



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 346 802**

51 Int. Cl.:
A23L 1/29 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07704233 .1**

96 Fecha de presentación : **30.01.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **1981358**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.10.2008**

54 Título: **Composición nutritiva para bebés con poco peso al nacimiento.**

30 Prioridad: **31.01.2006 EP 06101078**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.10.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.10.2010

73 Titular/es: **Nestec S.A.**
Avenue Nestlé, 55
1800 Vevey, CH

72 Inventor/es: **Haschke, Ferdinand y**
Magliola, Corinne Renée

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 346 802 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 nutritiva para bebés con poco peso al nacimiento.

5 Ámbito de la invención

Esta invención se refiere a una composición nutritiva para bebés prematuros de bajo peso al nacimiento, y a un método para satisfacer las necesidades nutritivas de dichos bebés.

10

Antecedentes de la invención

15 La leche materna está recomendada para todos los bebés. Sin embargo, en algunos casos, particularmente en el caso de bebés nacidos prematuramente, la alimentación con el pecho puede ser inadecuada o insatisfactoria o desaconsejable por razones médicas o incluso, imposible. Fórmulas para bebés han sido desarrolladas para estas situaciones.

20 Los bebés prematuros son aquellos bebés nacidos antes de completarse la semana 37 del embarazo. Dichos bebés generalmente presentan una inmadurez funcional que es más pronunciada cuanto mayor es el grado de premadurez. Esta inmadurez se manifiesta por sí misma de diferentes maneras. Por ejemplo, el bebé prematuro tiene probablemente un tracto gastrointestinal inmaduro, en particular por lo que respecta a la capacidad de absorber los nutrientes y al desarrollo y eficiencia de la función de barrera del intestino.

25 Se han propuesto varias técnicas para mejorar la función de barrera del intestino o la salud gastrointestinal de los bebés prematuros. Por ejemplo, en la patente US 6132710, se administran cepas purificadas de *Lactobacillus salivarius* y *Lactobacillus plantarum* a los bebés prematuros para prevenir las lesiones causadas por una infección e inflamación del tejido de las mucosas, especialmente mediante la administración nasogástrica para prevenir las lesiones del tejido gastrointestinal y reducir el riesgo de enterocolitis necrotizante neonatal.

30 También la patente US-A-5411751 describe productos alimenticios para bebés reduciendo la irritación gastrointestinal, especialmente para niños de bajo peso al nacimiento.

35 Además, el bebé prematuro puede también sufrir de una capacidad restringida para metabolizar algunos aminoácidos como por ejemplo la fenilalanina, lo cual puede dar como resultado graves desequilibrios de aminoácidos si la toma de proteína excede la capacidad degradativa. Por otra parte, la capacidad de un aminoácido esencial puede ser un factor limitante para la síntesis de las proteínas y por lo tanto para el crecimiento. De hecho, en el bebé prematuro, algunos aminoácidos como por ejemplo la tirosina y la cisteína, que no son esenciales para un bebé prematuro, pueden llegar a ser esenciales.

40 Recientes avances de la ciencia médica han permitido que los bebés nacidos cada vez más prematuramente, tengan una opción de supervivencia. Actualmente, el peso mínimo al nacimiento para que sea posible la supervivencia se cree que está entre 500 y 600 gramos. Estos bebés se enfrentan con particulares problemas ligados tanto a su bajo peso como a su grado de inmadurez.

45 Si estos bebés de muy bajo peso al nacimiento hubieran permanecido en el útero durante el período normal de un embarazo humano, además de lograr un desarrollo fisiológico normal, hubieran tenido al mismo tiempo un crecimiento rápido en tamaño. Sería deseable proporcionar la nutrición a dichos bebés ajustada para ayudarlos a lograr un grado similar de crecimiento al que hubieran tenido en el útero. Sin embargo, la necesidad de evitar el forzar la capacidad del metabolismo inmaduro y las funciones excretoras, sobrecargándolas, hace que la selección de la calidad y cantidad de proteínas sea de considerable importancia para el diseño de fórmulas para bebés, para bebés con muy poco peso al nacimiento.

55 Resumen de la invención

La presente invención proporciona una composición nutritiva para bebés de muy bajo peso al nacimiento, la cual comprende de 26 a 38 gramos/litro de una fuente de proteínas de suero de leche de vaca hidrolizada hipoalergénica, con un grado de hidrólisis entre 8 y 20, 37 a 46 gramos/litro, de una fuente de grasa en la cual, del 20 al 50% son triglicéridos de cadena mediana, y la cual tiene un ratio n6:n3 entre 6 y 12, y 50 a 100 gramos/litro de una fuente de hidratos de carbono, la cual composición contiene entre 3,2 y 4,0 gramos de proteína por 100 kcal.

65 La invención se extiende al empleo de una fuente de proteínas del suero de leche de vaca hidrolizado hipoalergénico, con un grado de hidrólisis entre 8 y 20 en una cantidad correspondiente a un contenido de proteína desde 3,2 a 4,0 g de proteína por 100 kcal en la fabricación de una composición nutritiva, o medicamento para promover el crecimiento en los bebés de muy bajo peso al nacimiento.

