



República Federativa do Brasil
Ministério de Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0809626-0 A2



* B R P I 0 8 0 9 6 2 6 A 2 *

(22) Data de Depósito: 27/03/2008
(43) Data da Publicação: 23/09/2014
(RPI 2281)

(51) Int.Cl.:
A61K 39/05

(54) Título: PRÓ-BIÓTICOS PARA REDUÇÃO DE EPISÓDIOS DE DIARREIA EM BEBÊS NASCIDOS ATRAVÉS DE SECÇÃO CESARIANA

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 28/03/2007 EP 07105074.4

(73) Titular(es): Nestec S.A.

(72) Inventor(es): Florence Rochat, Karl-Josef Huber-Haag, Marie-Claire Fichot, Norbert Sprenger

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2008053638 de 27/03/2008

(87) Publicação Internacional: WO 2008/116904de 02/10/2008

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para: "**PRÓ-BIÓTICOS PARA REDUÇÃO DE EPISÓDIOS DE DIARREIA EM BEBÊS NASCIDOS ATRAVÉS DE SECÇÃO CESARIANA**".

Campo da Invenção

5 A presente invenção refere-se à administração de bactérias pró-bióticas a bebês nascidos através de secção cesariana para redução de episódios de diarreia durante infância.

Antecedentes da Invenção

10 Imediatamente antes de nascimento, o trato gastrointestinal de um neném é pensado ser estéril. Durante o processo normal de nascimento, ele encontra bactérias do trato digestivo, pele e ambiente da mãe e começa a ser colonizado. A microbiota fecal de uma criança amamentada no peito, nascida vaginalmente, saudável de idade de 2 a 4 semanas que pode ser tomada como a microbiota ótima para este grupo de idade é dominada por

15 espécies *Bifidobacteria* com algumas espécies *Lactobacillus* e menores quantidades de bacteróides como espécies *Bacteriodes fragilis*, para a exclusão de potenciais patógenos como Clostridia. Após o término de desmame em cerca de 2 anos de idade, um padrão de microbiota de intestino que se parece com padrão adulto torna-se estabelecido.

20 Deve ser notado que, na criança alimentada no peito, nascida vaginalmente, saudável, *bifidobacterias* formam a base da microbiota totalizando 60-90% de bactérias totais no intestino de criança. Alimentação no peito também promove desenvolvimento de barreira intestinal que, junto com dominação de *Bifidobacterias* conduz a aperfeiçoada absorção e por isso

25 utilização de nutrição ingerida.

Grönlund *et al.* estudaram que microbiota fecal de crianças saudáveis nascidas por secção cesariana e compararam a mesma com aquela de um grupo comparável de crianças nascidas através de liberação vaginal. Eles concluíram que a flora intestinal de crianças nascidas por parto de cesariana pode ser perturbada por até seis meses após o nascimento. Especificamente eles notaram que as taxas de colonização por *Bifidobacterias* e

30 *Lactobacilli* no grupo de cesariana atingiram as taxas de colonização no gru-

po parido vaginalmente somente após um mês e dez dias respectivamente(Grönlund *et al.*, "Fecal Microflora in Healthy Infants Born by Different Methods of Delivery: Permanent Changes in Intestinal Flora After Cesarean Delivery", *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 28:19-25).

5 Outros trabalhos sugeriram que esta colonização retardada / aberrante pode ter específicas consequências em termos do subsequente desenvolvimento da criança e ligaram estas consequências às diferenças em flora intestinal. Por exemplo, Laubereau *et al.* verificaram que crianças nascidas por secção cesariana têm um maior risco de diarreia que crianças
10 paridas vaginalmente.

 Leite materno é recomendado para todos os bebês. Entretanto, em alguns casos alimentação no peito é inadequada ou mal-sucedida por razões médicas ou a mãe escolhe não amamentar. Fórmulas para bebês foram desenvolvidas para estas situações.

15 No passado recente, certas linhagens de bactérias atraíram considerável atenção porque elas foram verificadas exibirem valiosas propriedades para o homem se ingeridas. Em particular, específicas linhagens dos gêneros *Lactobacilli* e *Bifidobacteria* foram verificadas serem capazes de colonizar o intestino, para reduzir a capacidade de bactérias patogênicas
20 aderirem ao epitélio intestinal, para terem efeitos imunomoduladores e para auxiliarem na manutenção de bem – estar. Tais bactérias são algumas vezes chamadas pró-bióticos e já foi proposto adicionar apropriadas bactérias pró-bióticas a fórmulas de bebês.

