Se recogen muestras de sangre para los estudios de biomarcadores. Las muestras fecales, se almacenan a una temperatura de - 80 °C hasta el análisis. Las muestras fecales, se someten a análisis

de secuenciación de 16S rRNA.

El estudio, se lleva a cabo durante un transcurso de tiempo de 8 semanas, con los sujetos los cuales consumen un placebo o un producto de tratamiento, diariamente. Los sujetos reciben las instrucciones de consumir los productos por la mañana, con el desayuno. El cumplimiento se controla mediante el sistema interactivo habilitado de Internet. Los sujetos también usan, así mismo, el sistema, para registrar:

- Información de la escala de Bristol Stool Form (BSF),
- información de síntomas tales como el dolor abdominal, las molestias abdominales, los calambres abdominales, la distensión abdominal y la plenitud abdominal,
- información adicional de la Escala de Calificación de Síntomas Gastrointestinales (GSRS – [de sus siglas en idioma inglés]).

Este cuestionario, incluye 15 factores, los cuales cubren cinco dimensiones (el dolor abdominal, la indigestión, el reflujo, la diarrea, el estreñimiento) y utiliza una escala de Likert de siete grados.

Al final del estudio, cada sujeto tiene una visita de salida con el equipo médico. Las muestras fecales y las muestras de sangre se recogen y se analizan como anteriormente indicado.

El análisis fecal indica el hecho de que, los sujetos tratados con la mezcla de HMOs de la presente invención han aumentado la abundancia de *Bifidobacterium* y *Barnesiella* y han reducido la abundancia de *Firmicutes*, especialmente, de *Clostridia* y *Ruminococcus gnavus*. La abundancia de *Faecalibacterium* no ha cambiado en estos sujetos. La abundancia de *proteobacterias* disminuye en estos sujetos.

Ejemplo 2

Se procede a alojar veinte ratones hembra C57BL / 6J de 7 semanas de edad, individualmente, para evitar la contaminación entre ratones, y se les proporciona alimento irradiado y agua. Los ratones se separan en 2 grupos, de 10 ratones, en cada uno de los grupos.

Los ratones, se tratan con ampicilina (0,5 g / litro), en su agua potable, la cual se cambia cada 3 días. Después de un transcurso de tiempo de 1 semana, se termina la adición de ampicilina al agua potable. Posteriormente, a 1 grupo se le administra un producto de tratamiento, el cual contiene la siguiente mezcla de HMOs de la presente invención:

- 14,2 %, en peso, de LNT
- 5,3 %, en peso, de LNnT
- 63,7 %, en peso, de 2'-FL
- 4,2 %, en peso % de DFL,
- 3,7 %, en peso, de 3'-SL y
- 8,9 %, en peso, de 6'-SL.

Se procede a agregar el producto de tratamiento, al agua potable de 1 grupo, a una concentración total de 40 mg / ml. El otro grupo, recibe agua potable con 40 mg / ml de glucosa. Se administra diariamente agua, y todos los ratones, tienen un acceso libre al agua potable. Los ratones se alimentan con comida para roedores y se les proporciona comida fresca diariamente.

Dos días después de la finalización del tratamiento con ampicilina, los ratones de cada grupo se infectan, por sonda oral, con una cepa de *Enterococcus faecium* (VRE) resistente a la *vancomicina*. Se recolectan gránulos fecales frescos, en diferentes momentos, para determinar los niveles de VRE. Se procede a cuantificar el VRE, colocando diluciones en serie de gránulos fecales en placas de agar de *Enterococcus* con *vancomicina*. Las colonias de VRE se identifican por apariencia y se confirman mediante tinción de Gram. Se utiliza una PCR del gen *vanA*, que confiere resistencia a la *vancomicina*, para confirmar la presencia de VRE en ratones infectados.

