

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 771 176**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/135** (2006.01)

**A61K 35/744** (2015.01)

**A61K 35/747** (2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2009** **E 12150228 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020** **EP 2438821**

54 Título: **Composición nutricional que contiene probióticos y mejora los patrones de sueño**

30 Prioridad:

**03.11.2008 EP 08168161**

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

**06.07.2020**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BERGONZELLI, DEGONDA GABRIELA;**  
**BUREAU-FRANZ, ISABELLE y**  
**GARCIA-RODENAS, CLARA LUCIA**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 771 176 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**

Composición nutricional que contiene probióticos y mejora los patrones de sueño

5 **Ámbito de la presente invención**

La presente invención se refiere al uso de cepas bacterianas probióticas para mejorar la maduración de los patrones de sueño y reducir la vigilia nocturna de los bebés y niños pequeños y/o reducir las alteraciones del sueño y mejorar la calidad del sueño en humanos o animales que sufren perturbaciones del sueño a cualquier edad.

10

**Antecedentes de la presente invención**

Las alteraciones del sueño se observan en cualquier etapa de la vida. Estos trastornos se caracterizan típicamente por un descenso de la capacidad de iniciar y mantener el sueño, y por una menor proporción del sueño más profundo y reparador. La calidad de vida se ve sustancialmente perjudicada en las personas que sufren esas alteraciones.

15

El sueño infantil suele cambiar durante los primeros meses de vida para seguir un ritmo diurno con un sueño de larga e ininterrumpida duración por la noche y, análogamente, los estados del sueño cambian de una distribución igual entre la fase MOR (sueño activo) y NMOR (sueño tranquilo) al nacer, hasta un tercio de MOR y dos tercios de NMOR a los 8 meses de edad. Cualquier deficiencia en la regulación satisfactoria de estos cambios durante la infancia puede tener efectos duraderos en los patrones de sueño del niño.

20

Las alteraciones del sueño más comunes en los bebés y en los niños son las relacionadas con el insomnio (es decir, dificultades para sosegar a la hora de acostarse o imposibilidad de dormir por la noche sin interrupciones). Se ha estimado que estas alteraciones afectan al 15 hasta el 35% de los niños de edad inferior a 24 meses (France y otros, "Infant Sleep Disturbance: Description of a problem behaviour process [*Perturbación del sueño infantil: descripción de un proceso de comportamiento problemático*]", Sleep Medicine Reviews, vol. 3, nº 4, págs. 265 - 280, 1999). Las perturbaciones del sueño del bebé y del niño producen inevitablemente alteración del sueño y estrés en los padres, lo cual puede dar lugar a una interacción inadecuada entre padres e hijos, que a su vez agrava los síntomas del bebé y del niño, creando un círculo vicioso.

25

30

Gran parte de la literatura que se ocupa del trastorno del sueño infantil se centra en factores psicológicos tales como el estrés prenatal y postnatal y los altos niveles de ansiedad en la madre. Por ejemplo, Field y sus colegas estudiaron la relación entre los trastornos del sueño, la depresión, la ansiedad y la ira de mujeres embarazadas en el segundo y tercer trimestre de gestación y los patrones de sueño de sus hijos recién nacidos. Observaron que los bebés nacidos de madres deprimidas también sufrían trastornos del sueño, con menos tiempo de sueño profundo y más tiempo de sueño indeterminado (desorganizado) (Field y otros, "Sleep disturbances in depressed pregnant women and their newborns [*Perturbaciones del sueño en mujeres embarazadas deprimidas y en sus recién nacidos*]", Infant Behavior and Development [*Comportamiento y desarrollo infantil*] 30 (2007) 127-133).

35

40

Estas y otras observaciones similares han llevado a los pediatras, cuando son consultados por los padres de bebés y niños sobre los trastornos del sueño infantil, a centrarse en recomendar técnicas de control del comportamiento tales como implantar un ritual constante para acostarse, avanzar gradualmente la hora de acostarse o reducir gradualmente la atención prestada al despertar. Estas medidas pueden ser efectivas, pero a menudo son difíciles de aplicar para los padres.

45

El envejecimiento normal va acompañado de cambios en la calidad, cantidad y estructura del sueño. En particular parece haber una caída medible de la capacidad de los ancianos sanos para iniciar y mantener el sueño, junto con un descenso de la proporción del sueño NMOR más profundo y reparador (Espiritu JR. Aging-related sleep changes [*Cambios del sueño relacionados con el envejecimiento*], Clin Geriatr Med 2008 24(1):1-14).

50

El estrés agudo y crónico, la ansiedad y la depresión suelen causar alteraciones de los patrones de sueño e insomnio a cualquier edad (Chorney DB, Detweiler MF, Morris TL, Kuhn BR, The interplay of sleep disturbance, anxiety, and depression in children [*La interacción de los trastornos del sueño, la ansiedad y la depresión en los niños*], J Pediatr Psychol.2008 33(4):339-48; LeBlanc M, Mérette C, Savard J, Ivers H, Baillargeon L, Morin CM, Incidence and risk factors of insomnia in a population-based sample [*Incidencia y factores de riesgo de insomnio en una muestra basada en la población*]. Sleep. 2009 32(8): 1027-37).

55

Ocasionalmente y en casos extremos se pueden recetar fármacos ansiolíticos (p.ej. benzodiazepina). Sin embargo, la eficacia de estos medicamentos es variable, resulta difícil establecer la dosis correcta y existe un riesgo elevado de efectos secundarios adversos. En cualquier caso hay una renuencia general a recetar medicamentos potentes de este tipo, sobre todo para los bebés y niños pequeños.

60

A partir de lo anterior, es evidente que sigue habiendo una necesidad de métodos alternativos para disminuir las alteraciones del sueño y mejorar sus patrones en las diferentes fases de la vida.

65

La patente WO2007142596 de Biogaia AB describe la cepa probiótica L. Reuteri DS M-17938 y los efectos sobre los cólicos.

5 La patente EP2110028A1 de Nestec SA describe una cepa probiótica de bifidobacteria, en particular ATCC-BAA-999, y la expresión del FNDC en el hipocampo, en concreto para tratar o evitar la ansiedad y los trastornos relacionados.

La patente WO0145722A1 de Gervais Danone SA se refiere a la acción somnógena de bacterias de ácido láctico no patógenas.

