

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 024 358**

51 Int. Cl.:

**A61K 35/745** (2015.01)  
**A61K 31/702** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 9/02** (2006.01)  
**A61K 47/36** (2006.01)  
**A61K 9/14** (2006.01)  
**A61K 9/20** (2006.01)  
**A61P 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.12.2018 PCT/EP2018/083949**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2019 WO19115382**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.12.2018 E 18816023 (8)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025 EP 3723778**

54 Título: **Composición para su uso para tratar la colonización retardada por bifidobacterias después del nacimiento**

30 Prioridad:

**11.12.2017 EP 17206447**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**04.06.2025**

73 Titular/es:

**N.V. NUTRICIA (100.00%)  
Eerste Stationsstraat 186  
2712 HM Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es:

**LAY, CHRISTOPHE;  
KNOL, JAN y  
BEN AMOR, KAOUTHER**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

ES 3 024 358 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 para su uso para tratar la colonización retardada por bifidobacterias después del nacimiento

5 **Campo de la invención**

[0001] La presente invención se refiere a métodos y composiciones terapéuticas para su uso terapéutico en la promoción o estimulación del desarrollo de una microbiota intestinal sana en bebés nacidos con falta de especies de *Bifidobacterium* al nacer, como en casos en que la madre recibió antibióticos durante el parto (es decir, profilaxis antibiótica intraparto (PAI)) y, en particular, en bebés nacidos por cesárea.

**Técnica anterior**

[0002] El índice mundial de partos infantiles mediante cesárea ha aumentado durante la última década, lo que lo convierte en el procedimiento quirúrgico más común practicado a mujeres en edad fértil en la actualidad. Aunque según la recomendación de la OMS los partos por cesárea estén indicados en entre el 10 y el 15 % de todos los partos, en muchos países el índice de partos por cesárea supera significativamente esta recomendación. A lo largo de los últimos años, el campo de la medicina ha comenzado a darse cuenta de que un parto por cesárea conlleva riesgos para la salud y, por lo tanto, se aconseja a los profesionales de la obstetricia que evalúen estas consecuencias para la salud a largo y corto plazo para la madre y el bebé, así como que sopesen los riesgos asociados con el propio procedimiento en comparación con no llevar a cabo el procedimiento.

[0003] Recientemente, el campo de la medicina ha comenzado a darse cuenta de que los bebés nacidos por cesárea padecen las consecuencias de una transmisión inexistente de microbiota intestinal de la madre al bebé durante el nacimiento. En el documento de patente EP1940250 (o US2016/100618) se ha aclarado que existe una ausencia completa de cualquier cantidad detectable de especies de *Bifidobacterium* en el intestino de bebés nacidos por cesárea en comparación con la presencia de cantidades significativas de al menos tres especies diferentes de *Bifidobacterium* del grupo consistente en *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. catenulatum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. gallicum*, *B. lactis* y *B. bifidum* observadas en bebés nacidos por parto vaginal. Mientras que los bebés nacidos por parto vaginal adquieren comunidades bacterianas de la microbiota vaginal e intestinal de la madre, los bebés nacidos por cesárea adquieren comunidades bacterianas de la piel materna y el entorno circundante en el parto. En EP1940250 (o US2016/100618) se recomienda el uso de al menos una especie de *Bifidobacterium* en combinación con un oligosacárido no digerible, con el fin de normalizar la microbiota intestinal en el bebé. En el documento US2016/331792 se describen métodos y composiciones para restaurar la microbiota normal en recién nacidos prematuros o recién nacidos mediante parto por cesárea y métodos para prevenir o mejorar enfermedades asociadas con el parto por cesárea o prematuro que comprenden administrar a dichos recién nacidos, en el momento del nacimiento o poco después, una cantidad eficaz de un inóculo de microbiota vaginal obtenido de la madre del recién nacido o de una donante o de una cantidad eficaz de una composición probiótica.

[0004] La promoción o estimulación de una microbiota intestinal sana en bebés nacidos por cesárea se considera un uso terapéutico, dado que dichos bebés padecen déficits de bifidobacterias al nacer. En comparación con los recuentos normales de bifidobacterias de  $10^7$  -  $10^9$  ufc, un bebé nacido por cesárea típicamente no tiene ninguna bifidobacteria al nacer.