 Extensos estudos foram realizados para identificar novas linhagens pró-bióticas. Por exemplo, EP 0 199 535, EP 0 768 375, WO 97/00078, EP 0 577 903 e WO 00/53200 mostram específicas linhagens de *Lactobacilli* e *bifidobacterias* e seus efeitos benéficos.

 A proporção de partos cesariana continua a aumentar atingindo tanto quanto 70% de todos os nascimentos de alguns países. Por isso é claro que há uma necessidade de provimento de um meio para reduzir o risco
30 de bebês nascidos por secção cesariana não sofram de consequências adversas de saúde como um resultado de seu modo de parto. Esta necessida-

de é particularmente aguda dada a prática corrente de administração rotineira de doses profiláticas de antibióticos a mulheres grávidas que sofrem parto cesariana eletivo.

Sumário da Invenção

5 Da mesma maneira a presente invenção provê o uso de bactérias pró-bióticas na fabricação de um medicamento ou composição nutricional terapêutica para prevenção ou tratamento de diarreia em bebês nascidos por secção cesariana.

10 A invenção ainda estende-se a um processo de redução de risco de que um bebê nascido através de secção cesariana vá subsequentemente sofrer episódios de diarreia compreendendo provimento de uma quantidade terapêutica de bactérias pró-bióticas para um bebê nascido por secção cesariana e em necessidade da mesma.

15 Sem desejar estar preso por teoria, os presentes inventores acreditam que administração de bactérias pró-bióticas a uma criança nascida através de secção cesariana de alguma maneira como ainda não entendida completamente prepara o trato gastrointestinal da criança para favorecer subsequente colonização por aquelas espécies de *Bifidobacterias* que são comumente encontradas nos tratos de crianças paridas vaginalmente, saudáveis. É pensado que esta benéfica colonização reduz o risco de episódios de diarreia como mostrados afligirem crianças paridas por secção cesariana. Deve ser notado que não é o objeto nem o efeito de tal tratamento promover colonização pelas espécies de pró-bióticos que são administradas mas antes promover colonização com outras espécies de modo a obter uma inicial microbiota intestinal bifidogênica comparável àquela encontrada em bebês nascidos vaginalmente, alimentados no peito, saudáveis.

Descrição Detalhada da Invenção

Neste relatório descritivo, os seguintes termos têm os seguintes significados:

30 "microbiota intestinal bifidogênica inicial" significa para um bebê de até 12 meses de idade uma microbiota intestinal que é dominada por *Bifidobacterias* como *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, e *Bifido-*

bacterium longum para a exclusão de apreciáveis populações de tais espécies como Clostridia e Streptococci e que é genericamente comparável àquela encontrada em um bebê alimentado no peito, parido vaginalmente da mesma idade.

5 "bebê" significa uma criança abaixo da idade de 12 meses.

"pré-biótico" significa um ingrediente alimentício não-digerível que afeta benéficamente o hospedeiro através de estimulação seletiva de crescimento e/ou atividade de uma ou um limitado número de bactérias no cólon e assim aperfeiçoa saúde de hospedeiro (Gibson and Roberfroid "Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of
10 Prebiotics" J. Nutr 125:1401-1412).

"pró-biótico" significa preparações de células microbianas ou componentes de células microbianas com um efeito benéfico sobre a saúde ou bem – estar do hospedeiro. (Salminen S, Ouwehand A. Benno Y. *et al.*
15 "Probiotics: how should they be defined" Trends Food Sci. Technol. 1999:10 107-10).

Todas as referências a porcentagens são em peso a menos que de outro modo estabelecido.

As bactérias pró-bióticas podem ser quaisquer bactérias de ácido
20 láctico ou *Bifidobacteria* com características pró-bióticas estabelecidas que também são capazes de prover o desenvolvimento de uma microbiota intestinal bifidogênica inicial. Apropriadas bactérias de ácido láctico pró-bióticas incluem *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 obténivel *inter alia* de Valio Oy of Finland sob a marca registrada LGG, *Lactobacillus rhamnosus*
25 CGMCC 1.3724, *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 obténivel de Biogaia, *Lactobacillus fermentum* VRI 003 e *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116.