La invención se extiende además a un método para promover el crecimiento de un bebé de muy bajo peso al nacimiento en necesidad del mismo, mediante la administración al bebé de una cantidad de una composición nutritiva que comprende una fuente de proteínas de suero de leche de vaca hidrolizadas hipoalergénicas, con un grado de hidrólisis entre 8 y 20 en una cantidad correspondiente a un contenido de proteína desde 3,2 a 4,0 gramos de proteína por 100 kcal.

Descripción detallada de la invención

En esta especificación, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

“Bebé de muy bajo peso al nacimiento”, o “bebé VLBW” significa un bebé con un peso al nacimiento inferior a 1500 gramos.

“Grado de hidrólisis” (DH), significa el porcentaje de nitrógeno en forma de nitrógeno alpha amino libre, comparado con el nitrógeno total, medido por el método TNBS descrito por Adler-Nissen *et al.*, en “Determination of the Degree of Hydrolysis of Food Protein Hydrolysates by Trinitrobenzenesulfonic acid” (“Determinación del grado de hidrólisis del hidrolizado de proteína comestible, mediante el ácido trinitrobenzenosulfónico” (J. Agric. Food Chem., 1979, vol. 27, n° 6, págs. 1256-1262). Se trata de una medición de la extensión a la cual una proteína ha sido hidrolizada.

“Promoviendo el crecimiento en un bebé VLBW”, significa la asistencia a un bebé VLBW para lograr un grado de crecimiento comparable al que presenta un feto de la misma edad de gestación en el útero.

Todas las referencias a tantos por cientos, son tantos por cientos en peso, a no ser que se diga otra cosa.

Las referencias al contenido de nutrientes específicos en gramos por litro, se refieren a una composición nutritiva, lista para el consumo. En el caso de productos en polvo, se refieren al polvo acabado de acuerdo con las instrucciones.

La composición nutritiva de la invención comprende una fuente de proteína de suero de leche de vaca hidrolizada hipoalergénica con un DH entre 8 y 20, con más preferencia entre 9 y 16. Un grado de hidrólisis particularmente preferido es 14. La proteína de suero de leche de vaca puede ser hidrolizada de cualquier manera adecuada conocida en la técnica, por ejemplo, como se describe en la patente europea n° 322.589. Si la fracción de suero de leche de vaca empleada como material de partida es substancialmente lactosa libre, se ha visto que la proteína sufre mucho menos el bloqueo de la lisina durante la hidrólisis y el subsiguiente proceso térmico. Esto permite reducir la extensión del bloqueo de la lisina desde aproximadamente el 15% en peso de la lisina total a menos de aproximadamente el 10% en peso de la lisina; por ejemplo aproximadamente el 7% en peso de bloqueo de la lisina, lo cual aumenta en gran manera la cualidad nutritiva de la fuente de proteína. La fuente de proteína de suero de leche de vaca, puede ser suero de leche de vaca ácido, suero de leche de vaca dulce, aislado de proteína de suero de leche de vaca, o mezclas de los mismos. De preferencia, sin embargo, la fuente de proteína se basa en el aislado de proteína de suero de leche de vaca o suero de leche de vaca dulce modificado. El suero de leche de vaca dulce es un subproducto fácilmente disponible de la fabricación de queso y con frecuencia se emplea en la fabricación de fórmulas para bebés basadas sobre la leche de vaca. Sin embargo, el suero de leche de vaca dulce incluye un componente que es indeseablemente rico en treonina y pobre en triptófano, llamado caseino-glico-macropéptido (CGMP). La eliminación del CGMP del suero de leche de vaca dulce da como resultado una proteína con un contenido de treonina muy próximo al de la leche humana. Este suero de leche de vaca dulce modificado, puede ser suplementado a continuación con aquellos aminoácidos con respecto a los cuales tiene un bajo contenido (principalmente histidina y arginina). Un procedimiento para la eliminación del CGMP del suero de leche de vaca dulce está descrito en la patente EP 880902.

Si el suero de leche de vaca dulce modificado o el aislado de proteína del suero de leche de vaca se emplea como fuente de proteínas, está de preferencia suplementado por arginina libre en una cantidad desde 0,1 al 2% en peso de proteína, y/o histidina libre en una cantidad desde 0,1 al 3% en peso de proteína.

Un ejemplo de un perfil adecuado de aminoácidos para una composición nutritiva de la presente invención, se da a continuación:

Aminoácido (gramos/100 g de proteína)	Cantidad
Isoleucina	5,1
Leucina	12,1

ES 2 346 802 T3

	Lisina	9,1
5	Metionina	2,2
	Cistina	2,6
10	Fenilalanina	3,7
	Tirosina	3,1
	Treonina	5,6
15	Triptófano	2,1
	Valina	5,2
20	Arginina	3,5
	Histidina	3,6
25	Alanina	5,0
	Acido aspártico	11,0
30	Acido glutámico	15,8
	Glicina	2,2
35	Prolina	4,6
	Serina	4,8

40 La composición nutritiva de la presente invención contiene de 3,2 a 4,0 g de proteína de suero de leche de vaca hidrolizada hipoalergénica por 100 kcal, con más preferencia de 3,4 a 3,7 gramos/100 kcal. Un contenido de proteína particularmente preferido es el de 3,6 g/100 kcal.