[0005] La colonización retardada por bifidobacterias dura períodos más largos, como se evidencia en la Figura 1A de Chua y col. "Effect of synbiotic on the gut microbiota of cesarean supplied infants: a randomized, double-blind, multicenter study" JPGN vol. 65(1) julio de 2017, y se cree que tiene un impacto sobre todos los tipos de riesgos para la salud aumentados asociados con la cesárea tales como la aparición o el desarrollo de alergias alimentarias, eczema (por ejemplo dermatitis atópica), asma, rinitis alérgica y/o conjuntivitis alérgica. El retraso en la colonización por bifidobacterias puede minimizarse administrando a dichos bebés nacidos por cesárea un preparado para lactantes suplementado con composiciones simbióticas que comprendan *B. breve* y oligosacáridos no digeribles (scGOS/lcFOS), restaurando así los niveles de bifidobacterias en los primeros días de vida (véase la Figura 1A en Chua *et al.*). El análisis por reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) en tiempo real reveló que el grupo de los simbióticos mostró un mayor recuento génico absoluto de bifidobacterias desde los primeros días de intervención ( $p < 0,0001$ ) en comparación con el grupo de control, y el efecto se mantuvo significativo hasta la semana 12 ( $p = 0,032$ ).

**Resumen de la invención**

[0006] Los inventores descubrieron que los bebés nacidos por cesárea alimentados exclusivamente con leche materna o con una alimentación mixta, lo que significa leche materna complementada con un preparado para lactantes con o sin prebióticos añadidos, seguían mostrando una colonización retardada por especies de *Bifidobacterium* en el intestino.

[0007] Por el contrario, los bebés nacidos por cesárea alimentados con un preparado para lactantes suplementado con una composición simbiótica no mostraron una colonización retardada por *Bifidobacterium*, o lo hicieron en menor medida. A partir de esto, se concluyó que la leche materna no revirtió la falta de bifidobacterias, mientras que la intervención con simbióticos sí lo hizo.

5

[0008] Más en particular, los inventores descubrieron que la administración crónica de la composición simbiótica no era necesaria obligatoriamente, y que las bifidobacterias podían restaurarse mediante la administración *ad hoc* de la composición simbiótica de la invención.

10

[0009] Se hace referencia al ejemplo 3 como se describe en el presente documento. A partir de la Tabla 1D del ejemplo 3 queda claro que dos dosis de *B. breve* M-16V y oligosacáridos indigeribles en la primera semana tras el nacimiento son suficientes para iniciar y mantener el crecimiento indígena de bifidobacterias y para estimular el crecimiento indígena de bifidobacterias *B. breve*, esto es, *B. breve* diferentes de la cepa administrada. La ayuda al crecimiento de bifidobacterias indígenas duró al menos 22 semanas, a pesar de la observación de que la cepa de *Bifidobacterium* administrada originalmente se redujo rápidamente después de la administración, y no se administraron bifidobacterias adicionales después del periodo inicial anterior de administración inmediatamente después del nacimiento.

15

20

[0010] Los inventores, por lo tanto, han descubierto que la falta de bifidobacterias al nacer puede abordarse incluso con mayor rapidez si se administra a un bebé nacido con una falta de especies de bifidobacterias en el momento del nacimiento una composición que comprende entre  $10^3$  y  $10^{16}$  unidades formadoras de colonias (ufc) por dosis de *Bifidobacterium breve*, preferiblemente *B. breve* M-16V, y entre 0,1-5 gramos por dosis de al menos un oligosacárido no digerible, donde dicho oligosacárido no digerible comprende galactooligosacáridos (GOS), inmediatamente después del nacimiento, es decir, una o dos veces dentro de la semana posterior al nacimiento, preferiblemente una o dos veces dentro de los 5 días posteriores al nacimiento, de la manera más preferible dos veces dentro de los 3 días posteriores al nacimiento. Es decir, solo una o dos veces, y solo dentro de la primera semana posterior al nacimiento, preferiblemente dentro de los 5 días posteriores al nacimiento, de la manera más preferible solo dentro de los 3 días posteriores al nacimiento. Esto es particularmente adecuado para bebés cuyas madres recibieron antibióticos durante el parto y/o para bebés nacidos por cesárea, de la manera más preferible para bebés nacidos por cesárea.

25

30

[0011] Convenientemente, no hay necesidad de interferir con la lactancia materna. La administración crónica de la composición simbiótica puede evitarse de manera conveniente, y preferiblemente se prescinde de ella. El tratamiento agudo da como resultado efectos óptimos, y los niveles de bifidobacterias se restauran a niveles más allá de  $1 \times 10^7$  en los 5 días posteriores al nacimiento (Tabla 1D).