Apropriadas linhagens de *Bifidobacteria* pró-bióticas incluem *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999 vendida por Morinaga Milk Industry Co. Ltd. Of Japan sob a marca registrada BB536, a linhagem de *Bifidobacterium breve* vendida por Danisco sob a marca registrada Bb-03, a linhagem
30 de *Bifidobacterium breve* vendida por Morinaga sob a marca registrada M-16V e a linhagem de *Bifidobacterium breve* vendida por Institut Rosell (Lal-

lemand) sob a marca registrada R0070. Uma mistura de apropriadas bactérias de ácido láctico pró-bióticas e *Bifidobacteria* pode ser usada.

Uma apropriada dose diária das bactérias pró-bióticas é de 10e5 a 10e11 unidades de formação de colônia (cfu), mais preferivelmente de 10e7 a 10e10 cfu.

Preferivelmente as bactérias pró-bióticas são coadministradas com um pré-biótico. Apropriados pré-bióticos incluem certos oligossacarídeos, tais como fruto oligossacarídeos (FOS) e galacto oligossacarídeos (GOS). Uma combinação de pré-bióticos pode ser usada, tal como 90% GOS com 10% de fruto oligossacarídeos de cadeia curta tal como o produto comercializado sob a marca registrada Raftilose® ou inulina 10% tal como o produto comercializado sob a marca registrada Raftiline®.

Um pré-biótico particularmente preferido é uma mistura de oligossacarídeos que compreende 5 a 70% em peso de pelo menos um oligossacarídeo N-acetilado selecionado do grupo compreendendo GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc e Gal β 1,6GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc, 20 a 90 % de pelo menos um oligossacarídeo neutro selecionado do grupo compreendendo Gal β 1,6Gal, Gal β 1,6Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,6Glc, Gal β 1,3Gal β 1,3Glc, Gal β 1,3Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,6Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,3Gal β 1,4Glc Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc e Gal β 1,3Gal β 1,3Gal β 1,4Glc e 5 a 50 wt% de pelo menos um oligossacarídeo sialilado selecionado do grupo compreendendo NeuAc α 2,3Gal β 1,4Glc e NeuAc α 2,6Gal β 1,4Glc. Uma tal mistura de oligossacarídeos é descrita em mais detalhes em WO2007/090894, os conteúdos do qual são aqui incorporados por referência e é referida daqui por diante como "a mistura de oligossacarídeos descrita acima".

Preferivelmente a mistura de oligossacarídeos descrita acima compreende 10 a 70% em peso do oligossacarídeo(s) N-acetilado especificado, 20 a 80% em peso do oligossacarídeo(s) neutro especificado e 10 a 50% em peso do oligossacarídeo(s) sialilado especificado. Mais preferivelmente a mistura compreende 15 a 40% em peso do oligossacarídeo(s) N-acetilado, 40 a 60% em peso do outro oligossacarídeo(s) neutro e 15 a 30% em peso do oligossacarídeo(s) sialilado. Uma mistura particularmente prefe-

rida é 30% em peso do oligossacarídeo(s) N-acetilado, 50% em peso do oligossacarídeo(s) neutro e 20% em peso do oligossacarídeo(s) sialilado.

Alternativamente, a mistura de oligossacarídeos descrita acima pode convenientemente compreender 5 a 20% em peso do oligossacarídeo(s) N-acetilado especificado, 60 a 90% em peso do oligossacarídeo(s) neutro especificado e 5 a 30% em peso do oligossacarídeo(s) sialilado especificado.

A mistura de oligossacarídeos descrita acima pode ser preparada a partir de um ou mais leites de animais. O leite pode ser obtido a partir de qualquer mamífero, em particular de vacas, cabras, búfalas, cavalos, elefantes, camelos ou ovelhas.

Alternativamente, a mistura de oligossacarídeos descrita acima pode ser preparada adquirindo-se e misturando os componentes individuais. Por exemplo, galacto oligossacarídeos sintetizados tais como Gal β 1,6Gal β 1,4Glc Gal β 1,6Gal β 1,6Glc, Gal β 1,3Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,6Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,3Gal β 1,4Glc e Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc e Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc e suas misturas são comercialmente disponíveis sob as marcas registradas Vivinal[®] e Elix'or[®]. Outros fornecedores de oligossacarídeos são Dextra Laboratories, Sigma – Aldrich Chemie GmbH e Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. Alternativamente, específicas glicosil transferases, como galactosil transferases podem ser usadas para produção de oligossacarídeos neutros.