10 El artículo "Clinical Efficacy of probiotic bifidobacterium longum for the treatment of symptoms of Japanese Cedar pollen allergy in subjects evaluated in an environment exposure unit [*Eficacia clínica del probiótico bifidobacterium longum para tratar los síntomas de alergia al polen de cedro japonés en sujetos evaluados en una unidad de exposición ambiental*]", de J in-Zhong y otros en *Allergology International*, vol. 56, nº 1, de 1 de marzo de 2007 (XP055512075), se refiere al uso de una composición que contiene probióticos (*Bifidobacterium Longum ATCC-BAA-999*) para mejorar las actividades diarias perturbadoras.

### Resumen de la presente invención

20 La presente invención se define en las reivindicaciones. Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que la administración de una cepa bacteriana probiótica puede mejorar la calidad del sueño y reducir el número de episodios de vigilia en personas que sufren alteraciones del sueño y/o insomnio y, en particular, inducir un patrón de sueño más maduro en los bebés y niños pequeños. Así, en un modelo animal que imita las alteraciones del sueño experimentadas por bebés y niños con una mala o inmadura calidad de sueño y por adultos que sufren trastornos del sueño, la administración de probióticos normalizó los patrones del sueño disminuyendo el tiempo de sueño activo (MOR), aumentando el tiempo de sueño tranquilo (NMOR) y reduciendo la cantidad de episodios de desvelo.

30 Por consiguiente, la presente invención proporciona el uso de una cepa bacteriana probiótica en la elaboración de un medicamento o una composición nutricional para humanos o animales que tienen mala calidad de sueño y/o insomnio, con el fin de disminuir el tiempo de sueño activo (MOR) y aumentar el tiempo de sueño tranquilo (NMOR), de modo que el probiótico incluya *Lactobacillus reuteri* (DSM-17938) o *Bifidobacterium longum* NCC3001/ATCC BAA-999. En particular se refiere a un medicamento o a una composición nutricional terapéutica para inducir un patrón de sueño más maduro en los bebés y niños pequeños, y para reducir la alteración del sueño y/o mejorar los patrones de sueño a cualquier edad. En este caso, "más maduro" se refiere a un patrón de sueño similar o próximo a los patrones de sueño de los sujetos que no tienen una maduración tardía del ciclo del sueño y que por tanto no sufren trastornos del sueño. El "patrón de sueño más maduro" se caracteriza por un sueño de largos periodos ininterrumpidos durante la noche, lo cual está relacionado con una reducción de la duración del sueño activo (MOR) y un aumento de la duración del sueño tranquilo (NMOR). Tales MOR y NMOR son buenos indicadores de la maduración del patrón de sueño.

40 La presente invención se amplía a un método para inducir un patrón de sueño más maduro en bebés y niños pequeños y para reducir la alteración del sueño y/o mejorar los patrones de sueño a cualquier edad, que consiste en administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéutica de una cepa bacteriana probiótica.

45 El FNDC (factor neurotrófico derivado del cerebro) es una proteína que promueve la supervivencia de las poblaciones neuronales localizadas en el sistema nervioso central o conectadas directamente con él. Es un miembro de una familia única de 15 factores de crecimiento polipeptídicos que influyen en la proliferación, diferenciación, supervivencia y muerte de células neuronales y no neuronales. El FNDC y los demás factores de crecimiento neurotróficos, p.ej. FCN (factor de crecimiento nervioso), NT-3 (neurotrofina-3) y NT-4 (neurotrofina-4), son esenciales para la salud y el bienestar del sistema nervioso e intervienen en actividades de orden superior tales como el aprendizaje, la memoria y el comportamiento, además de su papel en la supervivencia celular. Ya se ha demostrado que los altos niveles de FNDC en el cerebro mejoran el sueño espontáneo y la duración del NMOR en modelos animales (Kushikata, *Am J Physiol*, 1999), mientras que el bloqueo de los receptores TrkB del FNDC produce perturbaciones en los patrones del sueño (Faraguna y otros, *J Neurosci*, 2008). A partir de datos no publicados, los presentes inventores sabían que una cepa bacteriana probiótica, concretamente el *Bifidobacterium longum* NCC3001 (ATCC BAA-999), proporcionada al principio por Morinaga Milk Industry Co. Ltd. como BB536), aumenta la expresión del FNDC en el hipocampo.

55 Se ha demostrado que el estrés, la ansiedad y la depresión están asociados a niveles bajos de FNDC en el hipocampo (Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C. *Neuronal plasticity and survival in mood disorders [Plasticidad y supervivencia neuronal en los trastornos del estado de ánimo]*. *Biol Psychiatry*. 2000; 48:732-739). La disminución de FNDC y/o de la expresión de sus receptores (TrkB.FL, TrkB.T1 y TrkB.T2) también se ha descrito en el envejecimiento normal (Tapia-Arancibia L, Aliaga E, Silhol M, Arancibia S. *Brain Res Rev*. 2008 59 (1):201-20). En los bebés, muchos procesos fisiológicos no están completamente maduros al nacer y solo maduran durante los primeros meses o años después del nacimiento. Es posible que algunos bebés y niños tengan niveles bajos de FNDC. Los niveles bajos de FNDC en estas situaciones pueden ser responsables de la alteración del sueño y/o, en el caso específico de los bebés y niños, una deficiencia en el desarrollo de patrones maduros de sueño diurno. Sin querer limitarse a la teoría, los presentes inventores creen que el efecto beneficioso de la administración de una cepa bacteriana probiótica sobre la alteración y los patrones del sueño puede explicarse de esta manera. En otras palabras, la administración de un agente

capaz de aumentar la expresión del FNDC del hipocampo, tal como una cepa bacteriana probiótica, puede dar lugar a la normalización observada de la calidad del sueño y/o a la mejora del desarrollo de patrones de sueño maduros.

**Descripción detallada de la presente invención**

5 En esta descripción, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

- “bebé” significa un niño menor de 12 meses;
- “probiótico” se refiere a las preparaciones de células microbianas o de componentes de células microbianas que tienen un efecto beneficioso para la salud o el bienestar del huésped. (Salminen S, Ouwehand A, Benno Y. y otros
- 10 “Probiotics: how should they be defined [*Probióticos: cómo deberían definirse*] Trends Food Sci. Technol. 1999: 10 107-10);
- “bebé/niño pequeño con trastornos del sueño” se refiere a un bebé o niño pequeño que se despierta por la noche y no puede volver a dormirse sin que los padres sepan que está despierto y/o a un bebé o niño pequeño que no puede conciliar el sueño por sí mismo;
- 15 “niño pequeño” significa un niño entre uno y tres años de edad.

Todos los porcentajes están expresados en peso, a no ser que se indique lo contrario.