45 La composición nutritiva de la presente invención contiene de 37 a 46 g/litro de una fuente de grasa, de la cual del 20 al 50% son triglicéridos de cadena mediana. De preferencia, el contenido de grasa es de 39 a 43 g/litro, de preferencia el contenido en MCT está entre el 25 y el 45%. Los lípidos que completan la fuente de grasa pueden ser cualquier grasa o mezclas de grasas adecuadas. Las grasas vegetales son particularmente adecuadas; por ejemplo el aceite de soja, el aceite de palma, el aceite de coco, el aceite de cártamo, el aceite de girasol, el aceite de maíz, el aceite de canola, y similares. El aceite de coco fraccionado es una fuente adecuada de MCT.

50 Sin embargo, la diferencia principal entre la grasa de leche humana y estos triglicéridos de origen vegetal es que la mayoría de triglicéridos de origen vegetal tienen radicales de ácido graso no saturado en la posición Sn2 mientras que la mayor parte de radicales encontrados habitualmente en la posición Sn2 en los triglicéridos de la leche humana, son del ácido graso palmítico saturado. Se ha demostrado que los radicales de ácido graso se absorben mejor desde la posición Sn2 y que esto es particularmente importante para la absorción del ácido palmítico por los bebés prematuros. Por lo tanto, es preferible incluir en la fuente de grasa, del 5 al 20% de un lípido estructurado en el cual los triglicéridos han sido sometidos a una reesterificación enzimática u otra reesterificación, de manera que los radicales de ácido palmítico están en su mayoría presentes en la posición Sn2. Un ejemplo de un lípido estructurado adecuado es el vendido bajo el nombre registrado de Betapol® por la firma Lipid Nutrition, una firma subsidiaria de Loders Croklaan. De preferencia, por lo menos el 40% de los radicales de ácido palmítico de la fuente de grasa, están en la posición Sn2, con mayor preferencia entre el 45 y el 55%.

60 El ratio n6:n3 de la fuente de grasa empleada en la composición de la presente invención está entre 6 y 12, con mayor preferencia entre 7 y 10. Un ratio n6:n3 particularmente preferido es el de 9:1. Si se desea, la mezcla de grasas puede suplementarse con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, de preferencia aquellos aislados de biomasa fúngica y algal, como por ejemplo, los ácidos araquidónico y docosaheptaenoico, vendidos por la firma Martek Inc con

ES 2 346 802 T3

los nombres registrados de Arasco® y Dhasco® respectivamente, hasta una cantidad total del 3% de la fuente de grasa. De preferencia, el ratio de ácido araquidónico a ácido docosaheptaenoico es aproximadamente de 2:1.

La composición nutritiva contiene de 50 a 100 g/litro, de preferencia 70 a 90 g/litro, de una fuente de hidratos de carbono. Pueden emplearse cualesquiera hidratos de carbono adecuados, por ejemplo la lactosa, los sólidos del jarabe de maíz, las maltodextrinas, y mezclas de los mismos. Son preferidas las mezclas de lactosa y maltodextrina, de preferencia en el margen de 20% de lactosa : 80% de maltodextrina, a 60% de lactosa : 40% de maltodextrina.

Pueden incluirse vitaminas y minerales adecuados, en la composición nutritiva en una cantidad para satisfacer las directrices apropiadas, con particular atención al contenido de sodio, de potasio, de cloruro, de calcio, de fósforo, de hierro, de selenio, de zinc, de vitamina A y de vitamina E. Por ejemplo, la composición puede contener, por 100 kcal, de 50 a 70 mg de sodio (de preferencia, de 55 a 65 mg), de 120 a 150 mg de potasio (de preferencia, de 130 a 140 mg), de 80 a 110 mg de cloruro (de preferencia, de 90 a 100 mg), de 130 a 170 mg de calcio (de preferencia, de 140 a 160 mg), de 80 a 105 mg de fósforo (de preferencia, de 85 a 95 mg), de 1,6 a 2,5 mg de hierro (de preferencia, de 1,7 a 2,0 mg), de 2,0 a 6,0 µg de selenio, (de preferencia, de 3,0 a 5,0 µg), de 1,1 a 1,6 mg de zinc (de preferencia, de 1,4 a 1,6 mg), de 800 a 1200 IU de vitamina A (de preferencia, de 900 a 1100 IU) y de 3 a 9 IU de vitamina E (de preferencia, de 5 a 7 IU).

La composición nutritiva puede contener también nucleótidos en las siguientes cantidades por 100 kcal: UMP 1,0-4,0 mg, CMP 1,5-5,5 mg, AMP 0,3-1,5 mg, y GMP 0,1-0,5 mg.

La composición nutritiva puede prepararse de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, puede prepararse mezclando juntos la proteína hidrolizada de suero de leche de vaca, la fuente de hidratos de carbono, y la fuente de grasa en proporciones adecuadas. Si se emplean, los emulsionantes puede incluirse en este momento. Las vitaminas y minerales puede añadirse en este momento pero habitualmente se añaden más tarde para evitar la degradación térmica. Cualesquiera vitaminas lipofílicas, emulsionantes y similares, pueden disolverse en la fuente de grasa antes de la mezcla. El agua, de preferencia el agua que ha sido sometida a ósmosis inversa, puede mezclarse a continuación en forma de una mezcla de líquidos. La temperatura del agua es convenientemente, aproximadamente de 50°C a aproximadamente 80°C para ayudar a la dispersión de los ingredientes. Pueden emplearse licuefactores comercialmente disponibles, para formar la mezcla de líquidos. La mezcla de líquidos se homogeneiza a continuación; por ejemplo, en dos etapas.