Os oligossacarídeos N-acetilados podem ser preparados através da ação de glicosaminidase e/ou galactosaminidase sobre N-acetil glicose e/ou N-acetil galactose. Igualmente, N-acetil galactosil transferases e/ou N-acetil glicosil transferases podem ser usadas para este propósito. Os oligossacarídeos N-acetilados também podem ser produzidos através de tecnologia de fermentação usando respectivas enzimas (recombinantes ou naturais) e/ou fermentação microbiana. No último caso os micróbios tanto podem expressar suas enzimas e substratos naturais como podem ser engenheirados para produção de respectivos substratos e enzimas. Culturas microbianas simples ou culturas mistas podem ser usadas. Formação de oligossacarídeo N-acetilado pode ser iniciada por substratos receptores partindo de qualquer

grau de polimerização (DP) a partir de DP = 1 por diante. Uma outra opção é a conversão química de ceto hexoses (por exemplo, frutose) tanto livre como ligada a um oligossacarídeo (por exemplo, lactulose) em N-acetil hexosamina ou uma N-acetil hexosamina contendo oligossacarídeo como descrito em
5 Wrodnigg, T. M.; Stutz, A.E. (1999) *Angew. Chem. Int. Ed.* 38:827-828.

Os oligossacarídeos sialilados 3'-sialil lactose e 6'-sialil lactose podem ser isolados através de tecnologia cromatográfica ou de filtração a partir de uma fonte natural como leites de animais. Alternativamente, eles também podem ser produzidos através de biotecnologia usando específicas
10 sialil transferases tanto através de tecnologia de fermentação baseada em enzima (enzimas recombinantes ou naturais) como através de tecnologia de fermentação microbiana. No último caso micróbios podem tanto expressar suas enzimas e substratos naturais como podem ser engenheirados para produção de respectivos substratos e enzimas. Culturas microbianas simples
15 ou culturas mistas podem ser usadas. Formação de sialil – oligossacarídeo pode ser iniciada por substratos receptores partindo de qualquer grau de polimerização (DP) a partir de DP = 1 em diante.

As bactérias pró-bióticas são preferivelmente administradas ao bebê imediatamente após parto e a seguir por pelo menos os primeiros dois
20 meses da vida do bebê. Mais preferivelmente, administração das bactérias pró-bióticas continua até o bebê atingir seis meses de idade.

As bactérias pró-bióticas podem ser administradas diretamente ao bebê ou, se a mãe está amamentando, através da mãe. Se as bactérias pró-bióticas são administradas através da mãe, elas podem supridas para a
25 mãe como um suplemento na forma de comprimidos, cápsulas, pastilhas, goma de mascar ou um líquido, por exemplo. O suplemento preferivelmente também contem a mistura de oligossacarídeo descrita acima em uma quantidade de 0,2 a 10 g/dia. O suplemento ainda pode conter hidrocoloides protetores (como gomas, proteínas, amidos modificados), ligantes, agentes formadores de filme, agentes / materiais encapsulantes, materiais de parede /
30 concha, compostos matrizes, revestimentos, emulsificantes, agentes tensoativos, agentes solubilizantes (óleos, gorduras, ceras, lecitinas, etc.), adsor-

ventes, carreadores, materiais de enchimento, cocompostos, agentes dispersantes, agentes umectantes, auxiliares de processamento (solventes), agentes de escoamento, agentes de mascaramento de aroma, agentes de peso, agente gelificantes, agentes de formação de gel, antioxidantes e antimicrobianos. O suplemento também pode conter convencionais aditivos e adjuvantes, excipientes e diluentes farmacêuticos, incluindo, mas não limitado a, água, gelatina de qualquer origem, gomas vegetais, sulfonato de lignina, talco, açúcares, amido, goma arábica, óleos vegetais, polialquileno glicóis, agentes aromatizantes, preservativos, estabilizadores, agentes emulsificantes, tampões, lubrificantes, corantes, agentes umectantes, materiais de enchimento, e similares. Em todos os casos, tais ainda componentes serão selecionados com relação à sua adequação ao receptor pretendido.