20 La cepa bacteriana probiótica puede administrarse como un medicamento, por ejemplo en una dosis diaria equivalente a  $10^{10}$  ufc disuelta en agua y administrada con una cuchara. Alternativamente, la composición de la presente invención puede ser un producto alimenticio, una composición nutricional, un nutracéutico, una bebida, un aditivo alimentario o un producto alimenticio animal que contenga una cantidad equivalente a  $10^3$  hasta  $10^{12}$  ufc/g (peso seco), con mayor preferencia entre  $10^6$  y  $10^9$  ufc/g.

25 Por ejemplo, la composición puede ser un reforzante de la leche humana, una fórmula infantil, una fórmula de continuación, una leche de crecimiento, un cereal infantil, un alimento para bebés, un yogur, una barra de cereales, un cereal para el desayuno, un postre, un alimento congelado, una sopa, una comida para animales, una suspensión líquida, un producto en polvo, una tableta, un chicle, una golosina, una composición nutricional y/o suplementos de apoyo para estados patológicos particulares (o estados fisiológicos no deseados o problemas fisiopatológicos) como

30 alergias o intolerancias, desnutrición, inflamación, enfermedades críticas, cólicos, traumatismos, infecciones, cirugía, trastornos de déficit de atención/hiperactividad, depresión, ansiedad, fatiga o estrés y similares, sobre todo cuando los estados patológicos particulares alteran el patrón del sueño.

35 La expresión “cantidad equivalente a” incluye las posibilidades de que las bacterias estén vivas, inactivadas o muertas o incluso presentes en forma de fragmentos tales como ADN o materiales de la pared celular o metabolitos probióticos. En otras palabras, la cantidad de bacterias se expresa como la capacidad de formación de colonias de dicha cantidad de bacterias, como si todas las bacterias estuvieran vivas, independientemente de si solo se aportan los metabolitos de las bacterias o de si las bacterias están realmente vivas, inactivadas o muertas, fragmentadas o como una mezcla de alguno o todos estos estados.

40 Las cepas bacterianas probióticas utilizadas son *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 y *Bifidobacterium longum* NCC3001, ATCC BAA-999, comercializadas por Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón con la marca BB536.

45 La cepa bacteriana probiótica elegida puede ser cultivada por cualquier método adecuado conocido del estado técnico y preparada para añadirla al medicamento o composición nutricional de la presente invención, por ejemplo mediante liofilización o secado por pulverización. Alternativamente las cepas bacterianas se pueden adquirir de proveedores especializados como Christian Hansen y Morinaga, ya preparadas adecuadamente para agregarlas a composiciones nutricionales tales como las fórmulas infantiles.

50 Una dosis diaria adecuada de las bacterias probióticas es de  $10^3$  hasta  $10^{12}$  unidades formadoras de colonias (ufc), con mayor preferencia de  $10^7$  hasta  $10^{11}$  ufc.

55 La presente invención es especialmente adecuada para inducir un patrón de sueño más maduro en los bebés y mejorar así su calidad de sueño y reducir los episodios de desvelo. En una forma de ejecución la presente invención se refiere a la reducción de las perturbaciones del sueño y/o a la mejora de los patrones de sueño en bebés o animales jóvenes.

La composición nutricional terapéutica para tratar este grupo de edad es preferiblemente una fórmula infantil o una fórmula de seguimiento, o el correspondiente producto para mascotas o animales.

60 En una forma de ejecución la mejora de la calidad o del patrón del sueño se caracteriza, comprende o se limita a reducir el número de episodios de estados de vigilia y/o la fragmentación del sueño y/o a aumentar la duración de los estados de vigilia (indicador de un patrón de sueño/vigilia mejor y menos fragmentado).

65 En una forma de ejecución la mejora de la calidad del sueño se caracteriza por noches más largas sin despertarse involuntariamente y por un sueño más tranquilo.

En una forma de ejecución la mejora de la calidad del sueño se caracteriza por una mejor capacidad de conciliar el sueño.

- 5 En una forma de ejecución se mejora la calidad del sueño de sujetos que sufren un patrón de sueño alterado, tal como un sueño fragmentado, pesadillas o insomnio.

10 A continuación se describe un ejemplo de composición general de una fórmula infantil para usarla según la presente invención. La fórmula infantil puede contener una fuente proteica en proporción no superior a 4,0, 3,0 o 2,0 g/100 kcal, preferiblemente de 1,8 hasta 2,0 g/100 kcal. No se cree que el tipo de proteína sea crítico para la presente invención, siempre que se cumplan los requisitos mínimos de contenido de aminoácidos esenciales y se garantice un crecimiento satisfactorio, aunque es preferible que más del 50% en peso de la fuente proteica sea suero de leche. En una forma de ejecución el contenido de proteína está comprendido entre 30% y 80% de proteínas de suero de leche. Por lo tanto se pueden emplear fuentes proteicas basadas en suero de leche, caseína y mezclas de las mismas, así como fuentes proteicas a base de soja. Por lo que respecta a las proteínas de suero de leche, la fuente proteica puede estar basada en suero ácido o suero dulce o en mezclas de los mismos y puede incluir alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina en cualquier proporción deseada.

20 Las proteínas pueden ser intactas o hidrolizadas o una mezcla de proteínas intactas e hidrolizadas. El suministro de proteínas parcialmente hidrolizadas (grado de hidrólisis entre el 2 y 20%) puede ser conveniente, por ejemplo, para los bebés supuestamente con riesgo de desarrollar alergia a la leche de vaca. Si se requieren proteínas hidrolizadas, el proceso de hidrólisis puede efectuarse del modo deseado y conocido en el estado técnico. Por ejemplo, se puede preparar un hidrolizado de proteína de suero de leche hidrolizando enzimáticamente la fracción de suero en una o más etapas. Cuando la fracción de suero utilizada como material de partida está prácticamente libre de lactosa se observa que la proteína sufre mucho menos bloqueo de lisina durante el proceso de hidrólisis, lo cual permite reducir el nivel del bloqueo de lisina de aproximadamente un 15% en peso de lisina total hasta menos de aproximadamente un 10% en peso de lisina, por ejemplo hasta aproximadamente el 7% en peso de lisina, mejorando con ello en gran medida la calidad nutricional de la fuente proteica.