35

[0012] La administración de dicha composición se limita a una o dos veces solo dentro de la semana posterior al nacimiento, preferiblemente una o dos veces solo dentro de los 5 días posteriores al nacimiento, de la manera más preferible dos veces solo dentro de los 3 días posteriores al nacimiento. Con el término "solo" se pretende que la composición simbiótica se administre preferiblemente en dicho período de manera exclusiva. Sorprendentemente, el refuerzo incidental y limitado con *B. breve* y oligosacáridos no digeribles favorece el crecimiento endógeno de especies de *B. breve* en bebés nacidos por cesárea que, por lo demás, carecen de bifidobacterias al nacer, y todo en la primera semana, de hecho, incluso en los 5 días posteriores al nacimiento.

40

45

[0013] Basándose en estos hallazgos, los inventores descubrieron una manera simplificada de restaurar las bifidobacterias intestinales deterioradas en bebés nacidos por cesárea, independientemente del modo de alimentación, preferiblemente en bebés nacidos por cesárea que reciben lactancia materna, al minimizar la administración junto con simbióticos a una o dos veces inmediatamente después del nacimiento.

50

[0014] En una forma de realización preferida, el bebé nacido por cesárea recibe lactancia materna, que sigue siendo la alimentación de referencia y se sabe que optimiza aún más la microbiota intestinal una vez que se resuelve la colonización por bifidobacterias retardada inicial asociada a la cesárea.

55

[0015] Los inventores creen que la administración junto con una o dos dosis del simbiótico temprano en la vida también funciona ventajosamente para bebés nacidos por parto vaginal que carecen de bifidobacterias al nacer en una medida similar a los niveles retardados notificados para bebés nacidos por cesárea, por ejemplo, cuando la madre recibió antibióticos durante el parto (profilaxis antibiótica intraparto/PAI). En una forma de realización, el bebé nacido con una carencia de especies de *Bifidobacterium* al nacer es un bebé cuya madre ha recibido PAI.

60

### Descripción de formas de realización

[0016] Los inventores han descubierto un método para mejorar o estimular terapéuticamente el desarrollo de una microbiota intestinal sana, mediante la estimulación del crecimiento intraespecie de *Bifidobacterium* en bebés nacidos con una falta de crecimiento de especies de *Bifidobacterium* al nacer, incluyendo bebés cuya madre recibió antibióticos durante el parto (PAI), y particularmente en el caso de bebés nacidos por cesárea, donde dicho método conlleva administrar a dicho bebé, particularmente a un bebé nacido por cesárea, solo una o dos

65

5 veces una composición que comprende entre  $10^3$  y  $10^{16}$  unidades formadoras de colonias (ufc) por dosis de *Bifidobacterium breve*, preferiblemente la cepa de *Bifidobacterium breve* M-16V, y entre 0,1-5 gramos por dosis de al menos un oligosacárido no digerible, donde dicho oligosacárido no digerible comprende galactooligosacáridos, más preferiblemente cantidades terapéuticamente eficaces de galactooligosacáridos y fructanos no digeribles, donde la composición solo se administra al bebé una o dos veces, preferiblemente a un bebé nacido por cesárea, solo dentro de la primera semana posterior al nacimiento, preferiblemente dentro de los 5 días posteriores al nacimiento, de la manera más preferible dentro de los 3 días posteriores al nacimiento.

10 [0017] Es de suma importancia mejorar y/o acelerar el desarrollo de la población de bifidobacterias apropiada y la diversidad de especies de *Bifidobacterium* en el tubo digestivo de dichos bebés al inicio de la vida fuera del vientre. Sin intervención, los niveles de microbiota de bifidobacterias permanecen por debajo de lo idóneo en un factor de 1000 en el caso de bebés nacidos por cesárea en comparación con sus homólogos nacidos por parto normal durante un período de muchas semanas.

15 [0018] La invención se refiere a una composición para su uso terapéutico en la mejora o estimulación del desarrollo de una microbiota intestinal sana, mediante la estimulación del crecimiento intraespecie de *Bifidobacterium*, en bebés nacidos con una falta de especies de *Bifidobacterium* al nacer, preferiblemente en bebés cuyas madres recibieron antibióticos durante el parto y/o en bebés nacidos por cesárea, preferiblemente en bebés nacidos por cesárea, que conlleva administrar al bebé una composición que comprende entre  $10^3$  y  $10^{16}$  unidades formadoras de colonias (ufc) por dosis de *Bifidobacterium breve* y entre 0,1-5 gramos por dosis de al menos un oligosacárido no digerible, donde dicho oligosacárido no digerible comprende galactooligosacáridos, donde la composición se administra al bebé solo una o dos veces, y solo dentro de la primera semana posterior al nacimiento, preferiblemente dentro de los 5 días posteriores al nacimiento, de la manera más preferible solo dentro de los 3 días posteriores al nacimiento.