Alternativamente, as bactérias pró-bióticas podem ser administradas à mãe na forma de uma composição nutricional terapêutica. A composição pode ser uma fórmula nutricional completa.

Uma fórmula nutricional completa para administração a mulheres lactantes de acordo com a invenção pode compreender uma fonte de proteína. Qualquer proteína de dieta apropriada pode ser usada, por exemplo, proteínas animais (tais como proteínas de leite, proteínas de carne e proteínas de ovo); proteínas vegetais (tais como proteína de soja, proteína de trigo, proteína de arroz e proteína de ervilha); misturas de aminoácidos livres; ou suas combinações. Proteínas de leite como caseína e soro de leite coalhado, e proteínas de soja são particularmente preferidas. A composição também pode conter uma fonte de carboidratos e uma fonte de gordura.

Se a fórmula inclui uma fonte de gordura em adição ao DHA, a fonte de gordura preferivelmente provê 5% a 40% da energia da fórmula; por exemplo, 20% a 30% da energia. Um apropriado perfil de gordura pode ser obtido usando uma combinação de óleo de canola, óleo de milho e óleo de girassol de alto teor de ácido oleico.

Uma fonte de carboidratos pode ser adicionada à fórmula. Ela preferivelmente provê 40% a 80% da energia da fórmula. Qualquer carboidrato apropriado pode ser usado, por exemplo, sucrose, lactose, glicose,

frutose, sólidos de xarope de milho, maltodextrinas, e suas misturas. Fibra de dieta também pode ser adicionada se desejado. Fibra de dieta passa através de intestino delgado não-digerida por enzimas e funciona como um agente de volume natural e laxativo. Fibra de dieta pode ser solúvel ou insolúvel e em geral uma combinação dos dois tipos é preferida. Apropriadas fontes de fibra de dieta incluem soja, ervilha, aveia, pectina, goma guar, goma arábica, fruto oligossacarídeos e galacto oligossacarídeos. Preferivelmente, se fibra está presente, o teor de fibra está entre 2 e 40 g/L da fórmula como consumida, mais preferivelmente entre 4 e 10 g/L. Em adição, a fórmula também contém preferivelmente a mistura de oligossacarídeos descrita acima em uma quantidade de 0,2 a 5 gramas por litro de fórmula reconstituída, preferivelmente 1 a 2 g/L.

A fórmula também pode conter minerais e micronutrientes tais como elementos em traços e vitaminas de acordo com as recomendações dos órgãos de Governo como USRDA. Por exemplo, a fórmula pode conter por dose diária um ou mais dos seguintes micronutrientes nas faixas dadas: 300 a 500 mg cálcio, 50 a 100 mg magnésio, 150 a 250 mg fósforo, 5 a 20 mg ferro, 1 a 7 mg zinco, 0,1 a 0,3 mg cobre, 50 a 200 µg iodo, 5 a 15 µg selênio, 1000 a 3000 µg beta caroteno, 10 a 80 mg Vitamina C, 1 a 2 mg Vitamina B1, 0,5 a 1,5 mg Vitamina B6, 0,5 a 2 mg Vitamina B2, 5 a 18 mg niacina, 0,5 a 2,0 µg Vitamina B12, 100 a 800 µg ácido fólico, 30 a 70 µg biotina, 1 a 5µg Vitamina D, 3 a 10 IU Vitamina E.

Um ou mais emulsificantes grau alimento podem ser incorporados na fórmula se desejado; por exemplo, diacetil ésteres de ácido tartárico de mono- e diglicerídeos, lecitina e mono- e diglicerídeos. Similarmente apropriados sais e estabilizadores podem ser incluídos.

A fórmula é preferivelmente administrável enteralmente; por exemplo, na forma de um pulverizado para reconstituição com leite ou água. Alternativamente, ou no caso de bebês que não são alimentados no peito a pró-biótica pode ser administrada como um suplemento, por exemplo, como uma dose diária de 10^{10} cfu dissolvida em água e administrada com uma colher.

Para bebês que não são alimentados no peito, as bactérias pró-bióticas podem ser convenientemente administrada em uma fórmula de bebê.