Se procede a controlar los ratones, durante un transcurso de tiempo de 2 semanas y, a continuación, éstos se sacrifican. Se recogen los contenidos lumbales del íleon, del ciego y del colon, e inmediatamente, éstos se congelan y almacenan, a una temperatura de - 80 °C. El ADN se extrae mediante la utilización de un equipo a modo de kit de aislamiento de ADN PowerSoil de 96 pozos (MO-BIO). Se mantiene vacío un mínimo de un pozo de muestra por placa, para servir como control negativo durante la PCR. La PCR se realiza mediante el cebador directo SD-Bact-0341-bS-17 y el cebador inverso SD-Bact-0785-aA-21 (Klindworth et al. Nucleic Acids Res. 41, e1 (2013)) con adaptadores Illumina conectados. Éstos son cebadores bacterianos universales de ADNr 16S, los cuales se dirigen a la región V3-V4. Se utiliza el siguiente programa de PCR: 98 °C durante 30 segundos, 25 x (98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 20 segundos, 72 °C durante 20 segundos), 72 °C durante 5 minutos. La amplificación, se verifica ejecutando los productos en un gel de agarosa al 1%. Los códigos de barras se agregan en una PCR anidada, usando el equipo, a modo de Kit, del tipo Kit Nextera Index V2 (Illumina) con el siguiente programa de PCR:

98 °C por 30 segundos, 8x (98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 20 segundos, 72 °C durante 20 segundos), 72 °C, durante 5 minutos. La unión de los cebadores se verifica ejecutando los productos en un gel de agarosa al 1 %.

- 5 Los productos de la PCR anidada, se normalizan mediante la utilización del kit de placa de normalización SequalPrep y éstos se agrupan. Las bibliotecas agrupadas, se concentran por evaporación y la concentración de ADN de las bibliotecas agrupadas se mide en un fluorómetro Qubit usando el kit de ensayo de alta sensibilidad Qubit (Thermo Fisher Scientific). La secuenciación, se realiza en un secuenciador de escritorio del tipo "MiSeq desktop sequencer", mediante la utilización del Kit de reactivos MiSeq V3 (Illumina) para una secuencia de 2 x 300 pb de extremo emparejado. Para el análisis bioinformático de los datos de la secuencia se utiliza la versión de 64 bits de USEARCH (Edgar, 2013).

- 15 En los ratones tratados con la mezcla HMOs de la presente invención, la colonización con VRE (enterococos resistentes a la vancomicina – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a la vancomycin-resistant enterococci] -), se reduce a niveles los cuales son indetectables durante 14 días. La densidad de VRE se reduce en 5 días. Los ratones tratados con la mezcla HMOs, también mostraron una mayor abundancia de *Porphyromonadaceae*, especialmente *Barnesiella*. Los ratones no tratados continuaron albergando grandes cantidades de VRE en todo el intestino.

20 Ejemplo 3

Un ejemplo de la composición de una composición nutritiva (tal como, por ejemplo, una fórmula para niños lactantes o bebés), la cual comprende la mezcla de HMOs de la presente invención, es la que se proporciona en la tabla 1 que se facilita abajo, a continuación. Esta composición se proporciona únicamente a título de ilustración.

- 25 Tabla 1: Un ejemplo de la composición de una composición nutritiva (por ejemplo, una fórmula para niños lactantes o bebés)

Nutrientes	por 100 Kcal	por litro
Energía (Kcal)	100	670
Proteína (g)	1,83	12,3
Grasa (g)	5,3	35,7
Ácido linoleico (g)	0,79	5,3
Ácido α -linolénico (mg)	101	675
Lactosa (g)	10,6	70,7
Minerales (g)	0,37	2,5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn (μ g)	8	50
Se (μ g)	2	13
Vitamina A (μ g RE)	105	700
Vitamina D (μ g)	1,5	10
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,4
Vitamina K1 (μ g)	8	54
Vitamina C (mg)	10	67
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)	0,15	1,0
Niacina (mg)	1	6,7
Vitamina B6 (mg)	0,075	0,50
Ácido fólico (μ g)	9	60
Ácido pantoténico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 (μ g)	0,3	2
Biotina (μ g)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I (μ g)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4

Continuación tabla 1

Nutrientes		por 100 Kcal	por litro
Zn (mg)		0,75	5
Oligosacáridos (HMOs)	2FL (g)	0,39	2,56
	LNnT (g)	0,03	0,2
	LNT (g)	0,08	0,56
	DFL (g)	0,03	0,2
	3SL (g)	0,03	0,2
	6SL (g)	0,05	0,36

Ejemplo 4

Otro ejemplo de la composición de una composición nutritiva (tal como, por ejemplo, una fórmula para niños lactantes o bebés) la cual comprende la mezcla de HMOs de la presente invención, es la que se proporciona en la tabla 1 que facilita abajo, a continuación. Esta composición se proporciona únicamente a título de ilustración. Tabla 2: un ejemplo de la composición de una composición nutricional (por ejemplo, una fórmula para niños lactantes o b)