25 [0019] La composición se administra a dicho bebé solo dentro de la primera semana, preferiblemente dentro de los 5 días posteriores al nacimiento, de la manera más preferible solo dentro de los 3 días posteriores al nacimiento.

30 [0020] En una forma de realización preferida, el uso implica estimular el crecimiento de especies de *B. breve* indígenas distintas de la cepa de *B. breve* M-16V administrada.

35 [0021] En el contexto de la invención, la composición que comprende entre  $10^3$  y  $10^{16}$  unidades formadoras de colonias (ufc) por dosis de *Bifidobacterium breve*, preferiblemente una cepa de *Bifidobacterium breve* M-16V, y entre 0,1-5 gramos por dosis de al menos un oligosacárido no digerible, donde dicho oligosacárido no digerible comprende galactooligosacáridos, más preferiblemente cantidades terapéuticamente eficaces de galactooligosacáridos y fructanos no digeribles, se puede denominar la "composición simbiótica".

40 [0022] La composición según una forma de realización de la invención es para promover el crecimiento de bifidobacterias indígenas en el intestino de un bebé nacido por cesárea. En un método preferido según la invención, la composición según la invención se administra a un bebé nacido por cesárea. La cesárea es un procedimiento quirúrgico en el que se da a luz a un bebé a través de una incisión hecha en la pared abdominal de la madre, y luego a través de la pared del útero. Una cesárea se practica típicamente cuando es más segura para la madre o para el bebé que un parto vaginal, o en caso de que la madre prefiera la cesárea en lugar del parto vaginal.

45 [0023] Se sabe que los bebés nacidos por cesárea tienen una población deteriorada o retardada de *Bifidobacterium* en el tubo digestivo, lo que se atribuye al tipo de parto. Por una población de bifidobacterias deteriorada o retardada se entiende generalmente que los niveles totales de bifidobacterias son inferiores a  $1 \times 10^6$  ufc, preferiblemente inferiores a  $1 \times 10^5$  ufc.

50 [0024] La mejora de la población de *Bifidobacterium* en el tubo digestivo en cuanto a su número y diversidad de especies puede tener como resultado una reducción del riesgo de aparición o desarrollo de alergias alimentarias, eczema (por ejemplo, dermatitis atópica), asma, rinitis alérgica y/o conjuntivitis alérgica en bebés nacidos por cesárea.

55 [0025] La mejora de la población de *Bifidobacterium* en el tubo digestivo en cuanto a su número y diversidad de especies puede tener como resultado una reducción del riesgo de infecciones, incluyendo infecciones gastrointestinales, y una reducción de la aparición y/o gravedad de las infecciones, incluyendo infecciones gastrointestinales.

60 [0026] La cesárea también se ha asociado con un aumento del riesgo de desarrollar alergias y obesidad más adelante en la vida, y las mejoras en términos de restauración rápida de la microbiota conseguidas por la invención también están relacionadas, por lo tanto, con la reducción de los riesgos de desarrollar alergias y obesidad más adelante en la vida.

[0027] La composición según la invención es típicamente adecuada para su administración al bebé por vía enteral. La composición puede proporcionarse en cualquier forma conocida en la técnica que sea adecuada para tal administración, tal como en forma sólida, en forma semisólida o en forma líquida. Preferiblemente, la composición es una composición nutricional o un suplemento nutricional. La composición puede denominarse composición nutricional, preferiblemente una composición nutricional para proporcionar alimento a bebés, en particular a bebés nacidos por cesárea. Preferiblemente, la composición está en forma de un líquido o en forma de un suplemento en polvo, que puede reconstituirse con un líquido (típicamente agua) para obtener una composición líquida. Alternativamente, la composición está en forma de una cápsula o comprimido. En una forma de realización, la composición no es un preparado para lactantes.

[0028] La composición según la invención es preferiblemente un suplemento en polvo, donde el suplemento en polvo pesa entre 0,1-20 gramos por dosis, más preferiblemente entre 0,2-10 gramos por dosis y, de la manera más preferible, entre 0,5-5 gramos por dosis.

[0029] La composición según la invención es preferiblemente un supositorio, pastilla o comprimido, donde el supositorio, pastilla o comprimido pesa entre 0,1-10 gramos por dosis, más preferiblemente entre 0,2-5 gramos por dosis y, de la manera más preferible, 0,5-2,5 gramos por dosis.