La mezcla de líquidos puede a continuación tratarse térmicamente para reducir las cargas bacterianas, mediante un rápido calentamiento de la mezcla de líquidos a una temperatura en el margen de aproximadamente 80°C a aproximadamente 150°C durante desde aproximadamente 5 segundos hasta aproximadamente 5 minutos, por ejemplo. Esto puede ser efectuado mediante inyección de vapor, en autoclave o mediante un intercambiador térmico; por ejemplo, un intercambiador por placa de calor.

A continuación, la mezcla de líquido puede enfriarse a desde aproximadamente 60°C hasta aproximadamente 85°C; por ejemplo, mediante un enfriamiento flash. La mezcla de líquidos puede a continuación homogeneizarse de nuevo, por ejemplo en dos etapas, desde aproximadamente 10 MPa a aproximadamente 30 MPa en la primera etapa, y desde aproximadamente 2 MPa hasta aproximadamente 10 MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada puede a continuación enfriarse de nuevo para añadir cualesquiera componentes sensibles al calor; como por ejemplo vitaminas y minerales. El pH y el contenido en sólidos de la mezcla homogeneizada se ajustan convenientemente en este momento.

Si se desea producir una composición nutritiva en polvo, la mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado adecuado como por ejemplo un secador por pulverización o un secador por congelación y se convierte en polvo. El polvo debe tener un contenido en humedad inferior a aproximadamente el 5% en peso.

Si se desea producir una composición líquida, la mezcla homogeneizada se carga asépticamente de preferencia en recipientes adecuados para el precalentado de la mezcla homogeneizada (por ejemplo, desde aproximadamente 75 a 85°C), y a continuación inyectando vapor en la mezcla homogeneizada para subir la temperatura a aproximadamente 140 a 160°C; por ejemplo a aproximadamente 150°C. La mezcla homogeneizada puede enfriarse a continuación, por ejemplo mediante un enfriamiento flash, a una temperatura desde aproximadamente 75 a 85°C. La mezcla puede a continuación homogeneizarse de nuevo, enfriarse más hasta aproximadamente temperatura ambiente, y envasarse en recipientes. El aparato adecuado para efectuar el llenado aséptico de esta naturaleza puede adquirirse en el comercio. La composición líquida puede estar en forma de una composición lista para la alimentación, con un contenido en sólidos desde aproximadamente un 10 hasta aproximadamente un 14% en peso, o puede estar en forma de un concentrado; habitualmente con un contenido en sólidos de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 26% en peso.

En otro aspecto, esta invención proporciona un método para promocionar el crecimiento de un bebé VLBW en necesidad del mismo, mediante la administración al bebé de una cantidad terapéutica de una composición nutritiva que comprende una fuente de proteínas del suero de leche de vaca hipoalergénicas, con un grado de hidrólisis entre 8 y 20 en una cantidad correspondiente a un contenido en proteínas de 3,2 a 4,0 gramos de proteína por 100 kcal.

Los requerimientos de proteínas no están bien definidos en los bebés prematuros. La American Academy of Pediatrics, ("Academia Americana de Pediatras"), recomienda una ingesta de proteínas de 2,9 a 3,3 gramos/100 kcal [AAPCON, 2003], mientras que la European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition ("Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica"), recomienda una ingesta de 2,2-3,1 gramos/100 kcal [ESPGANCON,

ES 2 346 802 T3

1987a]. Todavía la ingesta de proteínas diarias recomendada (RDPI) se refieren a bebés ≥ 26 semanas de gestación, y ≥ 800 g, y no a bebés menos maduros o más pequeños cuyos requerimientos pueden ser mayores. La RDPI está también basada sobre las necesidades de un crecimiento normal, pero no se ha hecho ninguna provisión para el bebé para alcanzar una velocidad de crecimiento comparable con la que habría ocurrido en el útero, lo cual podría ser una consideración crítica para estos bebés. En efecto, la RDPI puede sistemáticamente subestimar las “verdaderas” necesidades de proteínas en estos bebés VLBW de alto riesgo.

La cantidad de composición nutritiva que debe administrarse, variará en función del estado de madurez o crecimiento del bebé, pero, asumiendo que sea la única fuente de nutrición del bebé, puede ser alimentado, o bien por lo que el bebé demande, o bien si el bebé es incapaz de controlar la ingesta por sí mismo, de acuerdo con las expectativas de profesionales de asistencia sanitaria, expertos en el cuidado de bebés VLBW.