Uma fórmula de bebê para uso de acordo com a presente invenção pode conter uma fonte de proteína em uma quantidade de não mais que 2,0 g/100 kcal, preferivelmente 1,8 a 2,0 g/100 kcal. O tipo de proteína não é acreditado ser crítico para a presente invenção contanto que os requisitos mínimos para teor de aminoácido essencial sejam satisfeitos e crescimento satisfatório seja assegurado embora seja preferido que acima de 50% em peso da fonte de proteína seja soro de leite coalhado. Assim, fontes de proteína baseadas em soro de leite coalhado, caseína e suas misturas podem ser usadas assim como fontes de proteínas baseadas em soja. Tanto quanto proteínas de soro de leite coalhado estejam relacionadas, a fonte de proteína pode ser baseada em soro de leite coalhado ácido ou soro de leite coalhado doce ou suas misturas e pode incluir alfa lactalbumina e beta lactoglobulina em quaisquer proporções que sejam desejadas.

As proteínas podem ser intactas ou hidrolisadas ou uma mistura de proteínas intactas e hidrolisadas. Pode ser desejável suprir proteínas parcialmente hidrolisadas (grau de hidrólise entre 2 e 20%), por exemplo, para bebês acreditados estarem em risco de desenvolvimento de alergia a leite de vaca. Se proteínas hidrolisadas são requeridas, o processo de hidrólise pode ser realizado como desejado e como é conhecido na técnica. Por exemplo, um hidrolisado de proteína de soro de leite coalhado pode ser preparado através de hidrólise enzimática de fração de soro de leite coalhado em uma ou mais etapas. Se a fração de soro de leite coalhado usada como o material de partida é substancialmente livre de lactose, é verificado que a proteína sofre muito menos bloqueio de lisina durante o processo de hidrólise. Isto permite a extensão de bloqueio de lisina ser reduzida de cerca de 15% em peso da lisina total para menos que cerca de 10% em peso de lisina; por exemplo, cerca de 7% em peso de lisina o que aperfeiçoa grandemente a qualidade nutricional da fonte de proteína.

A fórmula de bebê pode conter uma fonte de carboidrato. Qual-

quer fonte de carboidrato encontrada convencionalmente encontrada em fórmulas de bebês como lactose, sacarose, maltodextrina, amido e suas misturas pode ser usada embora a fonte preferida de carboidratos seja lactose. Preferivelmente as fontes de carboidratos contribuem entre 35 e 65% da energia total da fórmula.

A fórmula de bebê pode conter uma fonte de lipídeos. A fonte de lipídeos pode ser qualquer lipídeo ou gordura que seja apropriada para uso em fórmulas de bebês. Fontes de gorduras preferidas incluem oleína de palma, e óleo de girassol de alto teor oleico e óleo de açafrão de alto teor oleico. Os ácidos graxos essenciais, ácido linoleico e alfa-linolênico também podem ser adicionados como podem pequenas quantidades de óleos contendo altas quantidades de ácido araquidônico pré-formado e ácido docosa hexaenoico como óleos de peixe ou óleos microbianos. No total, o teor de gordura é preferivelmente tal de modo a contribuir entre 30 a 55% da energia total da fórmula. A fonte de gordura preferivelmente tem uma razão de ácidos graxos n-6 a n-3 de cerca de 5:1 a cerca de 15:1; por exemplo, cerca de 8:1 a cerca de 10:1.

A fórmula de bebê também pode conter todas as vitaminas e minerais entendidos serem essenciais na dieta diária e em quantidades nutricionamente significantes. Requisitos mínimos foram estabelecidos para certas vitaminas e minerais. Exemplos de minerais, vitaminas e outros nutrientes opcionalmente presentes na fórmula de bebê incluem vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantotênico, colina, cálcio, fosforoso, iodo, ferro, , magnésio, cobre, zinco, manganês, cloreto, potássio, sódio, selênio, cromo, molibdênio, taurina, e L-carnitina. Minerais são usualmente adicionados em forma de sal. A presença e quantidades de específicos minerais e outras vitaminas variarão dependendo da população de bebês pretendida.

Se necessário, a fórmula de bebê pode conter emulsificantes e estabilizadores tais como lecitina de soja, ésteres de ácido cítrico de mono- e diglicerídeos, e similares.