[0030] La cepa de *B. breve* se proporciona en cantidades terapéuticamente eficaces. La presente composición contiene preferiblemente entre  $10^3$  y  $10^{13}$  unidades formadoras de colonias (ufc) de *B. breve* por gramo de peso seco de la presente composición, preferiblemente entre  $10^4$  y  $10^{12}$ , preferiblemente entre  $10^5$  y  $10^{10}$ . Preferiblemente, la presente composición contiene entre  $10^3$  y  $10^{13}$  unidades formadoras de colonias (ufc) de bifidobacterias por g de peso seco de la presente composición, más preferiblemente entre  $10^4$  y  $10^{12}$ , preferiblemente entre  $10^5$  y  $10^{12}$ .

[0031] En términos de dosis, la presente composición proporciona entre  $10^3$  y  $10^{16}$  ufc, más preferiblemente entre  $10^4$  y  $10^{15}$  ufc, de la manera más preferible entre  $10^5$  y  $10^{12}$  ufc de *B. breve* por dosis. Preferiblemente, la presente composición proporciona entre  $10^3$  y  $10^{16}$  ufc, más preferiblemente entre  $10^4$  y  $10^{15}$  ufc, de la manera más preferible entre  $10^5$  y  $10^{12}$  ufc de bifidobacterias por dosis. Una cepa de *B. breve* especialmente adecuada para su uso en la presente invención es *B. breve* M-16V.

[0032] En una forma de realización, la composición no comprende ninguna especie de *Bifidobacterium* que no sea *B. breve* M-16V.

[0033] En una forma de realización, estimular el desarrollo de una microbiota intestinal sana implica estimular el crecimiento intraespecie de *Bifidobacterium* distintas de las especies de *Bifidobacterium* que forman parte de la composición simbiótica de la invención.

[0034] Preferiblemente, la composición comprende *B. breve* en forma liofilizada, que es especialmente adecuada cuando la composición está en forma de polvo, cápsula o comprimido.

[0035] En una forma de realización, la composición según la invención comprende una mezcla de galactooligosacáridos y fructanos.

[0036] Los galactooligosacáridos y los fructanos son oligosacáridos no digeribles, también denominados "prebióticos" o "fibra prebiótica". En el contexto de la presente invención, el término "oligosacárido no digerible" se refiere a oligosacáridos que no se digieren en el intestino por la acción de enzimas digestivas presentes en el tubo digestivo superior (intestino delgado y estómago) del bebé, sino que, en su lugar, son fermentados por la microbiota intestinal de dicho bebé, confiriendo así beneficios al bienestar y la salud del hospedador.

[0037] Preferiblemente, los presentes oligosacáridos no digeribles tienen un grado de polimerización (GP) de 2 a 250, preferiblemente un GP medio de 2 a 100, más preferiblemente de 2 a 60. Preferiblemente, al menos el 50 % en peso de los presentes oligosacáridos no digeribles tienen un grado de polimerización medio en el rango de 2 a 60.

[0038] Los términos "prebiótico" y "fibra prebiótica" se refieren a fibras no digeribles que afectan beneficiosamente al hospedador al estimular de manera selectiva el crecimiento y/o la actividad de una especie o de un número limitado de especies bacterianas en el colon. Los efectos de los prebióticos en la salud, también en combinación con probióticos, se describen en Collins, Am. J. Clin. Nutr. 1999, 69 (suppl.), 10525-10575.

[0039] Preferiblemente, el presente oligosacárido no digerible es soluble. El término "soluble", tal como se utiliza en el presente documento, cuando se hace referencia a una fibra u oligosacárido, significa que la sustancia es al menos un 50 % soluble según el método descrito por Prosky y col. en J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1988, 71, 1017-1023.

[0040] Los oligosacáridos no digeribles de la invención comprenden galactooligosacáridos, en particular beta-galactooligosacáridos. En la presente invención, las unidades de galactosa constituyen al menos el 50 % de las unidades de monosacárido. Los galactooligosacáridos son preferiblemente [galactosa]<sub>n</sub>- glucosa; donde n es un número entero entre 1 y 60, es decir 2, 3, 4, 5, 6,..., 59, 60; preferiblemente n es 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y/o 10, siendo un buen ejemplo los trans-galactooligosacáridos. Las unidades de galactosa están preferiblemente unidas por enlaces beta. Los galactooligosacáridos comprenden preferiblemente sacáridos con un grado de polimerización medio (GP) de 2 a 10 (scGOS). Los (trans)galactooligosacáridos están disponibles, por ejemplo, con el nombre comercial Vivinal®GOS (Borculo Domo Ingredients, Zwolle, Países Bajos), Bimuno (Clarado), Cup-oligo (Nissin Sugar) y Oligomate55 (Yakult).