Tabla 2: Un ejemplo de la composición de una composición nutritiva (tal como, por ejemplo, una fórmula para niños lactantes o bebés)

Nutrientes		por 100 Kcal	por litro
Energía (Kcal)		100	670
Proteína (g)		1,83	12,3
Grasa (g)		5,3	35,7
Ácido linoleico (g)		0,79	5,3
Ácido α -linolénico (mg)		101	675
Lactosa (g)		10,9	72,7
Minerales (g)		0,37	2,5
Na (mg)		23	150
K (mg)		89	590
Cl (mg)		64	430
Ca (mg)		62	410
P (mg)		31	210
Mg (mg)		7	50
Mn (μ g)		8	50
Se (μ g)		2	13
Vitamina A (μ g RE)		105	700
Vitamina D (μ g)		1,5	10
Vitamina E (mg TE)		0,8	5,4
Vitamina K1 (μ g)		8	54
Vitamina C (mg)		10	67
Vitamina B1 (mg)		0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)		0,15	1,0
Niacina (mg)		1	6,7
Vitamina B6 (mg)		0,075	0,50
Ácido fólico (μ g)		9	60
Ácido pantoténico (mg)		0,45	3
Vitamina B12 (μ g)		0,3	2
Biotina (μ g)		2,2	15
Colina (mg)		10	67
Fe (mg)		1,2	8
I (μ g)		15	100
Cu (mg)		0,06	0,4
Zn (mg)		0,75	5
Oligosacáridos (HMOs)	2FL (g)	0,19	1,28
	LNnT (g)	0,015	0,1
	LNT (g)	0,042	0,28
	DFL (g)	0,015	0,1
	3SL (g)	0,015	0,1
	6SL (g)	0,027	0,18

Ejemplo 5

Modelo de infección por virus de la gripe de ratón.

- 5 Se procedió a asignar los ratones (5 semanas de edad; n = 30), de una forma aleatoria, a uno de los siguientes grupos. A, control (n = 10); B, 1 % de mezcla de HMOs (n = 10); C, 5 % de mezcla de HMOs (n = 10). Véase la tabla 3, la cual se facilita abajo, a continuación, para ver la composición de la mezcla de HMOs. Los HMOs, se proporcionaron en agua potable. Todos los animales tenían un libre acceso a la misma dieta (KLIBA 2122). Después de un transcurso de tiempo de semanas, los ratones se expusieron a la cepa de Influenza PR8 a una dosis de 100 UFP por ratón mediante inoculación intranasal.

Los ratones, se controlaron durante los siguientes 14 días, con objeto de evaluar la puntuación clínica de los síntomas de la enfermedad y la pérdida de peso corporal.

- 15 Los resultados obtenidos (véanse las figuras 1, 2 y 3) muestran el hecho de que, la mezcla de HMOs, tal como se reivindica aquí, muestra una protección de los síntomas de la enfermedad y de la pérdida de peso corporal, causada por la infección por el virus de la gripe.

Tabla 3: Composición de la mezcla de HMOs utilizada en este experimento.

20

	g /100 ml	
	1 %	5 %
2'FL (g)	0,64	3,2
LNnT (g)	0,05	0,25
LNT (g)	0,14	0,7
3'SL (g)	0,05	0,25
6'SL (g)	0,09	0,45
diFI	0,05	0,25