La invención se ilustra seguidamente, con referencia a los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1

Un ejemplo de una composición nutritiva de acuerdo con la presente invención, es como sigue:

Densidad calórica	
(kcal/100 ml)	80
Proteína g/100 kcal	3,6
Proteína	Proteína de suero de leche de vaca hidrolizada hipoalergénica DH 14
	1,4% (de proteína) libre de arginina
	1,9% (de proteína) libre de histidina
Grasa g/ 100 kcal	5,2
de la cual	
MCT	40%
aceite de palma inter-esterificado	11% (56% de ácido palmítico en la posición Sn2)
ARA	0,6%
DHA	0,3%
n6:n3	8,2:1
ARA:DHA	2:1

ES 2 346 802 T3

Hidratos de carbono g/100 kcal 9,9

Lactosa/maltodextrina 40/60

5

Electrolitos & Minerales por 100 kcal

10	Na (mg)	64
	K (mg)	136
15	Cl (mg)	95
	Ca (mg)	150
	P (mg)	88
20	Ca/P	1,7
	Mg (mg)	10
25	Mn (µg)	7,0

30

Vitaminas & trazas de elementos por 100 kcal

	A(IU)	1000
35	D(IU)	150
	E(IU)	6,0
40	K1(µg)	8,0
	C (mg)	30
45	B1 (mg)	0,2
	B2 (mg)	0,3
50	Niacina (mg)	4,0
	B6 (mg)	0,2
	Acido fólico (µg)	70
55	Acido pantoténico	1,4
	B12 (µg)	0,25
60	Biotina (µg)	5,0
	Colina (mg)	15
65	Inositol(mg)	6,5
	Taurina(mg)	8,0

ES 2 346 802 T3

Carnitina (mg)	2,0
Fe (mg)	1,8
I (µg)	35
Cu (mg)	0,15
Zn (mg)	1,5
Se (µg)	4,0

Nucleótidos por 100 kcal

UMP (mg)	3,0
CMP (mg)	4,6
AMP (mg)	0,5
GMP (mg)	0,3

Ejemplo 2

Este ejemplo compara el efecto de una composición nutritiva de acuerdo con la presente invención empleada como única fuente de nutrición para un grupo de bebés prematuros, con el efecto de una composición nutritiva de control, respecto a la utilización de la proteína, al estatus metabólico y al crecimiento. Las composiciones de las fórmulas vienen dadas en la tabla a continuación:

TABLA 1

*Composicion de las formulas del estudio (/100 kcal)**

Fórmula	Control	Experimental
Densidad calórica (kcal/100 ml)	80	80
Proteína (g)	3,0	3,6
Calidad de proteína	Proteína de suero de leche de vaca hidrolizada	

ES 2 346 802 T3

5	Grasa (g)	5,2	5,2
	MCT (%)	25	30
10	Hidratos de carbono (g)	10,5	9,9
	lactosa/maltodextrina	40/60	20/ 80
15	Minerales		
	Sodio (mg)	55	64
20	Potasio (mg)	120	136
	cloruro (mg)	85	95
25	calcio (mg)	131	131
	fósforo (mg)	75	75
30	hierro (mg)	1,5	0
	cobre (mg)	0,1	0,1
	zinc (mg)	1,2	1,2

Las fórmulas difieren primariamente con respecto al contenido de proteína (3,0 frente a 3,6 gramos/100 kcal). Otras diferencias fueron observadas en el contenido de hidratos de carbono (10,5 frente a 9,9 g), electrolitos (ver más arriba), vitamina A (350 frente a 500 IU), y hierro (1,5 mg frente a 0).

El estudio fue de naturaleza prospectiva, doble ciego, aleatorio, y cruzado, siendo alimentado cada bebé con ambas fórmulas. La secuencia de alimentación con las fórmulas se predeterminó de una manera aleatoria equilibrada. Los bebés randomizados con la secuencia A fueron alimentados en primer lugar con la fórmula de la proteína experimental, y en segundo lugar con la fórmula de la proteína de control. Los bebés randomizados con la secuencia B fueron alimentados en primer lugar con la fórmula de la proteína de control y en segundo lugar con la fórmula de la proteína experimental.

Los bebés fueron reclutados en dos centros: el Special Care Baby Unit, Royal Victoria Infirmary, Newcastle upon Tyne, UK, (“Unidad de Cuidados Especiales para Bebés, Hospital Real Victoria, Newcastle en el Tyne, Reino Unido”), y el Service Universitaire de Neonatologie Liege (“Servicio Universitario de Neonatología de Liege”), Liege, Bélgica. El estudio se aprobó por el “Local Ethics Committee” (“Comité local de Etica”) de cada lugar. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los padres/tutor(es).

Los bebés prematuros ($\leq$ de 1500 gramos, gestación $\leq$ 32 semanas) se consideraron elegibles en el estudio. La gestación se determinó empleando los datos maternos y los ultrasonidos intrauterinos. Solamente se aceptaron para el estudio, aquellos que fueron clínicamente estables y habían establecido una ingesta completa entérica ($\geq$ 130 mls/kg/d). Los bebés que habían requerido terapia con oxígeno fueron considerados elegibles pero fueron eliminados si la terapia con oxígeno fue necesaria cuando se hizo el primer balance de nutrientes. Los bebés que recibieron diuréticos o esteroides no fueron aceptados para el estudio.

Cuando se identificó un bebé como elegible, se solicitó la presencia del médico.

Se llamó al (a los) tutor(es), se les explicó el estudio y se les proporcionó un resumen por escrito. Después de leer el informe y obtener el consentimiento por escrito, el bebé fue aceptado.

Se efectuaron investigaciones antropométricas y bio-químicas referidas a la línea base, y el bebé fue randomizado para una o dos secuencias del estudio.