[0041] Preferiblemente, los oligosacáridos no digeribles pueden comprender además fructanos. Los fructanos preferidos incluyen fructooligosacáridos, fructopolisacáridos, inulina y mezclas de los mismos, más preferiblemente fructooligosacáridos. Los fructooligosacáridos preferidos son fructooligosacáridos de cadena corta (scFOS), que tienen un GP medio de entre 2 y 10, y fructooligosacárido de cadena larga (lcFOS), que tienen un GP medio de entre 10 y 60, preferiblemente de entre 15-40. Los scFOS están disponibles en el mercado como Beneo® P95 o Raftilose P95 (Orafti). Un tipo particular de lcFOS es la inulina, tal como Raftilin HP.

[0042] En una forma de realización especialmente preferida, la presente composición comprende galactooligosacáridos y fructooligosacáridos y/o fructopolisacáridos, de la manera más preferible scGOS y lcFOS (preferiblemente teniendo dicho lcFOS un GP medio > 15). En la presente forma de realización, los galactooligosacáridos y los fructanos están presentes preferiblemente en una relación en peso de 5:1 - 20:1, incluso más preferiblemente de 7:1 - 15:1, incluso más preferiblemente de 8:1 - 10:1, de la manera más preferible de aproximadamente 9:1.

[0043] Los oligosacáridos no digeribles están presentes en cantidades terapéuticamente eficaces. La presente composición comprende preferiblemente del 0,05 al 50 % en peso de dichos oligosacáridos no digeribles, más preferiblemente del 0,5 al 25 % en peso, incluso más preferiblemente del 1 al 15 % en peso, de la manera más preferible del 2 al 10 % en peso, con respecto al peso seco de la composición. En términos de dosis, la presente composición proporciona entre 0,1 y 5 gramos de oligosacáridos no digeribles por dosis.

[0044] La administración de la presente composición al bebé preferiblemente se produce administrándola al bebé directamente. La administración se produce típicamente por vía enteral, es decir, directamente en el tubo digestivo del bebé. La administración enteral incluye administración oral, alimentación por sonda, alimentación por estoma y administración rectal. Se prefiere la administración oral.

[0045] La composición puede estar en cualquier forma conocida en la técnica que sea adecuada para la administración enteral, tal como en forma sólida, en forma semisólida o en forma líquida. La composición es preferiblemente un polvo adecuado para reconstituirse con agua, un suplemento nutricional, un supositorio, una pastilla o un comprimido. Donde antes se han definido las cantidades por dosis para la composición según la invención, el método según la invención implica preferiblemente la administración de una dosis que contiene dicha cantidad.

[0046] En una forma de realización, la composición se administra al bebé, proporcionada en forma de

- (i) un líquido que tiene un volumen de entre 0,5 y 5 ml para administración oral, donde dicho líquido se administra preferiblemente a dicho bebé con una jeringa, pipeta o sonda; o
- (ii) un supositorio, pastilla o comprimido, y donde dicha composición se administra al bebé por vía rectal.

[0047] En una forma de realización, la composición puede proporcionarse en forma de una forma de dosis unitaria, que se refiere a envases individuales de un solo uso. La composición puede estar presente en un recipiente que contiene una única o más dosis unitarias. Preferiblemente, la presente composición va acompañada de instrucciones de uso.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

[0048] Un sobre de un solo uso que comprende aproximadamente 2 gramos de una composición en polvo para proporcionar una dosis. La composición en polvo es adecuada para su adición a un preparado para lactantes o a la leche materna en la primera semana después del nacimiento.

[0049] La dosis comprende 1,0 g de scGOS/lcFOS (relación en peso de aproximadamente 9:1),  $9 \times 10^8$  ufc de *B. breve* M-16V y carbohidratos digeribles solubles. 'scGOS' son galactooligosacáridos de cadena corta (Vivinal-GOS™; Borculo Domo Ingredients, Países Bajos; Grado de Polimerización [GP] 2-8), 'lcFOS' son fructooligosacáridos de cadena larga (Raftiline HP™, Orafti, Tienen, Bélgica; GP medio 22 - 25).