30 La fórmula infantil puede contener una fuente de carbohidratos. Se puede usar cualquier fuente de hidratos de carbono encontrados convencionalmente en las fórmulas infantiles, tales como lactosa, sacarosa, maltodextrina, almidón y sus mezclas, aunque la fuente preferida de carbohidratos es la lactosa. Preferentemente las fuentes de carbohidratos aportan entre el 35% y el 65% de la energía total de la fórmula. En una forma de ejecución preferida de la presente invención los carbohidratos incluyen carbohidratos de arroz. En una forma de ejecución, al menos el 5%, al menos el 10%, al menos el 25% o al menos el 50%, al menos el 70%, al menos el 90% o aproximadamente el 100% de los carbohidratos (p/p) son carbohidratos de arroz. En el contexto de la presente invención se ha demostrado que una proporción mínima de carbohidratos de arroz (de al menos el 10% p/p de los carbohidratos totales) puede aportar un beneficio esencial al patrón de sueño. Cuanto mayor sea el contenido de carbohidratos de arroz, mayor será la mejora. Se puede suponer que el efecto está relacionado con la presencia de almidón (en los carbohidratos de arroz), con la naturaleza particular de los carbohidratos de arroz y/o con los compuestos adicionales (aparte del almidón) contenidos en los carbohidratos de arroz. Esta composición nutricional de la presente invención que contiene carbohidratos de arroz puede ser de uso especial para las fórmulas infantiles, las fórmulas de seguimiento o los alimentos destinados a niños, niños pequeños o bebés, y especialmente a aquellos que tienen alteraciones del patrón de sueño (por ejemplo, debido a cólicos) y más particularmente para bebés entre 0 y 12 meses.

45 La fórmula infantil puede incluir una fuente de lípidos. La fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa que sea adecuada para usar en fórmulas infantiles. Las fuentes de grasa preferidas incluyen oleína de palma, aceite de girasol rico en oleico y aceite de cártamo rico en oleico. También se pueden agregar los ácidos grasos esenciales linoleico y ácido  $\alpha$ -linolénico, al igual que pequeñas proporciones de aceites que lleven grandes cantidades de ácido araquidónico y ácido docosaheptaenoico preformados, como los aceites de pescado o los aceites microbianos. Es preferible que el contenido de grasa contribuya al 30 hasta el 55% de la energía total de la fórmula. En la fuente de grasa, la relación preferida de ácidos grasos n-6 a n-3 está comprendida entre 5:1 y 15:1 aproximadamente, por ejemplo entre 8:1 y 10:1 aproximadamente.

50 Una fórmula infantil según la presente invención contiene además, preferiblemente, al menos un prebiótico en una proporción del 0,3 al 10%. Un prebiótico es un ingrediente alimentario indigerible que beneficia al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon y por tanto mejora la salud del huésped. Estos ingredientes no son digeribles por cuanto no se descomponen y absorben en el estómago o en el intestino delgado y por lo tanto pasan intactos al colon, donde son fermentados selectivamente por las bacterias beneficiosas. Los ejemplos de prebióticos comprenden ciertos oligosacáridos, como los fructo-oligosacáridos (FOS), los oligosacáridos de leche de vaca (CMOS) y los galacto-oligosacáridos (GOS). Se puede usar una combinación de prebióticos tal como 90% de GOS con 10% de fructo-oligosacáridos de cadena corta, como el producto comercializado con la marca registrada Raftilose®, o con 10% de inulina, como el producto comercializado con la marca registrada Raftiline®. Otros ejemplos de prebióticos utilizables según la presente invención incluyen el grupo de oligosacáridos obtenidos de la leche u otras fuentes, que opcionalmente llevan ácido siálico, fructosa, fucosa, galactosa o manosa; Los prebióticos preferidos son sialo-oligosacáridos (SOS), fructo-oligosacáridos (FOS), galacto-oligosacáridos (GOS),

isomalto-oligosacáridos (IMO), xilo-oligosacáridos (XOS), arabino-xilo-oligosacáridos (AXOS), manano-oligosacáridos (AOSOS), oligosacáridos de soja, glucosil-sacarosa (GS), lactosacarosa (LS), sialil-lactosa (SL), fucosil-lactosa (FL), lacto-N-neotetraosa (LNNT), lactulosa (LA), palatinosa-oligosacáridos (PAO), malto-oligosacáridos, gomas y/o sus hidrolizados, pectinas, almidones y/o sus hidrolizados.

5 La fórmula infantil también puede contener todas las vitaminas y minerales que se consideran esenciales en la dieta diaria y en cantidades nutricionalmente significativas. Se han establecido unos requisitos mínimos para determinadas vitaminas y minerales. Los ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes opcionalmente presentes en la fórmula infantil incluyen vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, 10 vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantoténico, colina, calcio, fósforo, yodo, hierro, magnesio, cobre, cinc, manganeso, cloruro, potasio, sodio, selenio, cromo, molibdeno, taurina y L-carnitina. Generalmente los minerales se incorporan en forma salina. La presencia y las proporciones de minerales específicos y otras vitaminas variarán en función de la población infantil prevista.

15 Si es necesario, la fórmula infantil puede contener emulsionantes y estabilizantes tales como lecitina de soja, ésteres del ácido cítrico de mono- y diglicéridos, y similares.

La fórmula infantil puede contener opcionalmente otras sustancias de potencial efecto beneficioso, tales como fibras, lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos y similares.

20 Finalmente, la fórmula contendrá  $10^3$  hasta  $10^{12}$  ufc/g de fórmula infantil de una cepa bacteriana probiótica, con mayor preferencia de  $10^9$  hasta  $10^9$  ufc/g de fórmula.

25 La fórmula infantil descrita anteriormente se puede preparar de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, se puede preparar mezclando la proteína, la fuente de carbohidratos y la fuente de grasa en proporciones apropiadas. En caso de usarlos, los emulsionantes pueden incluirse en este momento. Las vitaminas y minerales también se pueden añadir en este punto, pero en general se incorporan más tarde para evitar la degradación térmica. Cualquier vitamina lipófila, emulsionante y similares puede disolverse en la fuente de grasa antes de la mezcla. El agua, preferiblemente agua que haya sido sometida a ósmosis inversa, puede añadirse luego para formar una mezcla líquida. Es conveniente que la temperatura del agua esté comprendida entre  $50^{\circ}\text{C}$  y  $80^{\circ}\text{C}$ , aproximadamente, para facilitar la dispersión de los 30 ingredientes. Se pueden usar licuadores comercialmente disponibles para formar la mezcla líquida. Luego la mezcla líquida se homogeneiza; por ejemplo en dos etapas.

35 Después la mezcla líquida puede tratarse térmicamente para reducir las cargas bacterianas, calentándola rápidamente a una temperatura comprendida en el intervalo aproximado de  $80^{\circ}\text{C}$  hasta  $150^{\circ}\text{C}$  durante 5 segundos hasta 5 minutos aproximadamente, por ejemplo, lo cual puede realizarse por inyección de vapor, esterilización en autoclave o mediante un intercambiador de calor; por ejemplo con un intercambiador de calor de placas.