Durante el primer balance, los bebés fueron alimentados generalmente mediante una infusión nasogástrica continua. Durante el segundo balance, los bebés fueron alimentados mediante una infusión de bolus o por vía oral según el apetito.

Cada secuencia fue diseñada para durar una semana. Cuando se toleró una ingesta entérica de ≥ 135 mls/kg/d de la primera fórmula del estudio durante ≥ 48 horas, se realizó una antropometría, se extrajo una muestra de sangre, y el primer balance dió comienzo. Al final del primer balance, la antropometría se repitió y se extrajo una segunda muestra de sangre. A continuación, se alimentó con la segunda fórmula del estudio, y el proceso se repitió. Cuando terminó el
5 segundo balance, el estudio se dió por terminado.

Durante el estudio del primer balance se midió la ingesta de nutriente de la fórmula de estudio, diariamente, y se mantuvo a 135-150 mls/kg/d. Durante el segundo balance esto no fue siempre posible debido a que algunos bebés fueron alimentados según el apetito. El peso corporal, la urea del suero, los electrolitos del suero, el pH de la sangre,
10 y el exceso de base se midieron al principio del estudio, al final del primer balance y al final de la recopilación del segundo balance. Se midieron las concentraciones de proteína unida al retinol (RBP) y de la transferrina del suero, al final de cada balance.

La extracción de muestras de sangre se efectuó cada a.m. y se programó para que coincidiera con el final de cada ciclo de alimentación (alimentaciones continuas) o inmediatamente antes de las alimentaciones. El análisis de gases en sangre se realizó inmediatamente. El plasma fue también separado inmediatamente. Un alícuota fue enviado al laboratorio principal para el análisis de electrolitos, nitrógeno en urea, proteínas totales y albúmina. Un segundo alícuota se almacenó a -30°C y se envió más tarde para efectuar el análisis del RBP y de la transferrina.

20 Se efectuó la antropometría como se ha descrito previamente [Cooke, 1988a].

Los electrolitos, el nitrógeno de urea, las proteínas totales y la albúmina, se analizaron empleando la metodología de rutina de laboratorio. La transferrina se midió mediante inmunoturbidimetría empleando el kit de Tina-quant transferrina (Roche n° 1 931 628, Suiza) [Kreutzer, 1976; Lievens, 1994]. Se midió el RBP mediante inmunoturbidimetría empleando una proteína anti-humana de conejo unida a retinol [Gulamali, 1985] con la proteína N Standard SL (humana) empleada como calibrador (Dade Behring, Alemania). Las determinaciones se efectuaron empleando un analizador BM/Hitachi 917 (Roche, Suiza).

Las recolecciones de los balances de los nutrientes se efectuaron como se ha descrito previamente [Cooke, 1988a]. Los frascos de las fórmulas se pesaron antes y después de cada alimentación; las diferencias entre ambos pesos se emplearon para calcular la ingesta de la fórmula. Los frascos fueron también llenados a tope; las diferencias de peso entre los frascos llenos y vacíos, se emplearon para un chequeo cruzado para comprobar la exactitud de los pesos acumulados entre alimentaciones. Se recogieron los vertidos sobre los pañales previamente pesados colocados alrededor del bebé; las diferencias en peso entre los pañales limpios y "sucios", se emplearon para calcular las
35 pérdidas.

La orina y las heces (niñas) y las heces (niños) se recogieron en una cápsula Pyrex colocada debajo de los bebés. La orina en los chicos se recogió mediante una bolsa de recogida de orina. La orina, las heces y la fórmula se analizaron para determinar el contenido en nutriente, en la Samuel J Fomon Infant Nutrition Unit ("Unidad de Nutrición para Bebés Samuel J. Fomon"), University of Iowa, Iowa, USA, y Service Universitaire de Neonatologie Liege ("Servicio Universitario de Neonatología de Liege"), Liege, Bélgica. El nitrógeno se determinó mediante microdigestión Kjeldahl seguida de un análisis de microdifusión modificado [Fomon, 1973].

El contenido en calcio, magnesio, hierro, cobre y zinc se determinó mediante espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer Modelo 560). La grasa se determinó mediante una modificación del método de Van de Kamer *et al.*, [Van de Kamer, 1949], el fósforo empleando el método del fosfomolibdato como está descrito por Leloir y Cardini [Leloir, 1957].

El volumen de la ingesta se calculó dividiendo las diferencias en peso por la gravedad específica de la fórmula. La ingesta de nutriente se calculó a partir del volumen alimentado y el contenido de la fórmula. La excreción de las heces se calculó a partir del peso y del contenido de las heces, la excreción de orina a partir del volumen y del contenido de la orina. La absorción se calculó substrayendo la salida de heces de la ingesta, la retención se calculó mediante la substracción de la excreción urinaria, de la absorción.

55 Durante las recolecciones de los balances, el cuidado de los bebés del estudio fue proporcionado por enfermeras responsables solamente de los bebés del estudio. Estas enfermeras están especialmente entrenadas en el cuidado de los bebés prematuros y la realización de recolecciones de los balances nutrientes. El cuidado global de los bebés se efectuó bajo la dirección del médico responsable. Todos los procedimientos periódicos de enfermería se llevaron a cabo regularmente como se ha indicado.