**Ejemplo 2**

[0050] Se incluyeron en un estudio clínico un total de 183 bebés nacidos de madres embarazadas sanas. Los participantes aptos para el estudio incluyeron neonatos sanos nacidos a término por cesárea electiva. En el estudio, los bebés nacidos por cesárea se aleatorizaron para recibir una fórmula de control (n=50), o la misma fórmula que contenía simbióticos (scGOS/lcFOS y *Bifidobacterium breve* M-16V, n=52), o prebióticos (scGOS/lcFOS, n=51) inmediatamente después del nacimiento, durante un período de 16 semanas, y un seguimiento de 6 semanas. Treinta sujetos nacidos por parto vaginal se incluyeron como un grupo de referencia no aleatorio.

[0051] Se recogieron muestras fecales durante el estudio para determinar la eficacia de la intervención nutricional. La composición de la microbiota intestinal se determinó mediante qPCR para obtener las bacterias totales, las especies de *Bifidobacterium* totales, las especies de *B. breve* totales y la cepa probiótica de *B. breve* M-16V. El límite de detección en este ensayo fue de aproximadamente 4,6 log 10 copias/g de heces, lo que significa que si, por ejemplo, no hay presencia de *B. breve* en la muestra, la medición de qPCR para *B. breve* será de 4,6 log 10 copias/g de heces.

**Ejemplo 3**

[0052] Las distribuciones de la microbiota intestinal que se describen en las Tablas 1A-1D se toman del estudio clínico, que se describe en el Ejemplo 2. En las Tablas 1A-1D se describen los niveles de bacterias determinados por qPCR en las muestras de heces de cuatro sujetos individuales.

[0053] En la Tabla 1A (Sujeto 77) y 1B (Sujeto 150) muestra la distribución de la microbiota intestinal de dos bebés individuales nacidos por cesárea que recibieron lactancia materna desde el nacimiento hasta el día 2, y una mezcla de preparado para lactantes (sin simbióticos) y lactancia materna a partir de entonces. Estos bebés del grupo de "control" no recibieron la composición de la intervención. Para la Tabla 1A, no se detectaron bifidobacterias en el día 3; faltan datos para el día 5 y la semana 2; para la Tabla 1B, no se detectaron bifidobacterias en el día 3, el día 5 y la semana 2; faltan datos para la semana 12. Ambos bebés muestran niveles incrementados de bifidobacterias en la semana 4. No se observó que la leche materna restaurase los niveles de bifidobacterias en bebés nacidos por cesárea 77 y 150 en las primeras semanas de vida.

[0054] En la Tabla 1C (sujeto 74) se muestra la distribución de la microbiota intestinal de un bebé individual nacido por cesárea que recibió lactancia materna hasta el día 5, seguido de alimentación mixta que incluía un preparado con simbióticos con *B. breve* M-16V y scGOS/lcFOS. No se detectaron especies de *Bifidobacterium* ni *B. breve* M-16V el día 5; la semana 2 se hallaron niveles normales de bifidobacterias. Faltan datos para el día 3.

[0055] En la Tabla 1D (sujeto 109) se muestra la distribución de la microbiota intestinal de un bebé individual nacido por cesárea que recibió lactancia materna, pero también una dosis de un preparado (85 ml, 0,7 g de scGOS/lcFOS,  $6,4 \times 10^8$  ufc de *B. breve* M-16V) al nacer y otra el día 2 (65 ml, 0,5 g de scGOS/lcFOS,  $4,9 \times 10^8$  ufc de *B. breve* M-16V). Faltan datos para el día 3 y la semana 2. Mientras que los niveles de *B. breve* M-16V descienden rápidamente después de las dos tomas del preparado de intervención, las bifidobacterias totales incluyendo *B. breve* muestran niveles normales ya en el día 5. Esto evidencia que las dosis de simbióticos según la intervención estimulan el crecimiento indígena, al inicio. Estos niveles bifidogénicos normales se mantienen incluso después de 22 semanas. Ya que el nivel de especies de *B. breve* se mantuvo durante todo el período de estudio, estos datos indican que una suplementación con una/dos dosis de simbióticos en los primeros días de vida promovió la diversidad intraespecie de *Bifidobacterium breve*, que se mantuvo por la lactancia materna, y ya tras 5 días.