40 A continuación la mezcla líquida se puede enfriar entre  $60^{\circ}\text{C}$  y  $85^{\circ}\text{C}$  aproximadamente, por ejemplo por enfriamiento instantáneo. La mezcla líquida se puede homogeneizar de nuevo; por ejemplo en dos etapas a 10 MPa hasta 30 MPa aproximadamente en la primera etapa y a 2 MPa hasta 10 MPa aproximadamente en la segunda etapa. Después la mezcla homogeneizada se puede enfriar para agregar cualquier componente sensible al calor, tal como vitaminas y minerales. El pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada se ajustan adecuadamente en este momento.

45 La mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado adecuado, tal como un secador por pulverización o un liofilizador, y se convierte en polvo. El polvo debe tener aproximadamente un contenido de humedad inferior al 5% en peso. La cepa bacteriana probiótica se puede añadir en esta etapa, mezclándola en seco.

50 En otra forma de ejecución la composición puede ser un suplemento que incluye la cepa bacteriana probiótica en una cantidad suficiente para conseguir el efecto deseado en un individuo. Esta forma de administración es más adecuada para los niños, aunque el probiótico se puede administrar a los bebés en forma de gotas de aceite en las cuales están suspendidas las bacterias probióticas. Un ejemplo de este producto son las gotas probióticas BioGaia que contienen *L. reuteri* DSM 17938, comercializadas por BioGaia AB, Suecia.

55 La dosis diaria del probiótico es preferiblemente de  $10^3$  hasta  $10^{12}$  ufc. La cantidad de probiótico que debe incluirse en el suplemento se seleccionará en función de cómo se administre el suplemento. Por ejemplo, si el suplemento debe administrarse dos veces al día, cada suplemento puede contener  $5 \times 10^2$  hasta  $5 \times 10^{11}$  ufc de probiótico. El suplemento puede estar en forma de tabletas, cápsulas, pastillas, supositorios, chicles o también en forma líquida, por ejemplo. El suplemento puede incluir adicionalmente hidrocoloides protectores (como gomas, proteínas, almidones modificados), 60 aglutinantes, agentes filmógenos, agentes/materiales de encapsulación, materiales de pared/envoltura, compuestos matriciales, recubrimientos, emulsionantes, agentes surfactantes, agentes solubilizantes (como aceites, grasas, ceras, lecitinas, etc.), adsorbentes, vehículos, cargas, compuestos auxiliares, agentes dispersantes, agentes humectantes, coadyuvantes de proceso (solventes), agentes fluidificantes, agentes para enmascarar el sabor, agentes espesantes y agentes gelificantes. El suplemento también puede contener aditivos y adyuvantes, excipientes y diluyentes usuales en farmacia, incluidos, entre otros, agua, gelatina de cualquier origen, gomas vegetales, sulfonato de lignina, talco, 65 azúcares, almidón, goma arábica, aceites vegetales, polialquilenglicoles, saborizantes, conservantes, estabilizantes,

agentes emulsionantes, tampones, lubricantes, colorantes, agentes humectantes, cargas y similares.

Además, el suplemento puede contener un vehículo orgánico o inorgánico apto para la administración oral o enteral, así como vitaminas, minerales, oligoelementos y otros micronutrientes, según las recomendaciones de organismos gubernamentales como la USRDA.

En una forma de ejecución la presente invención se refiere a la reducción de los trastornos del sueño y/o a la mejora de los patrones de sueño en humanos en adultos, niños mayores (en particular niños entre 3 y 12 años), adolescentes o a cualquier edad.

En otra forma de ejecución la presente invención se refiere a proporcionar los beneficios descritos mediante el uso de probióticos para mascotas y otros animales, tales como gatos, perros o caballos.

La presente invención se ilustra ahora adicionalmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos:

**Ejemplo 1**

A continuación se indica un ejemplo de la composición de una fórmula infantil para usar de acuerdo con la presente invención. Esta composición se ofrece solo a modo de ilustración. Las proteínas de la siguiente composición son de suero de leche y caseína (por ejemplo 70% de suero de leche y 30% de caseína). En una forma de ejecución alternativa las proteínas son exclusivamente de suero de leche.

Nutriente	por 100 kcal	por litro
Energía (kcal)	100	670
Proteína (g)	1,83	12,3
Grasa (g)	5,3	35,7
Ácido linoleico	0,79	5,3
Ácido α-linolénico (mg)	101	675
Lactosa (g)	11,2	74,7
Prebiótico (100% GOS) (g)	0,64	4,3
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 (µg)	8	50
Se (µg)	2	13
Vitamina A (µg RE)	105	700
Vitamina D (µg)	1,5	10
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,4
Vitamina K1 (µg)	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 (µg)	9	60
Ácido pantoténico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 (µg)	0,3	2
Biotina (µg)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I (µg)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5
<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938	2·10 <sup>7</sup>	ufc/g de polvo

**Ejemplo 2**

A continuación se indica un ejemplo de la composición de una fórmula infantil de seguimiento para usar conforme a la presente invención. Esta composición se ofrece solo a modo de ilustración. Las proteínas de la siguiente composición son de suero de leche y caseína. En otra forma de ejecución las proteínas son exclusivamente de suero de leche.

Nutriente	Fórmula infantil de seguimiento para bebés de 6 a 12 meses	
	por 100 kcal	por litro
Energía (kcal)	100	630
Proteína (g)	1,8	11,3
Grasa (g)	5,0	31,5
Ácido linoleico	0,75	4,7
Ácido $\alpha$ -linolénico (mg)	95	600
Lactosa (g)	11,9	75
Prebiótico (100% GOS) (g)	0,63	4,0
Minerales (g)	0,37	2,3
Na (mg)	25	158
K (mg)	80	504
Cl (mg)	65	410
Ca (mg)	60	378
P (mg)	33	208
Mg (mg)	7	44
Mn ( $\mu$ g)	5	32
Se ( $\mu$ g)	3	19
Vitamina A ( $\mu$ g RE)	90	570
Vitamina D ( $\mu$ g)	1,5	9,5
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,0
Vitamina K1 ( $\mu$ g)	8	50
Vitamina C (mg)	15	95
Vitamina B1 (mg)	0,1	0,6
Vitamina B2 (mg)	0,1	0,6
Niacina (mg)	0,5	3,2
Vitamina B6 (mg)	0,06	0,4
Ácido fólico ( $\mu$ g)	15	95
Ácido pantoténico (mg)	0,8	5,0
Vitamina B12 ( $\mu$ g)	0,2	1,3
Biotina ( $\mu$ g)	2,0	12,6
Colina (mg)	15	95
Fe (mg)	1,0	6,3
I ( $\mu$ g)	15	95
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,9	5,7
<i>BB536 (=ATCC BAA-999, depositada por Morinaga, (obtenida de Morinaga Milk Industry, Co., Ltd, Tokyo, Japón) Y/O Lactobacillus reuteri DSM 17938 (obtenida de Biogaia - BioGaia AB, Suecia)</i>	2 · 10 <sup>6</sup> ufc/g de polvo Y/O 10 <sup>7</sup> ufc/g de polvo	