25

REIVINDICACIONES

- 5 1. - Una composición para niños lactantes o para niños pequeños, la cual comprende una mezcla sintética de oligosacáridos de leche humana, la cual consiste en lacto-N-neotetraosa, lacto-N-tetraosa, 2'-O-fucosillactosa, 3'-O-sialilactosa, 6'-O-sialilactosa y, bien ya sea difucosillactosa o 3-fucosillactosa, de una forma preferible difucosillactosa, y opcionalmente, lactosa.
- 2.- La composición, según la reivindicación 1, en la que la mezcla de oligosacáridos de leche humana consiste en:
- 10 i. de aprox. un 55 %, en peso, a aprox. un 75 % en peso, de 2'-FL, de una forma preferible, de aprox. un 60 %, en peso, a aprox. un 70 %, en peso;
- ii. de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. 10 % en peso, de LNnT, de una forma preferible, de aprox. un 3 %, en peso, a aprox. un 7 %, en peso;
- 15 iii. de aprox. un 10 %, en peso, a aprox. 20 % en peso, de LNT, de una forma preferible, de aprox. un 12 %, en peso, a aprox. un 18 %, en peso;
- iv. de aprox. un 1 %, en peso, a aprox. 10 % en peso, de DFL ó 3-FL-, de una forma preferible, de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. un 8 %, en peso;
- v. de aprox. un 1 %, en peso, a aprox. 10 % en peso, de 3'-SL, de una forma preferible, de aprox. un 2 %, en peso, a aprox. un 8 %, en peso; y
- 20 vi. de aprox. un 5 %, en peso, a aprox. 15 % en peso, de 6'-SL, de una forma preferible, de aprox. un 7 %, en peso, a aprox. un 13 %, en peso;
- 3.- La composición, según la reivindicación 1 ó 2, la cual es una composición nutritiva seleccionada de entre la lista consistente en una fórmula para para niños lactantes, una inicial para niños lactantes, una fórmula de seguimiento o de continuidad, un alimento para niños lactantes, una composición para niños lactantes a base de cereales, un fortificante tal como un fortificante de la leche humana, o un suplemento.
- 25 4.- Una composición para su uso en: i) la prevención y / o el tratamiento de infecciones virales y / o bacterianas en un niño lactantes o un niño pequeño; ii) la modulación de la microbiota de un niño lactante o un niño pequeño; y / o iii) la mejora de la función cognitiva de un niño lactante o un niño pequeño, comprendiendo, la composición:
- 30 - una mezcla de oligosacáridos de leche humana, la cual consiste en la lacto-N-neotetraosa, la lacto-N-tetraosa, 2'-O-fucosillactosa, la 3'-O-sialilactosa, la 6'-O-sialilactosa y la difucosillactosa ó 3-fucosillactosa, de una forma preferible, la difucosillactosa.
- 35 5.- Una composición para su uso según la reivindicación 4, en la cual, las infecciones virales y / o bacterianas, son infecciones intestinales y / o infecciones del tracto respiratorio.
- 6.- Una composición para su uso según la reivindicación 4 ó la reivindicación 5, para usarla en la prevención y / o tratamiento de infecciones virales causadas por el virus de la gripe.
- 40 7.- Una composición para su uso según la reivindicación 6, para la prevención y / o el tratamiento de los síntomas asociados con la gripe y / o para reducir el uso de medicamentos, en caso de gripe.
- 45 8.- Una composición para su uso según la reivindicación 4, en donde, la abundancia de *Bifidobacterium* o de ambas, la *Bifidobacterium* y la *Barnesiella*, se encuentra incrementada.
- 9.- Una composición para su uso según la reivindicación 8, en donde, la abundancia de *Ruminococcus gnavus*, se encuentra disminuida y / o la abundancia de Proteobacterias, se encuentra disminuida y / o la abundancia de *Faecalibacterium*, se mantiene.
- 50 10.- Uso de una mezcla sintética de oligosacáridos de leche humana, la cual consiste en lacto-N-neotetraosa, lacto-N-tetraosa, 2'-O-fucosillactosa, 3'-O-sialilactosa, 6'-O-sialilactosa y difucosillactosa ó 3-fucosillactosa, de una forma preferible, difucosillactosa, y opcionalmente lactosa, para preparar una composición nutritiva para niños lactantes o o niños pequeños, tal como una fórmula para niños lactantes, una fórmula de inicio para niños lactantes, una fórmula de seguimiento o de continuación, un alimento para niños lactantes, una composición para niños lactantes a base de cereales, un fortificante, tal como un fortificante de la leche humana o un suplemento.
- 55