Tabla 1A - Sujeto n.º 77

Recuento (log 10 copias/g de heces)	Día 3	Día 5	Sem 02	Sem 04	Sem 08	Sem 12	Sem 16	Sem 22
<i>B. breve</i> M-16V	4,6	-	-	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6
<i>B. breve</i>	4,7	-	-	8,38	8,47	7,78	7,84	7,29
Bifidobacterias totales	4,6	-	-	8,52	8,29	7,58	7,86	7,10
Bacterias totales	8,65	-	-	9,16	9,08	8,27	8,61	7,78

Tabla 1B - Sujeto n.º 150

Recuento (log 10 copias/g de heces)	Día 3	Día 5	Sem 02	Sem 04	Sem 08	Sem 12	Sem 16	Sem 22
<i>B. breve</i> M-16V	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	-	4,6	4,6
<i>B. breve</i>	4,7	4,7	4,7	4,7	9,12	-	8,74	8,37
Bifidobacterias totales	4,6	4,6	4,6	7,76	8,21	-	7,69	8,05
Bacterias totales	7,12	8,52	8,48	8,23	8,72	-	8,89	9,55

ES 3 024 358 T3

Tabla 1C - Sujeto n.º 74

<b>Recuento (log 10 copias/g de heces)</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	<b>Sem 02</b>	<b>Sem 04</b>	<b>Sem 08</b>	<b>Sem 12</b>	<b>Sem 16</b>	<b>Sem 22</b>
<i>B. breve</i> M-16V	-	4,6	7,44	7,35	7,25	8,72	9,17	6,84
<i>B. breve</i>	-	4,7	7,86	7,67	7,58	8,92	9,32	7,05
Bifidobacterias totales	-	4,6	7,55	7,8	7,42	9,16	9,16	7,48
Bacterias totales	-	6,88	8,49	8,80	8,89	9,53	9,63	7,90

Tabla 1D - Sujeto n.º 109

<b>Recuento (log 10 copias/g de heces)</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	<b>Sem 02</b>	<b>Sem 04</b>	<b>Sem 08</b>	<b>Sem 12</b>	<b>Sem 16</b>	<b>Sem 22</b>
<i>B. breve</i> M-16V	-	7,69	-	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6
<i>B. breve</i>	-	7,81	-	8,04	7,46	7,57	8,03	7,99
Bifidobacterias totales	-	7,70	-	7,95	7,55	7,47	8,01	7,79
Bacterias totales	-	8,18	-	8,78	8,97	8,40	8,67	8,67

5

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Composición para uso terapéutico en la mejora o estimulación del desarrollo de una microbiota intestinal sana, mediante la estimulación del crecimiento intraespecie de *Bifidobacterium*, en bebés nacidos con una carencia de especies de *Bifidobacterium* al nacer, preferiblemente en bebés cuyas madres recibieron antibióticos durante el parto y/o en bebés nacidos por cesárea, preferiblemente en bebés nacidos por cesárea, que implica administrar al bebé una composición que comprende entre  $10^3$  y  $10^{16}$  unidades formadoras de colonias (ufc) por dosis de *Bifidobacterium breve* y entre 0,1-5 gramos por dosis de al menos un oligosacárido no digerible, donde dicho oligosacárido no digerible comprende galactooligosacáridos, donde la composición se administra al bebé solo una o dos veces, y solo en la primera semana posterior al nacimiento.
- 10 2. Composición para su uso según la reivindicación 1, donde dicha *Bifidobacterium breve* es *Bifidobacterium breve* M-16V.
- 15 3. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho oligosacárido no digerible comprende galactooligosacáridos de cadena corta con un grado de polimerización (GP) medio de 2 a 10.
- 20 4. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho oligosacárido no digerible comprende galactooligosacáridos y fructanos.
- 25 5. Composición para su uso según la reivindicación 4, donde los fructanos incluyen fructooligosacáridos, fructopolisacáridos, inulina y mezclas de los mismos, preferiblemente fructooligosacáridos de cadena corta (scFOS) que tienen un GP medio de entre 2 y 10 y/o fructooligosacáridos de cadena larga (lcFOS) que tienen un GP medio de entre 10 y 60.
- 30 6. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha composición se administra en los 5 días posteriores al nacimiento.
- 35 7. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho bebé recibe lactancia materna.
8. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que estimula el crecimiento intraespecie de *Bifidobacterium* distintas de las *Bifidobacterium breve* administradas.
- 40 9. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición se administra al bebé en los 5 días posteriores al nacimiento exclusivamente.
10. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición es un suplemento en polvo, un supositorio, pastilla o comprimido.
11. Composición para su uso según la reivindicación 10, donde la composición es un suplemento en polvo, donde el suplemento en polvo pesa entre 0,1-20 gramos por dosis; o donde la composición es un supositorio, pastilla o comprimido, donde el supositorio, pastilla o comprimido pesa entre 0,1-10 gramos por dosis.