60 La determinación del tamaño de la muestra se relacionó con la retención del nitrógeno y se basó sobre una desviación estándar de 20 mg/kg/d, una diferencia significativa de 30 mg/kg/d, una potencia = 0,80, y una alfa = 0,05. Teniendo en cuenta la variación de centro a centro, se estimó que 16 bebés eran los necesarios para completar el estudio.

65 Los datos fueron analizados con la intención de tratar las bases empleando ANOVA. Los resultados fueron considerados significativos a $p < 0,05$.

ES 2 346 802 T3

Se estudiaron dieciocho bebés (niñas = 9, niños = 9). La media ($\pm$ SD) del peso al nacimiento y la edad gestacional fueron de 1226 ± 204 g y $29,5 \pm 1,5$ semanas. Ningún bebé recibió oxígeno suplementario o medicaciones durante el estudio. Nueve bebés fueron alimentados con la formula experimental y 9 bebés con la primera fórmula de control.

Al comienzo del estudio, la edad postnatal ($18 \pm 8 < 25 \pm 9$ d; $p < 0,05$), pero no la edad corregida (229 ± 5 frente a 229 ± 6 d), el peso corporal (1473 ± 262 frente a 1470 ± 197 g), la longitud coronilla-talón ($40 \pm 2,7$ frente a $40 \pm 1,7$ cms) o la circunferencia occipito-frontal ($29 \pm 2,2$ frente a $29 \pm 1,6$ cms), difirieron entre los bebés alimentados con la formula experimental y los alimentados con la primera fórmula de control.

Se efectuaron treintaseis balances en 18 bebés. La absorción y retención del nitrógeno fueron una función lineal de la ingesta. La ingesta ($743 \pm 71 > 604 \pm 35$ mg/kg/d, $p < 0,001$), la absorción ($624 \pm 84 > 500 \pm 49$, $p < 0,001$) y la retención ($514 \pm 85 > 426 \pm 45$, $p < 0,001$), fueron mayores con la fórmula de proteína experimental. No se detectaron diferencias en el % de absorción (83 ± 6 frente a 84 ± 6) ó en el % de retención (71 ± 6 frente a 70 ± 6) entre las fórmulas.

El resto de resultados de balances figuran en la tabla 2 más adelante. La ingesta de grasa fue similar, pero la excreción fecal fue menor, mientras que la absorción fue mayor con la fórmula experimental ($p < 0,05$). Aunque fueron detectadas diferencias poco importantes, en la ingesta del magnesio y zinc, no se encontraron diferencias en el balance del calcio, fósforo, magnesio o zinc entre las fórmulas. Sin embargo la ingesta de cobre y la absorción fueron mayores con la fórmula de control ($p < 0,05$).

No se detectaron diferencias en la edad postnatal cuando se extrajeron las muestras de sangre (33 ± 10 frente a 31 ± 7 d para las fórmulas experimental y de control). Ningún bebé desarrolló uremia (urea $\geq 7,0$ mmoles) o acidosis metabólica (déficit de base $\geq -8,0$) [Schwartz, 1979], pero la urea del suero fue mayor con la formula experimental ($3,5 \pm 1,3 > 2,1 \pm 0,8$ mmoles, $p < 0,001$). No se observó ninguna diferencia en el pH de la sangre ($7,38 \pm 0,04$ frente a $7,37 \pm 0,04$), ó en el exceso de base ($-1,2 \pm 1,7$ frente a $-1,4 \pm 2,1$ mmoles/litro) entre las fórmulas.

No se detectaron diferencias en la creatinina (44 ± 5 frente a 46 ± 12), la proteína total (44 ± 3 frente a 45 ± 3 g/litro), la albúmina (31 ± 3 frente a 31 ± 3 g/litro, ó la transferrina (20 ± 3 frente a 21 ± 4) pero el RBP fue mayor con la formula experimental ($12,4 \pm 3,3 > 11,0 \pm 2,6$; $p < 0,05$). La ganancia de peso fue también mayor (diferencias medias = 11 ± 12 g/d; $p < 0,05$), un efecto que fue mucho más marcado en los niños que en las niñas.

Las recomendaciones consensuadas sobre la ingesta de proteína para bebés con un peso < 1000 g al nacimiento, son de $\sim 3,0$ g/100 kcal. Sin embargo, estas recomendaciones asumen que el incremento de tejido para el crecimiento es de $\sim 2,3$ g/kg/d. Datos recientes sugieren que las necesidades de tejido están próximas a los $2,5$ g/kg/d. Asumiendo que la pérdida obligatoria de proteína en la orina y en la piel [Snyderman, 1969] es de $1,0$ g/kg/d, y una tasa de absorción fraccional del 90%, entonces los requerimientos pueden estar próximos a los $3,6$ g/100 kcal.