Preferivelmente, a fórmula de bebê conterà a mistura de oligosacarídeos descrita acima em uma quantidade de 0,2 a 5 gramas por litro de fórmula reconstituída, preferivelmente 1 a 2 g/L.

5 A fórmula de bebê opcionalmente pode conter outras substâncias que podem ter um efeito benéfico tais como lactoferrina, nucleotídeos, nucleosídeos, e similares.

Ambas, a formula de bebê e a fórmula nutricional descritas acima podem ser preparadas em qualquer maneira apropriada. Por exemplo, elas podem ser preparadas através de combinação de proteína, a fonte de
10 carboidrato, e a fonte de gordura em apropriadas proporções. Se usados, emulsificantes podem ser incluídos neste ponto. As vitaminas e minerais podem ser adicionados neste ponto mas, são usualmente adicionados depois para evitar degradação térmica. Quaisquer vitaminas lipofílicas, emulsificantes e semelhantes podem ser dissolvidos na fonte de gordura antes de
15 combinação. Água, preferivelmente água que foi submetida a osmose reversa, então pode ser misturada para formação de uma mistura líquida. A temperatura da água é convenientemente cerca de 50°C a cerca de 80°C para auxiliar dispersão dos ingredientes. Agentes de liquefação comercialmente disponíveis podem ser usados para formação de mistura líquida. A mistura lí-
20 quida é então homogeneizada; por exemplo, em dois estágios.

A mistura líquida então pode ser termicamente tratada para reduzir cargas bacterianas, através de rápido aquecimento de mistura líquida para uma temperatura na faixa de cerca de 80°C a cerca de 150°C por cerca de 5 segundos a cerca de 5 minutos, por exemplo. Isto pode ser realizado
25 através de injeção de vapor, autoclave ou através de trocador de calor, por exemplo, um trocador de calor de placas.

Então, a mistura líquida pode ser resfriada para cerca de 60°C a cerca de 85°C; por exemplo, através de resfriamento instantâneo. A mistura líquida pode ser então novamente homogeneizada; por exemplo, em dois
30 estágios em cerca de 10 mPa a cerca de 30 MPa no primeiro estágio e cerca de 2 MPa a cerca de 10 MPa no segundo estágio. A mistura homogeneizada pode ser então ainda resfriada para adicionar quaisquer componentes sen-

síveis a calor; tais como vitaminas e minerais. O pH e teor de sólidos da mistura homogeneizada são convenientemente ajustados neste ponto.

A mistura homogeneizada é transferida para uma apropriada aparelhagem de secagem tal como um secador de espargimento ou secador de congelamento e convertida em um pulverizado. O pulverizado deve ter um teor de umidade de menos que cerca de 5% em peso.

As bactérias pró-bióticas podem ser cultivada de acordo com qualquer processo apropriado e preparadas para adição à fórmula nutricional ou de bebê através de secagem de congelamento ou secagem de espargimento, por exemplo. Alternativamente, preparações bacterianas podem ser adquiridas de Christian Hansen e Valio já preparadas em uma forma apropriada para adição a produtos alimentícios tais como fórmulas nutricionais e de bebês. As bactérias pró-bióticas podem ser adicionadas à fórmula em uma quantidade entre $10e3$ e $10e12$ cfu/g de pulverizado, mais preferivelmente entre $10e7$ e $10e12$ cfu/g pulverizado.

A invenção será agora ainda ilustrada através de referência aos exemplos que se seguem:

Exemplo 1

Um exemplo da composição de uma apropriada fórmula de bebê para ser usada na presente invenção é dado abaixo.

Nutriente	por 100kcal	por litro
Energia (kcal)	100	670
Proteína(g)	1,83	12,3
Gordura (g)	5,3	35,7
Ácido linoleico (g)	0,79	5,3
Ácido α -linolênico (mg)	101	675
Lactose (g)	11,2	74,7
Minerais (g)	0,37	2,5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410

Nutriente	por 100kcal	por litro
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn (μ g)	8	50
Se (μ g)	2	13
Vitamina A (μ g RE)	105	700
Vitamina D (μ g)	1,5	10
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,4
Vitamina K1 (μ g)	8	54
Vitamina C (mg)	10	67
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)	0,15	1,0
Niacina (mg)	1	6,7
Vitamina B6 (mg)	0,075	0,50
Ácido fólico (μ g)	9	60
Ácido pantotênico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 (μ g)	0,3	2
Biotina (μ g)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I (μ g)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5
<i>L. rhamnosus</i> ATCC 53103	2,10 ⁷ cfu/g de bactérias vivas, pulverizadas	

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de bactérias pró-bióticas na fabricação de um medicamento ou composição nutricional terapêutica para prevenção ou tratamento de diarreia em bebês nascidos por secção cesariana.