**Ejemplo 3**

- 5 A continuación se indica un ejemplo de la composición de una fórmula infantil de seguimiento para usar conforme a la presente invención. Esta composición se ofrece solo a modo de ilustración. Las proteínas de la siguiente composición son de suero de leche y caseína en una proporción de 50/50. En una forma de ejecución alternativa las proteínas son exclusivamente o en un 70% (p/p) de suero de leche. En este ejemplo el 16% (p/p) de los carbohidratos son de arroz (en una forma alternativa similar el 25% (p/p) de los carbohidratos son de arroz). Se pueden añadir prebióticos a la formulación.
- 10

Nutriente	Fórmula infantil de seguimiento para bebés de 6 a 12 meses	
	por 100 kcal	por litro
Energía (kcal)	100	670
Proteína (g)	2,2	14,6
Grasa (g)	3,7	31,6
Ácido linoleico	0,76	5,1
Ácido $\alpha$ -linolénico (mg)	88	590



(continuación)

Nutriente	Fórmula infantil de seguimiento para bebés de 6 a 12 meses	
	por 100 kcal	por litro
Lactosa (g)	7,44	81,2
Maltodextrina (g)	2,1	14,2
Almidón (g)	2,59	17,3
Prebiótico (100% GOS) (g)	0,63	4,0
Minerales (g)	0,58	3,9
Na (mg)	39	158
K (mg)	113	760
Cl (mg)	73	490
Ca (mg)	105	700
P (mg)	66	440
Mg (mg)	11,4	76
Vitamina A (µg RE)	90	570
Vitamina D (µg)	1,5	9,5
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,0
Vitamina K1 (µg)	8	50
Vitamina C (mg)	15	95
Vitamina B1 (mg)	0,1	0,6
Vitamina B2 (mg)	0,1	0,6
Niacina (mg)	0,5	3,2
Vitamina B6 (mg)	0,06	0,4
Ácido fólico (µg)	15	95
Ácido pantoténico (mg)	0,8	5,0
Vitamina B12 (µg)	0,2	1,3
Biotina (µg)	2,0	12,6
Colina (mg)	15	95
Fe (mg)	1,0	6,3
I (µg)	15	95
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,9	5,7
<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938 (obtenida de Biogaia - BioGaia AB, Suecia) Y/O	10 <sup>7</sup> ufc/g de polvo	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> CGMCC 1.3724 Y/O	10 <sup>6</sup> ufc/g de polvo Y/O	
<i>BB536</i> (=ATCC BAA-999, depositada por Morinaga, (obtenida de Morinaga Milk Industry, Co., Ltd, Tokyo, Japón)	10 <sup>6</sup> ufc/g de polvo	

**Ejemplo 4. Efecto de los probióticos en la calidad del sueño**

5 El estrés provocado en ratas gestantes produce alteraciones de la calidad del sueño en la progenie (es decir, animales con estrés prenatal o EPR) similares a las experimentadas por los bebés y niños con patrones de sueño perturbados y por los adultos que tienen un sueño de mala calidad e insomnio. Estas alteraciones se caracterizan por un sueño más ligero y por más episodios de vigilia (es decir, mayores proporciones de sueño MOR, menores proporciones de NMOR y mayor fragmentación del sueño (Dugovic, 1999)). Este modelo se ha empleado para evaluar la eficacia de la administración de probióticos en la calidad del sueño.

15 Se implantaron electrodos crónicos en ratas EPR (es decir, progenie de madres sometidas a estrés por confinamiento durante la gestación) y en ratas de control (es decir, progenie de madres no estresadas) bajo anestesia profunda, con el fin de obtener registros poligráficos del electroencefalograma frontoparietal (EEG), del electrooculograma (EOG) y del electromiograma nual (EMG). Todos los electrodos se conectaron a un microconector y se fijaron al cráneo con cemento dental. Las actividades del EEG, EOG y EMG se registraron en un polígrafo (EEG-4414 A/K; Nihon-Khoden) con una salida conectada a una computadora para el análisis espectral en línea del EEG. Después de la cirugía de implantación de los electrodos, las ratas se alojaron individualmente en jaulas de plexiglás (de 30 cm de diámetro y 40 cm de altura) y se dejaron tranquilas durante 2 semanas. Luego los animales se habituaron al procedimiento de registro del sueño durante los siguientes 14 días. Durante este periodo recibieron por sonda placebo o uno de los dos probióticos. Finalizado el periodo de habituación se registró el sueño durante un periodo de 24 horas, comenzando al inicio de la fase ligera. Los registros poligráficos se evaluaron visualmente por periodos de 30 segundos. Esos periodos se clasifican en vigilia, sueño NMOR o sueño MOR. Se registró la cantidad de tiempo pasado en los tres estados de

observación y el número y la duración de los episodios en cada estado. Se estudiaron los siguientes grupos:

**EPRr:** animales EPR que recibieron 1 ml/día de gotas de aceite que contenían  $10^9$  ufc de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (BioGaia Probiotic drops, BioGaia AB, Suecia)

5 **EPRb:** animales EPR que recibieron 1 ml/día de solución salina que contenía  $10^{10}$  ufc de *Bifidobacterium longum* NCC3001 (ATCC BAA-999, inicialmente proporcionado por Morinaga Milk Industry Co. Ltd) disuelto en solución salina

**EPRp:** animales EPR que recibieron 1 ml/día de gotas que contenían el mismo vehículo oleoso que el producto de *L. reuteri*, pero sin el probiótico.

10 **Control:** animales de referencia que recibieron 1 ml/día de gotas que contenían el mismo vehículo oleoso que el producto de *L. reuteri*, pero sin el probiótico.