TABLA 2

	Fórmula	Ingesta	Absorción	% de absorción	Retención	% de retención
Grasa (g/kg/d)	3,6 g	$6,6 \pm 0,6$	$5,1 \pm 0,8$	77 ± 9		
	3,0 g	$6,6 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,7^*$	73 ± 11		
Calcio (mg/kg/d)	3,6 g	181 ± 17	85 ± 32	46 ± 17	83 ± 32	46 ± 14
	3,0 g	181 ± 12	82 ± 36	45 ± 19	81 ± 35	45 ± 19
Fósforo (mg/kg/d)	3,6 g	101 ± 10	88 ± 10	$87 \pm 5,2$	71 ± 13	70 ± 11
	3,0 g	103 ± 6	$91 \pm 7,1$	$89 \pm 4,2$	66 ± 11	64 ± 10
Magnesio (mg/kg/d)	3,6 g	$12,6 \pm 1,2$	$6,0 \pm 2,1$	48 ± 15	$5,6 \pm 2,0$	45 ± 12
	3,0 g	$11,1 \pm 0,8^*$	$5,3 \pm 1,7$	48 ± 15	$5,0 \pm 1,8$	45 ± 15
Zinc (μ g/kg/d)	3,6 g	1819 ± 175	574 ± 358	31 ± 18	556 ± 354	31 ± 15
	3,0 g	$1964 \pm 137^*$	563 ± 361	28 ± 18	544 ± 370	28 ± 18
Cobre (μ g/kg/d)	3,6 g	166 ± 16	43 ± 49	25 ± 29		
	3,0 g	$205 \pm 18^*$	$83 \pm 41^*$	$40 \pm 19^*$		

ES 2 346 802 T3

Las recomendaciones habituales se refieren a las necesidades para un crecimiento normal, pero se requiere tiempo para establecer los RDPI de los bebés prematuros inestables enfermos. Los bebés, por lo tanto, acumulan un déficit nutricional, cuanto más inmaduro es el bebé, tanto mayor es el déficit. En este estudio, el déficit medio de proteína al comienzo del estudio fue de ~ 10 g/kg aumentando además los requisitos en estos bebés de alto riesgo.

En este estudio, cuando la ingesta de proteína aumentó de 3,4 a 5,2 g/kg/d, también lo hicieron la absorción y la retención. Ningún bebé se convirtió en urémico o desarrolló una acidosis metabólica y no se detectaron ningunas diferencias en el estatus ácido-base entre las fórmulas experimental y de control. Al mismo tiempo, el crecimiento fue superior, sugiriendo que la fórmula experimental satisfacía mejor las necesidades en estos bebés de alto riesgo.

Los hallazgos de este estudio son importantes. Existe preocupación acerca de los potenciales efectos adversos de altos niveles de la ingesta dietética de proteína. Recientes recomendaciones han sugerido un límite superior de 4 a 4,5 g/kg/d. Los datos de este estudio muestran que una ingesta de hasta 5,2 g/kg/d de proteína no sólo es bien tolerada sino que también va asociada a un superior crecimiento.

REIVINDICACIONES

1. Una composición nutritiva para bebés VLBW con un peso al nacimiento inferior a 1500 g, la cual comprende de 26 a 38 g/litro de una fuente de proteína del suero de leche de vaca hidrolizada hipoalergénica, con un grado de hidrólisis entre 8 y 20, 37 a 46 gramos/litro de una fuente de grasa de la cual de un 20 a un 50% son triglicéridos de cadena medía, y la cual tiene un ratio n6:n3 entre 6 y 12, y de 50 a 100 gramos/litro de una fuente de hidratos de carbono, la cual composición contiene entre 3,2 y 4,0 gramos de proteína por 100 kcal.

2. La composición de la reivindicación 1, en donde el grado de hidrólisis está entre 9 y 16.

3. La composición de la reivindicación 1 ó 2, en donde la fuente de proteína de suero de leche de vaca es suero de leche de vaca dulce del cual se ha eliminado el caseíno-glico-macropéptido, o aislado de proteína de suero de leche de vaca.

4. La composición de la reivindicación 3, la cual incluye adicionalmente arginina libre en una cantidad de 0,1 a 2,0% en peso de proteína, y/o histidina libre en una cantidad desde el 0,1 al 3% en peso de proteína.

5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, la cual comprende desde 3,4 a 3,7 gramos de proteína por 100 kcal.

6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la fuente de grasa comprende desde el 25 al 45% de triglicéridos de cadena media.

7. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la fuente de grasa comprende desde el 5 al 20% de un lípido estructurado en el cual por lo menos un 50% de radicales de ácido palmítico contenidos en el lípido estructurado, se esterifican en la posición Sn2.

8. El empleo de una fuente de proteína de suero de leche de vaca hidrolizada hipoalergénica, con un grado de hidrólisis entre 8 y 20 en una cantidad correspondiente a un contenido en proteína desde 3,2 a 4,0 gramos de proteína por 100 kcal en la fabricación de una composición o medicamento nutritivo para promover el crecimiento en los bebés VLBW con un peso al nacimiento inferior a 1500 g.

9. Empleo de la reivindicación 8, en donde el grado de hidrólisis está entre 9 y 16.

10. Empleo de la reivindicación 8 ó 9, en donde la fuente de proteína de suero de leche de vaca es un suero de leche de vaca dulce, del cual ha sido eliminado el caseino-glico-macropéptido, o aislado de proteína de suero de leche de vaca.

11. Empleo de la reivindicación 10, en donde la composición incluye adicionalmente arginina libre en una cantidad desde el 0,1 al 2% en peso de proteína y/o histidina libre en una cantidad desde el 0,1 al 3% en peso de proteína.

12. Empleo de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en donde el contenido en proteína de la composición nutritiva es de 3,4 a 3,7 gramos/100 kcal.