5 2. Uso de acordo com a reivindicação 1, em que as bactérias pró-bióticas são bactérias de ácido láctico.

 3. Uso de acordo com a reivindicação 2, em que as bactérias de ácido láctico são da linhagem *Lactobacillus* ATCC 53103, *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730, *Lactobacillus fermentum* VRI 003 ou *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116.

10 4. Uso de acordo com a reivindicação 1, em que as bactérias pró-bióticas são *Bifidobacterias*.

 5. Uso de acordo com a reivindicação 4, em que as *Bifidobacterias* são da linhagem *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999, *Bifidobacterium breve* Bb-03, *Bifidobacterium breve* M-16V ou *Bifidobacterium breve* R0070.

 6. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5 em que o medicamento ou composição nutricional terapêutica ainda compreende uma mistura de oligossacarídeos que compreende 5 a 70% em peso de pelo menos um oligossacarídeo N-acetilado selecionado do grupo compreendendo GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc e Gal β 1,6GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc, 20 a 90% em peso de pelo menos um oligossacarídeo neutro selecionado do grupo compreendendo Gal β 1,6Gal, Gal β 1,6Gal β 1,4Glc Gal β 1,6Gal β 1,6Glc, Gal β 1,3Gal β 1,3Glc, Gal β 1,3Gal β 1,4Glc, Gal β 1,6Gal β 1,6Gal β 1,4Glc, 25 Gal β 1,6Gal β 1,3Gal β 1,4Glc Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc e Gal β 1,3Gal β 1,3Gal β 1,4Glc e 5 a 50% em peso de pelo menos um oligossacarídeo sialilado selecionado do grupo compreendendo NeuA α 2,3Gal β 1,4Glc e NeuA α 2,6Gal β 1,4Glc.

 7. Uso de acordo com a reivindicação 6, em que a mistura de oligossacarídeos compreende 10 a 70% em peso dos oligossacarídeos N-acetilados, 20 a 80% em peso dos oligossacarídeos neutros e 10 a 50% em peso dos oligossacarídeos sialilados.

8. Uso de acordo com a reivindicação 6 ou 7, em que a mistura de oligossacarídeos compreende 15 a 40% em peso dos oligossacarídeos N-acetilados, 40 a 60% em peso dos oligossacarídeos neutros e 15 a 30% em peso dos oligossacarídeos sialilados.

5 9. Uso de acordo com a reivindicação 6 ou 7, em que a mistura de oligossacarídeos compreende 5 a 20% em peso dos oligossacarídeos N-acetilados, 60 a 90% em peso dos oligossacarídeos neutros e 5 a 30% em peso dos oligossacarídeos sialilados.

10 10. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, em que o medicamento ou composição nutricional terapêutica é administrada ao bebê imediatamente após parto e a seguir por pelo menos 2 meses.

11. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, em que o medicamento ou composição nutricional terapêutica é administrada ao bebê por pelo menos 6 meses após o parto.

15 12. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, em que as bactérias pró-bióticas são administradas ao bebê através da alimentação no seio materno.

13. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, em que a composição nutricional terapêutica é uma fórmula para bebê.

20 14. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, em que o medicamento compreende entre 10^5 e 10^{11} cfu de bactérias pró-bióticas por dose diária.

25 15. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, em que a composição nutricional terapêutica compreende entre 10^3 e 10^{12} cfu de bactérias pró-bióticas por grama de composição (peso seco).

RESUMO

Patente de Invenção: **"PRÓ-BIÓTICOS PARA REDUÇÃO DE EPISÓDIOS DE DIARREIA EM BEBÊS NASCIDOS ATRAVÉS DE SECÇÃO CESARIANA"**.

- 5 A presente invenção refere-se ao uso de bactérias pró-bióticas na fabricação de um medicamento ou composição nutricional terapêutica para prevenção ou tratamento de diarreia em bebês nascidos por seção cesariana.