Los resultados se muestran en las figuras 1 y 2. Tal como se esperaba, en el caso de los animales EPRp disminuyó la cantidad de tiempo transcurrido en sueño tranquilo (NMOR, figura 1B) y aumentó el tiempo transcurrido en sueño activo (MOR, figura 1C), en comparación con el grupo de control, mientras que la duración del estado de vigilia (figura 1A) fue similar en ambos grupos. La administración de ambos probióticos normalizó la duración de los estados NMOR y MOR sin afectar a la duración del estado de vigilia. En consonancia, el número de episodios de vigilia (figura 2A), NMOR (figura 2B) y MOR (figura 2C) durante las 24 horas fue mayor en el grupo EPRp que en los animales de control, lo cual indica un incremento de la fragmentación del sueño y un mayor número de episodios de vigilia en el grupo EPRp. Ambos probióticos redujeron la cantidad de episodios de vigilia y la fragmentación del sueño hasta los niveles de control.

En conclusión, los datos demuestran que la administración de probióticos normaliza los patrones de sueño y mejora la calidad del sueño en el modelo animal. Una mejor calidad del sueño produjo probablemente un mejor estado de alerta durante el estado de vigilia en los grupos de probióticos, como lo sugiere el menor número y la mayor duración (datos no mostrados) de los episodios de vigilia en los grupos de probióticos, en comparación con el grupo EPR de placebo.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de una cepa bacteriana probiótica en la elaboración de un medicamento o una composición nutricional para humanos o animales que tienen mala calidad de sueño y/o insomnio, con el fin de disminuir el tiempo de sueño activo (MOR) y aumentar el tiempo de sueño tranquilo (NMOR), siendo MOR la duración del sueño activo (en minutos) y NMOR la duración del sueño tranquilo (en minutos), de modo que dicha cepa bacteriana probiótica es *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 o *Bifidobacterium longum* NCC3001 / ATCC BAA-999.
- 10 2. El uso según la reivindicación 1, en el cual dichos humanos o animales son bebés, animales jóvenes o niños pequeños.
- 15 3. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que dicha composición nutricional induce un patrón de sueño maduro o reduce el número de episodios de vigilia en dichos humanos o animales.
- 20 4. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que la dosis diaria de bacterias probióticas es de  $10^3$  hasta  $10^{12}$  unidades formadoras de colonias (ufc), con mayor preferencia de  $10^7$  a  $10^{11}$  ufc.
- 25 5. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que dicho medicamento o composición nutricional contiene  $10^3$  hasta  $10^{12}$  unidades formadoras de colonias (ufc), con mayor preferencia  $10^7$  hasta  $10^{11}$  ufc, de bacterias probióticas por g de medicamento o composición.
- 30 6. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que la composición nutricional terapéutica lleva la cepa bacteriana probiótica en una proporción de  $10^3$  hasta  $10^{12}$  ufc/g del medicamento seco o composición nutricional seca, con mayor preferencia de  $10^6$  hasta  $10^9$  ufc/g del medicamento seco o composición nutricional seca.
- 35 7. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que el medicamento es un suplemento y la cepa bacteriana probiótica está presente en una cantidad de  $10^3$  hasta  $10^{12}$  ufc por dosis unitaria.
- 40 8. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que el medicamento o la composición nutricional está en forma de un reforzante de la leche humana, una fórmula infantil, una fórmula de continuación, una leche de crecimiento, un cereal infantil, un alimento para bebés, un yogur, una barra de cereales, un cereal para el desayuno, un postre, un alimento congelado, una sopa, una comida para mascotas, una suspensión líquida, un producto en polvo, una tableta, un chicle, una golosina, una composición nutricional o un suplemento nutricional de apoyo para estados patológicos particulares inductores de alteraciones del sueño tales como alergias o intolerancias alimentarias, desnutrición, inflamación crónica, enfermedades críticas, traumatismos, infecciones, cirugía, trastornos de déficit de atención/hiperactividad, depresión, ansiedad, fatiga o estrés.
- 45 9. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que dicho medicamento o composición nutricional induce un patrón de sueño más maduro.
10. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de modo que dicha composición nutricional contiene carbohidratos y dichos carbohidratos incluyen carbohidratos de arroz, y preferiblemente al menos el 10% (p/p) de dichos carbohidratos son de arroz.
11. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, de modo que dicha composición nutricional es una fórmula infantil o una fórmula infantil de seguimiento.