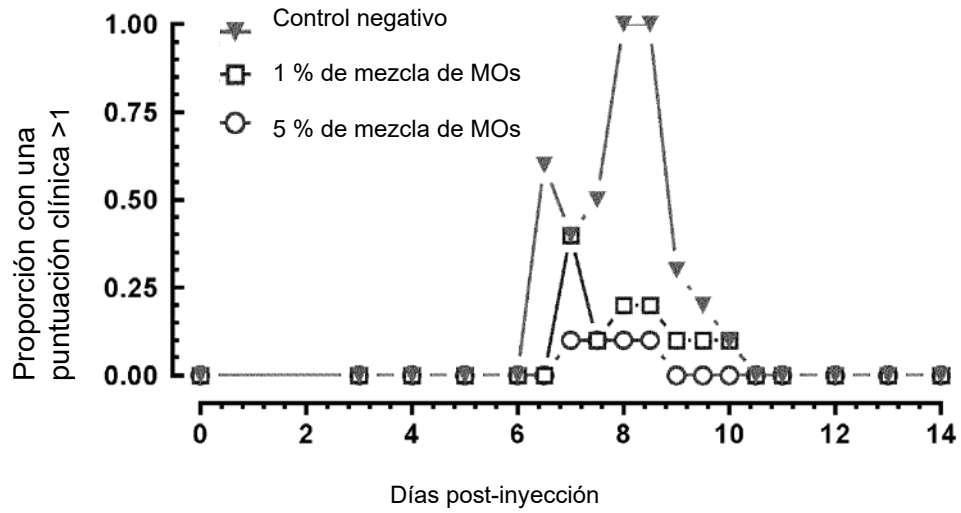


Fig. 1

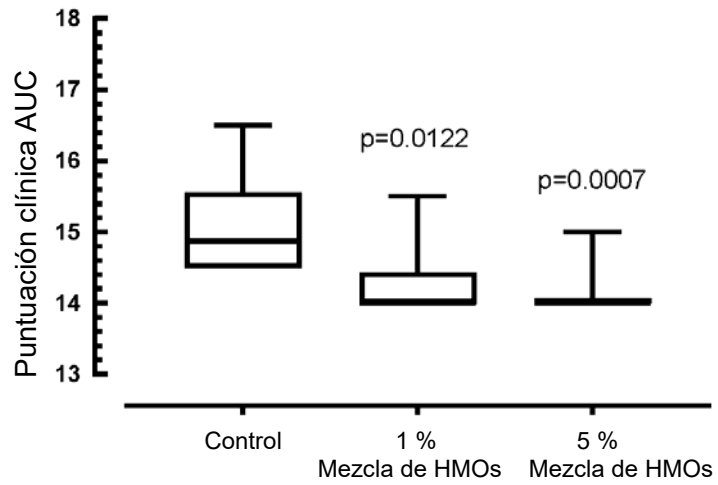


Fig. 2

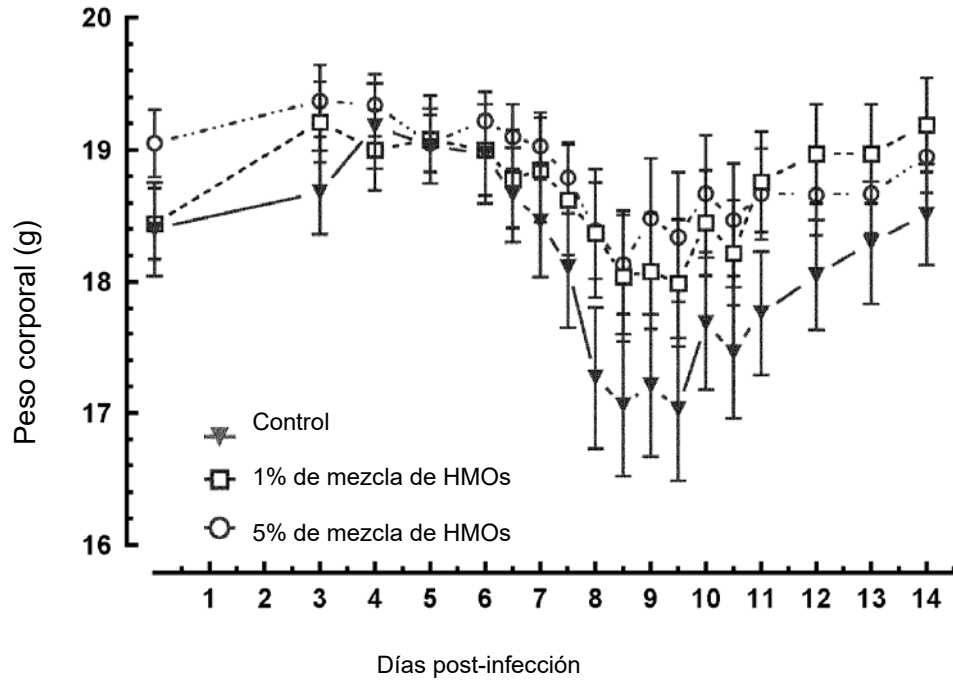


Fig. 3