Figura 1

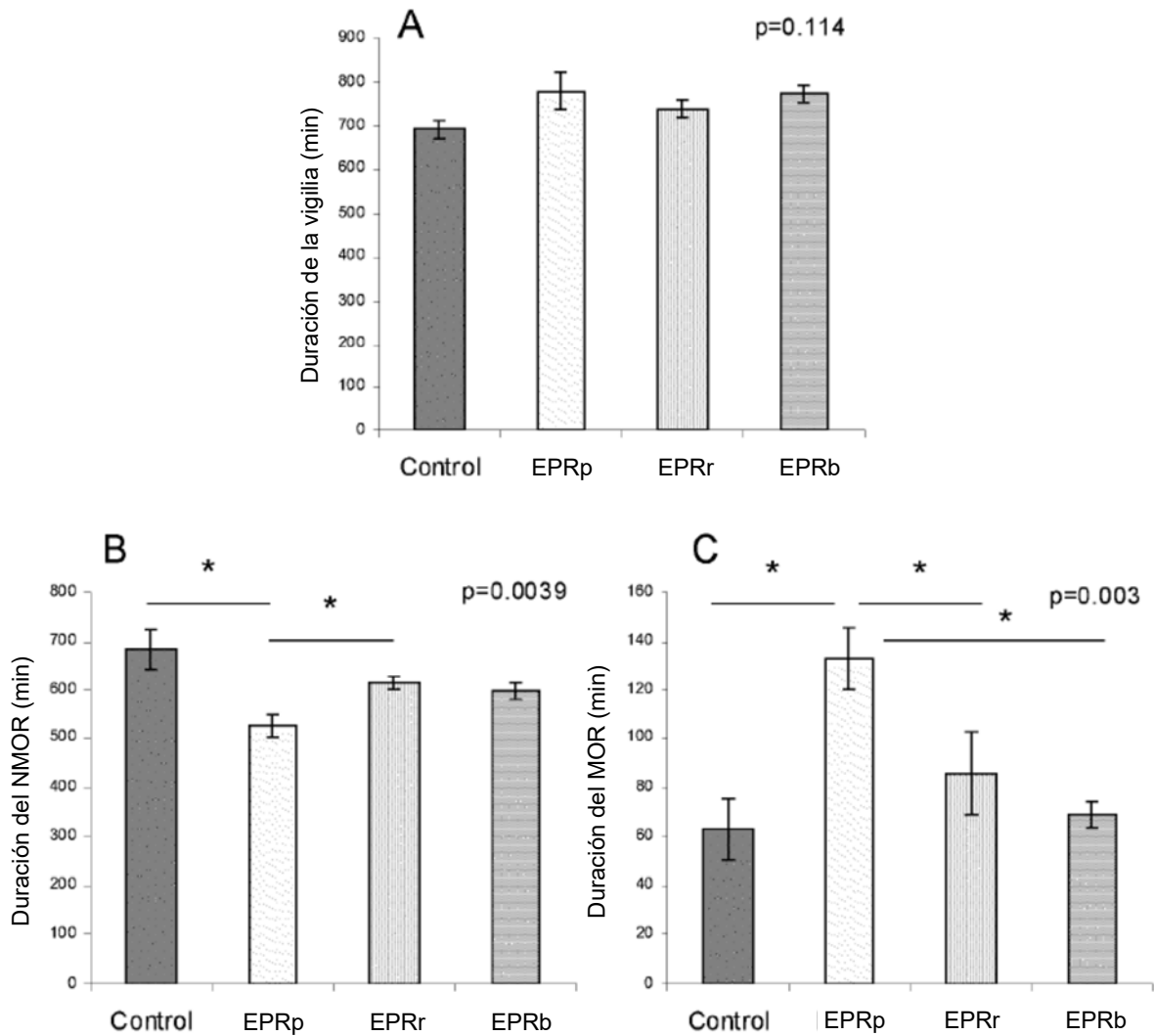


Figura 1. Duración total (en minutos) de los estados vigilia (A), NMOR (B) y MOR (C) durante el periodo de 24 horas de registro poligráfico en animales de control o estrés prenatal (EPR). Los animales recibieron placebo (Control y EPRp), *L. reuteri* DSM 17938 (EPRr) o *B. Longum* ATCC BAA-999 (EPRb) a través de sonda gástrica durante los 14 días anteriores a los registros poligráficos. Se muestran los datos de los valores medios  $\pm$  ESM, así como el valor p para el efecto global en el grupo (prueba ANOVA unidireccional). El símbolo \* entre dos barras indica una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los dos grupos (prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer).

Figura 2

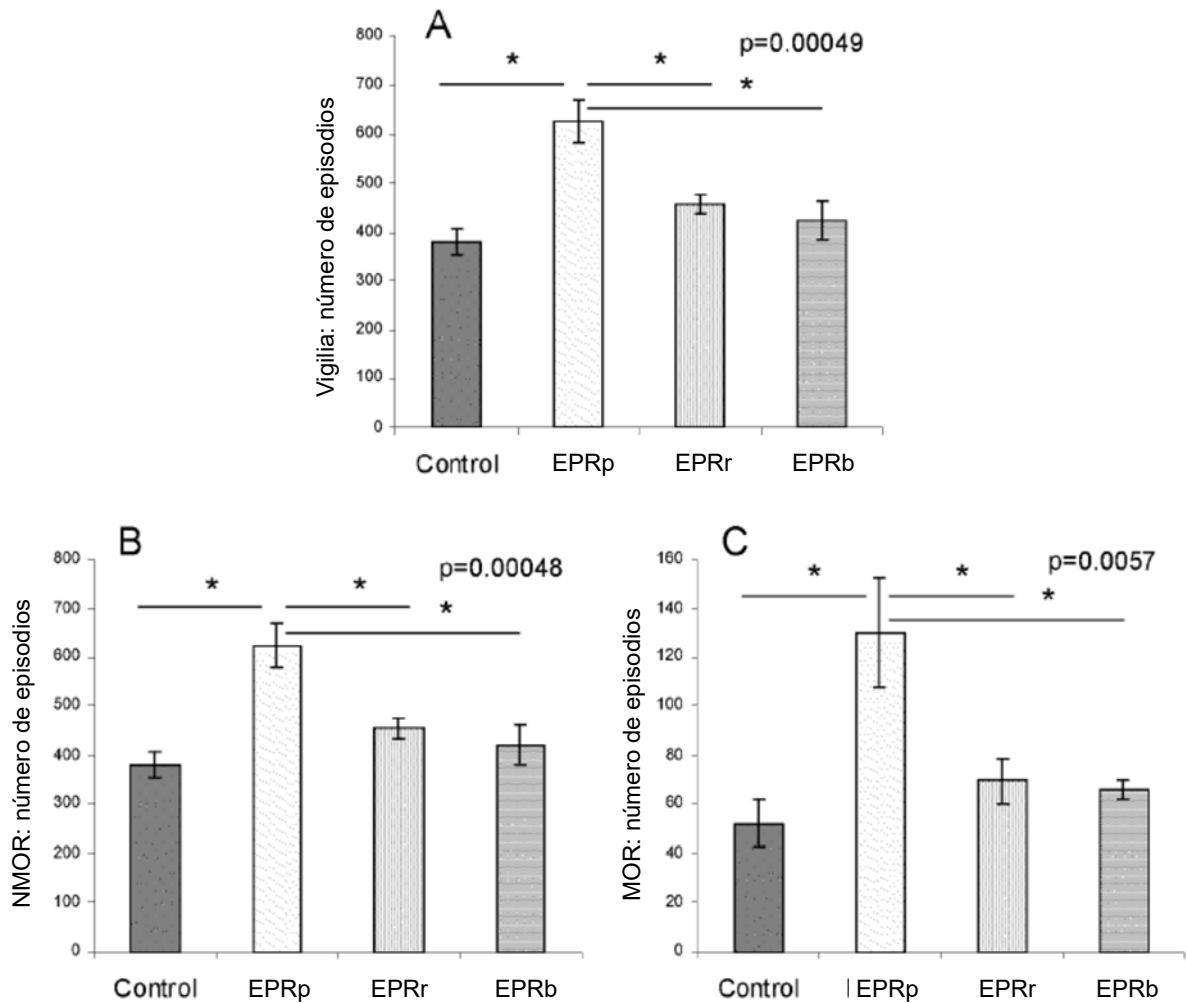


Figura 2. Número de episodios de vigilia (A), NMOR (B) y MOR (C) en el periodo de 24 horas de registro poligráfico en animales de control o estrés prenatal (EPR). Los animales recibieron placebo (Control y EPRp), *L. reuteri* DSM 17938 (EPRr) o *B. Longum* ATCC BAA-999 (EPRb) a través de sonda gástrica durante los 14 días anteriores a los registros poligráficos. Se muestran los datos de los valores medios  $\pm$  ESM, así como el valor p para el efecto global en el grupo (prueba ANOVA unidireccional). El símbolo \* entre dos barras indica una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los dos grupos (prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer).