

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤④ COMPOSITION DE FIBRES INDIGESTIBLES SOLUBLES ET D'ORGANISMES EUCA-
RYOTES DOTES D'UNE PAROI POLYSACCHARIDIQUE UTILISEES DANS LE DOMAINE DU
BIEN ETRE.

②② Date de dépôt : 18.07.08.

③③ Priorité :

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : *ROQUETTE FRERES Société
anonyme — FR.*

④③ Date de mise à la disposition du public
de la demande : 22.01.10 Bulletin 10/03.

④⑤ Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 09.08.19 Bulletin 19/32.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑦② Inventeur(s) : DEREMAUX LAETITIA et WILS
DANIEL.

⑦③ Titulaire(s) : ROQUETTE FRERES Société
anonyme.

⑦④ Mandataire(s) : CABINET PLASSERAUD.

FR 2 933 848 - B1



COMPOSITION DE FIBRES INDIGESTIBLES SOLUBLES ET
D'ORGANISMES EUCARYOTES DOTES D'UNE PAROI POLYSACCHARIDIQUE
UTILISEES DANS LE DOMAINE DU BIEN ETRE

5

La présente invention porte sur l'utilisation en combinaison de fibres indigestibles solubles et d'au moins un organisme eucaryote doté d'une paroi polysaccharidique dans le domaine du bien être, dans la
10 complémentation alimentaire, dans l'amélioration de la digestion et de la santé des animaux non ruminants.

Du fait de leurs habitudes alimentaires communes, la flore intestinale des animaux non ruminants à savoir
15 des animaux carnivores et omnivores est composée de souches bactériennes de mêmes genres. Au-delà, cette flore évolue en fonction de l'âge et du régime alimentaire de l'hôte. Chez l'homme, le tractus gastro-intestinal est constitué d'un écosystème microbien
20 complexe (10^{13} à 10^{15} bactéries/g), avec une prédominance des Bactéroïdes, des Bifidobactéries et des Eubactéries. Les microorganismes forment un microbiote qui exerce de nombreuses fonctions biochimiques et physiologiques notamment (i) un complément à la
25 fermentation des nutriments, (ii) un effet de barrière pour protéger le système digestif contre les bactéries pathogènes, (iii) une stimulation dans le développement du système immunitaire.

30

Ce microbiote, est constitué de plus de 500 espèces différentes connues. Les membres du genre *Bacteroides* représentent de 25 % à 60 % de la population bactérienne dans l'intestin de l'homme adulte (MOORE W-E-C., 1978) (FINEGOLD S-M., 1983).

L'art antérieur décrit que des activités glycanases seraient codées par certaines souches colonisant la muqueuse intestinale.

5

Bacteroides thetaiotaomicron coderait pour 172 glycosylhydrolases, *Bifidobacterium longum* n'en compte que 39. Cependant, *in vitro*, seule l'expression de certaines enzymes a été décrite. En outre, cette expression serait inductible (Salyers AA et al., 1977, 10 Kopecný J, et al., 2004 ; Robert C. et al., 2007).

Ainsi, l'induction de la flore intestinale peut être mise en évidence par la mesure de ces activités glycolytiques telles que notamment des α et β 15 glucosidases, β galactosidase, β galactosidase, cellobiohydrolase et β -xylosidase, (MARTEAU Ph. et al., 1990).

20 Les fibres indigestibles sont reconnues comme affectant favorablement la santé en agissant au niveau intestinal sur la microflore bénéfique (SCHREZENMEIR J., 2001) ou en réprimant la colonisation des bactéries pathogènes (RASTALL R-A., 2000). Leur potentiel peut 25 également consister en un effet préventif ou curatif contre certaines maladies (malades cardiovasculaires, cancers) ou contre des dysfonctionnements de l'intestin (IBS).

30 Certaines fibres dites indigestibles, à savoir, des fibres non hydrolysables par les enzymes synthétisées par les animaux non ruminants à savoir les

carnivores et omnivores, sont solubles. On peut citer à titre d'exemple l'inuline, les dextrines, les galactooligosaccharides (GOS), les oligosaccharides solubles d'origine oléagineuse ou protéagineuse, les fructooligosaccharides (FOS), le fructane, les glucooligosaccharides, le polydextrose, la pectine, le lactosucrose, les maltodextrines branchées. Ces fibres solubles sont fermentescibles autrement dit, elles sont fermentées par la flore bactérienne intestinale de l'hôte, à savoir des animaux carnivores ou omnivores. La fermentation libère des acides gras à courtes chaînes dans le côlon, qui ont pour effet de diminuer le pH du milieu colique et par voie de conséquence, de limiter le développement de bactéries pathogènes.

Par fibres solubles, on entend des fibres solubles dans l'eau. Les fibres peuvent être dosées selon différentes méthodes AOAC. On peut citer à titre d'exemple, les méthodes AOAC 997.08 et 999.03 pour les fructanes, les FOS et l'inuline, la méthode AOAC 2000.11 pour le polydextrose, la méthode AOAC 2001.03 pour le dosage des fibres contenues dans les maltodextrines branchées ou la méthode AOAC 2001.02 pour les GOS ainsi que les oligosaccharides solubles d'origine oléagineuse ou protéagineuse.

L'absorption d'aliments comportant des structures polysaccharidiques notamment d'organismes à parois polysaccharidiques est recommandée pour leur effet mécanique dans la facilitation de la digestion ou pour leurs propriétés détoxifiantes.

Par organismes à paroi polysaccharidique, on entend des organismes comportant une paroi cellulaire, que ces organismes soient uni ou pluricellulaires, eucaryotes ou procaryotes. Certains de ces organismes et notamment les organismes eucaryotes à savoir, les végétaux, les champignons ou les levures, ont une paroi non digestible par les animaux omnivores ou carnivores.

Les végétaux ont une paroi cellulaire pectocellulosique composée de cellulose, d'hémicelluloses, de xylanes, de mannanes et de protéines, ainsi que de lignine dans de nombreux cas. Les algues et notamment les microalgues eucaryotes qui représentent une classe particulière des végétaux, comportent dans leur paroi, en plus de la cellulose, des copolymères cellulose/mannanes, du chitosane et de la chitine.

La paroi cellulaire des champignons est elle, composée majoritairement de chitine, alors que la paroi des levures se rapproche de certains végétaux puisqu'elle comporte des glucanes et des mannanes.

Les parois polysaccharidiques des cellules eucaryotes sont insolubles et sont peu fermentées par la flore intestinale des animaux non-ruminants. Elles sont donc indigestibles par les omnivores et les carnivores tels que les mammifères et notamment les hommes.

Les parois polysaccharidiques des cellules eucaryotes s'opposent à celles des procaryotes à savoir

des bactéries ou des cyanobactéries qui elles, sont constituées de peptidoglycanes de structures et de propriétés totalement distinctes.

5 Parmi les végétaux, on décrit : les algues, les lichens et les plantes supérieures. Par plantes supérieures, on entend « plantes à tige » ou Cormophytes. Les champignons ne sont pas considérés comme des végétaux mais comportent au même titre que
10 ceux-ci une paroi polysaccharidique.

 Les végétaux et les champignons constituent tout à la fois un potentiel nutritionnel important ainsi qu'une source d'agents antioxydants tels que la
15 lutéine, le sélénium, les caroténoïdes ou la chlorophylle pour les végétaux.

 Cependant, du fait de la faible digestibilité de leurs parois polysaccharidiques pour les omnivores, les
20 carnivores et notamment pour l'homme, seule une faible proportion de ces nutriments ou agents antioxydants est libérée dans la lumière de l'intestin.

 Ainsi, une partie conséquente des apports nutritifs des végétaux et des champignons n'est pas libérée et donc pas absorbée au cours de la digestion. Ce problème prend une tout autre importance dans le cas d'une alimentation majoritairement voire exclusivement
25 végétale.

30

 Bien que constituant une source de nutriments importante, certains végétaux sont très rarement

consommés, tel est le cas des algues. On distingue chez les algues, les macroalgues et les microalgues.

Les macroalgues, qu'elles soient Chlorophytes, Chromophytes ou Rhodophytes, sont connues pour leur richesse en antioxydants et antiradicalaires tels que les caroténoïdes, les polyphénols, les vitamines ou les acides gras polyinsaturés. En ce qui concerne les polyphénols par exemple, certaines macroalgues telles que les algues brunes (Chromophytes) et notamment les fucales comportent des teneurs en polyphénols qui peuvent atteindre 15% de la matière sèche.

Les microalgues et notamment les viridiplantae, les labyrinthulides, les haptophytes, les rhodophytes et les alveolates représentent un large groupe potentiellement fournisseur de composés ayant des activités biologiques valorisables tels que les protéines dont la richesse peut aller jusqu'à 70% en masse sèche de la microalgue. On peut citer aussi les vitamines notamment les vitamines A, B1, B2, B6, B12, C, E, l'acide folique ou l'acide panthoténique, ou les pigments susceptibles d'avoir un effet positif sur la santé tel qu'un effet anti-oxydant pour la chlorophylle, les caroténoïdes ou les phycobiliprotéines.

Les phycobiliprotéines sont des pigments hydrosolubles de la photosynthèse. On les trouve dans les phycobilisomes chez les rhodophycées, ainsi que libres dans le lumen des thylakoïdes chez les Cryptophycées.

On peut citer la phycocyanine dont l'activité antioxydante serait six fois plus importante qu'un composé antioxydant de référence tel que le TROLOX®
5 (l'acide 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique) et 20 fois supérieure que celle de l'acide ascorbique ou de la vitamine C.

Pour les raisons qui précèdent, les végétaux ainsi
10 que les champignons, sont utilisés comme éléments de choix pour les compléments alimentaires. Cependant, pour que leurs métabolites soient accessibles et assimilables, une extraction par lyse cellulaire est généralement préconisée.

15 Les techniques classiquement utilisées sont des techniques physiques par ébullition, méthode qui présente l'inconvénient de dégrader les constituants labiles à la chaleur, tels que les vitamines par
20 exemple.

Il existe aussi des techniques chimiques par l'utilisation de solvants tels que le phénol, l'acide formique ou l'urée. L'inconvénient de cette dernière
25 méthode est l'élimination du solvant après la lyse des cellules et la nécessité d'une vérification du caractère non toxique des lysats obtenus. Cette toxicité peut être induite par la présence de composés issus de réactions chimiques non désirées avec le
30 solvant ou induites par le solvant.

Une lyse enzymatique des parois est envisageable mais impose des conditions strictes que ce soit dans la production des enzymes actifs ou dans leur purification suivant le moyen de production choisi et la destination du produit final. Enfin, le choix des enzymes et la détermination des conditions réactionnelles optimales peuvent nécessiter une mise en place laborieuse avant d'obtenir des conditions permettant une reproductibilité de la réaction.

10

De plus, la lyse et l'élimination des parois cellulaires réduiraient les propriétés de ces cellules eucaryotes dans l'amélioration de la santé et notamment dans la lutte contre les maladies entéropathogéniques.

15

En effet, les levures, tout comme les microalgues, sont décrites comme ayant des propriétés bénéfiques vis-à-vis de la santé intestinale. Ainsi, elles seraient particulièrement conseillées dans le traitement des différents syndromes entériques tels que les gastroentérites infantiles ou les diarrhées... De fait, leur paroi polysaccharidique permettrait l'adsorption de toxines synthétisées par les bactéries entéropathogéniques. Ceci a été décrit pour *Saccharomyces boulardii* et *Saccharomyces cerevisiae* pour les toxines synthétisées par *Vibrio Cholerae*, *Clostridium difficile* ou *Escherichia coli* entéropathogénique (EPEC).

30

En outre, les levures comme les microalgues seraient impliquées dans la protection de la santé en général en adsorbant des xénobiotiques tels que les

mycotoxines, les dioxines ou les PCB. Au-delà de la toxicité induite par la perméabilité de la barrière intestinale aux xénobiotiques et à leur passage dans le sang, ces toxines seraient de plus impliquées dans de nombreuses maladies intestinales du fait de l'agression tout à la fois de la muqueuse intestinale et de la flore.

L'ingestion sans lyse préalable des levures ou des algues induit une protection de l'intestin vis-à-vis des bactéries entéropathogéniques et des xénobiotiques. Cependant, au vu des agents synthétisés par chacun de ces microorganismes, cet effet protecteur pour la santé intestinale est moindre en comparaison au potentiel protecteur réel de ceux-ci.

En effet, en plus de l'effet induit par leur paroi cellulaire, ces microorganismes tels que les levures et plus particulièrement *Saccharomyces boulardii* ou *Saccharomyces cerevisiae* seraient capable d'exprimer des inhibiteurs dirigés directement contre des agents enteropathogéniques tels que *Vibrio cholerae*, *Clostridium difficile* ou *Escherichia coli* entéropathogénique (EPEC). De tels inhibiteurs peuvent être des enzymes lysant les toxines ou des molécules induisant des mécanismes de défense en se liant à des récepteurs des cellules intestinales. D'autres microorganismes tels que les microalgues *Chlorella vulgaris*, *Chlorella saccharophila*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas reinhardtii* ou *Dunaliella salina* seraient capable d'exprimer des agents antioxydants, par exemple la superoxyde dismutase.

Cependant, l'art antérieur ne décrit pas un mode d'administration de ces organismes eucaryotes à paroi polysaccharidiques contenus dans le bol alimentaire ou
5 apportés en complément qui soit tout à la fois a) d'obtention aisé c'est-à-dire sans préparation, purification ou extraction particulière, qui constitue b) un apport en agents nutritionnels directement assimilables et c) qui induise un effet protecteur pour
10 la santé des animaux carnivores ou omnivores qui soit de façon concomitante amélioré et de spectre plus large (i) du fait des propriétés des parois cellulaires tout en ayant (ii) une libération massive d'enzymes protectrices actives ou d'agents protecteurs non
15 dénaturés ou dégradés par un passage préalable dans l'estomac.

Afin de résoudre ces différents problèmes de l'art antérieur, l'invention porte sur une composition
20 comprenant un ou plusieurs organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique et une ou plusieurs fibres indigestibles solubles.

Un effet synergique de ce mélange a été mis en
25 évidence (i) dans la stimulation de la flore intestinale (ii) dans la production d'enzymes par cette flore intestinale (iii) dans la protection de la santé intestinale par la libération massive d'agents actifs tels que notamment des agents antioxydants ou
30 d'inhibiteurs d'agents pathogènes par la lyse de l'organisme eucaryote à paroi polysaccharidique.

Les organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique seuls ne permettent pas une telle augmentation de la flore ni une telle libération de leur contenu intracellulaire. De même, les fibres indigestibles seules ne permettent pas une telle augmentation de la flore intestinale.

L'utilisation de fibres indigestibles solubles associées à des organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique permet d'avoir une amélioration du bien être intestinal en augmentant la flore d'un niveau supérieur à la simple utilisation de fibres indigestibles solubles. De plus, ce mélange permet tout à la fois un apport en nutriments utilisables par la flore entretenant et exacerbant l'induction de la croissance de la flore tout en apportant des agents actifs et des agents nutritionnels assimilables par l'intestin du fait même de la libération du contenu cytoplasmique de l'organisme à paroi polysaccharidique.

La demanderesse a mis en évidence l'effet synergique de ce mélange aussi bien dans la croissance de la flore que dans la lyse des organismes à paroi polysaccharidique. Ainsi, suivant l'organisme choisi, son effet sur la santé peut être ciblé. Cet effet peut être le fait d'un apport d'agents anti-oxydants tels que le sélénium, la superoxyde dismutase, les caroténoïdes, les vitamines, la chlorophylle ou les phycobiliprotéines, ou d'un apport d'agents détoxifiants, anti-inflammatoires, d'inhibiteurs de l'adhésion d'agents pathogènes (bactéries, virus, parasites). L'effet recherché peut être simplement un

bien être intestinal par une augmentation de la flore, augmentation supérieure à celle observée par la simple absorption de fibres indigestibles seules.

5 Le caractère particulièrement avantageux de cette composition ne réside pas dans la simple adjonction d'une fibre indigestible soluble à un organisme eucaryote à paroi polysaccharidique et donc dans la simple addition des effets de chacun des composés du
10 mélange. De fait, il s'agit d'une réelle coopération entre ces deux composés du mélange, en l'obtention d'un effet synergique dans l'induction tout à la fois de la croissance de la flore et de l'expression d'enzymes glycolytiques. Cet effet est la conséquence de deux
15 effets inattendus et consécutifs, le premier dans l'induction de l'expression d'enzymes glycolytiques dirigées contre les parois des cellules eucaryotes en quantité suffisante pour induire une première lyse des cellules. Le second effet est surprenant en ce que par
20 un apport massif de nutriments et de résidus de parois, les cellules lysées exacerbent à la fois la croissance de la flore et l'induction de l'expression d'enzymes glycolytiques responsables d'une lyse massive des cellules ayant conservé leur intégrité.

25 La composition selon l'invention peut donc être utilisée comme complément alimentaire puisque les nutriments contenu dans les organismes eucaryotes à paroi, considérés par l'art antérieur comme
30 indigestibles pour l'homme ainsi que pour les autres animaux omnivores ou carnivores et donc pas ou peu assimilables, sont, selon l'invention, libérés dans la

lumière de l'intestin et deviennent donc disponibles
 pour être assimilés ou actifs vis-à-vis de la flore ou
 de la muqueuse intestinale. Une utilisation de cette
 composition pour maintenir ou améliorer la santé
 5 intestinale est efficace et notamment vis-à-vis des
 syndrômes entériques ou des cancers liés aux divers
 agressions de la flore ou de la muqueuse intestinale
 par des agents pathogènes, des radicaux libres ou des
 xénobiotiques. En effet, la croissance de la flore
 10 observée est plus importante qu'avec des compositions
 comprenant uniquement des fibres indigestibles. Cette
 composition peut être indiquée seule ou en complément
 dans la prévention ou le traitement de syndromes
 intestinaux, de cancers intestinaux ou d'inflammations
 15 intestinales. On peut aussi envisager la prise de ce
 mélange afin d'améliorer la digestibilité et donc la
 biodisponibilité des nutriments d'origine végétale
 ingérés indépendamment par un individu.

20 De façon avantageuse, les fibres solubles
 indigestibles sont choisies parmi les dextrines, les
 galacto-oligosaccharides (GOS), les fructo-
 oligosaccharides (FOS), les oligosaccharides
 oléagineuse ou protéagineuse, le fructane, l'inuline,
 25 le polydextrose, les gluco-oligosaccharides, le
 lactosucrose, les maltodextrines branchées et leurs
 mélanges

Ces molécules, exacerberaient du fait de leurs
 30 liaisons atypiques et variées une induction des
 diverses enzymes hydrolytiques de la flore intestinale.

Parmi les oligosaccharides solubles d'origine oléagineuse ou protéagineuse, on peut citer le soja, le colza ou le pois dont les oligosaccharides solubles
5 sont particulièrement avantageux de part la présence de liaisons oligosaccharidiques variées.

Avantageusement, les organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique sont choisis parmi des levures, des
10 champignons, des végétaux ou leurs mélanges.

Une augmentation de la production par la flore intestinale de l' α -glucosidase, de la β glucosidase, de la β galactosidase, de l'estérase, de la
15 cellobiohydrolase et de la β -xylosidase suite à l'ingestion de la composition selon l'invention a été mise en évidence. Ces enzymes sont des marqueurs d'une induction importante de la flore associée à une augmentation en masse de la flore signe d'une
20 croissance concomitante de celle-ci. Ainsi, la particularité de la composition selon l'invention, est la présence de ces organismes qui servent à la fois de substrat aux enzymes produits et donc d'inducteurs de la croissance de la flore mais aussi d'inducteurs de la
25 production d'enzymes glycolytiques en association avec les fibres indigestibles solubles. La composition selon l'invention permet d'induire spécifiquement des enzymes glycolytiques capables d'hydrolyser les parois des végétaux et champignons, mais aussi les parois des
30 algues et des levures. Ainsi, ce large spectre d'application permet une adaptabilité de la composition

selon l'invention à l'effet souhaité, à la carence à combler.

De façon encore plus avantageuse, les organismes
 5 eucaryotes à paroi polysaccharidique sont des végétaux
 choisis parmi le groupe des plantes supérieures, des
 algues et leurs mélanges. Parmi les plantes peut citer
 par exemple, les brocolis, les poivrons, les carottes,
 les épinards, la laitue, les tomates, les patates
 10 douces, le cantaloup, la courge, les abricots, le
 persil ou leurs fruits tels que les mangues ou les
 myrtilles. Ces végétaux renferment des nutriments

Préférentiellement, les organismes eucaryotes à
 15 paroi polysaccharidique sont des microalgues choisies
 parmi les viridiplantae, les labyrinthulides, les
 haptophytes, les rhodophytes et les alveolates et leur
 combinaison préférentiellement les chlorophyta et les
 labyrinthulides et leur combinaison et encore plus
 20 préférentiellement *chlorella*, *Scenedesmus*, les
Dunaliella, *Haematococcus*, *Schizochytrium*,
Thraustochytrium et leur combinaison.

L'effet avantageux des microalgues est lié à leur
 25 caractère unicellulaire et à leurs conditions de
 culture relativement aisées. Ainsi, ces organismes sont
 utilisables sans traitement préalable, sans déchets et
 dans leur totalité. Par opposition aux plantes à tige,
 toute la masse est utilisable il n'y a pas de parties
 30 non utilisables du fait d'une caractéristique liée à
 une différenciation cellulaire ou une réduction
 d'expression d'une protéine.

Selon l'invention, la lyse des microalgues permet une libération massive de leur contenu intracellulaire non observée dans le cas de l'utilisation de la microalgue seule. Ces microalgues sont particulièrement indiquées pour leur capacité à fixer des toxines, pour leur richesse en anti-oxydants mais aussi en nutriments. Cette utilisation permet donc d'optimiser l'effet observé lors de l'absorption seule de l'organisme eucaryote à paroi polysaccharidique.

Ces microalgues sont particulièrement nutritives de par leur richesse en protéines, en acides gras polyinsaturés de type oméga 3 à longues chaînes par rapport aux végétaux terrestres.

Selon une seconde variante de l'invention, les organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique sont des levures choisies parmi *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Pichia*.

Ces levures sont particulièrement avantageuses en ce qu'elles sont particulièrement riche en protéines, en acides nucléiques et en ce qu'elles sont impliquées dans l'amélioration de la santé intestinale.

De façon préférentielle la composition comporte un rapport en poids d'organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique/fibre solubles indigestibles allant de 5/95 à 90/10 préférentiellement de 20/80 à 80/20 et plus préférentiellement de 25/75 à 75/25

De façon préférentielle, la composition selon l'invention comprend des maltodextrines branchées présentant entre 15 et 35 % de liaisons glucosidiques 1 → 6, une teneur en sucres réducteurs inférieure à 20
 5 %, un indice de polymolécularité inférieur à 5 et une masse moléculaire en nombre Mn au plus égale à 4500 g/mole.

Les liaisons contenues dans ces fibres seraient
 10 très proches structurellement de celles retrouvées dans les parois cellulaires des cellules eucaryotes et pourraient faciliter l'induction de la flore dans la synthèse d'enzymes dirigées contre leur parois.

15

Les associations fibres solubles indigestibles / organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique préférées sont les maltodextrines branchées et/ou le polydextrose en combinaison avec des microalgues telles
 20 que chlorella, Schizochytrium, Thraustochytrium ou leurs mélanges ; des maltodextrines branchées et/ou le polydextrose en combinaison avec des plantes supérieures telles que les épinards, les tomates, les brocolis, des fruits ou leurs mélanges ; des
 25 maltodextrines branchées et/ou le polydextrose en combinaison avec des champignons tels que le Reishi, le Ganodermataceae Donk, le Shiitake (Lentinan), les Cordyceps, les polypores tels que le Polyporus umbellatus, l'amanite tue mouche, l'amadouvier, la
 30 boviste géante, le tricholome Matsutake, le ganoderme luisant et les Lactarius.

A titre illustratif, on administrera de préférence de l'ordre de 2 à 100g de fibres solubles indigestibles pour 0,3 à 20g de cellules eucaryotes à paroi polysaccharidique par jour pour un homme, 5 préférentiellement 5 g à 20 g de fibres solubles indigestibles pour 1,5 g à 6 g de cellules eucaryotes à paroi polysaccharidique par jour, pour un rapport en poids d'organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique/fibre solubles indigestibles allant 10 de 5/95 à 90/10 préférentiellement de 20/80 à 80/20 et plus préférentiellement de 25/75 à 75/25.

Selon l'invention, la composition comprend 0,5 à 30 %, de préférence 5 à 15 % en poids sec de la 15 combinaison fibres solubles indigestibles/ cellules eucaryotes à paroi polysaccharidique.

L'administration orale peut être ponctuelle, par cure de plusieurs jours ou plusieurs semaines ou être 20 chronique.

La composition conforme à l'invention peut se présenter sous une forme prête à l'emploi, sous forme liquide de poudre ou d'émulsion ou encore sous forme 25 solide telle que par exemple de comprimé, d'un suppositoire, d'une émulsion ou d'un sirop ou sous forme de boisson, comme un jus de fruit, une soupe, ou encore sous forme de yaourts ou incorporé dans les céréales du petit déjeuner.

Les préparations à administration orale peuvent comporter tout excipient ou véhicule usuel. Elles peuvent consister en poudres, granulés, solutions ou autres et, éventuellement, incorporer d'autres principes médicinaux ou principes actifs.

De façon avantageuse, l'invention porte de plus sur l'utilisation de fibres indigestibles solubles pour d'induire la lyse des parois cellulaires d'organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique dans la lumière de l'intestin d'un animal omnivore ou carnivore comportant une flore intestinale. Ainsi, cette utilisation permet d'augmenter la digestibilité des organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique, de potentialiser leurs effets sur la santé, tout en augmentant leur potentiel nutritionnel.

De manière avantageuse, l'utilisation des fibres indigestibles solubles en association avec un ou plusieurs organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique permet selon l'invention, une lyse localisée et importante de ce ou ces organismes au niveau de l'intestin d'un animal omnivore ou carnivore et donc une libération massive localisée de nutriments ou d'agents actifs.

Par agents actifs, on entend des agents protéiques, glycaniques ou biochimiques ayant un effet bénéfique sur la santé tels que des enzymes ou molécules antioxydantes, des enzymes ou molécules ayant un effet anti-inflammatoire ou inhibiteur pour certains microorganismes synthétisant des principes

entéropathogéniques, des molécules protectrices pour la flore intestinales ou la muqueuse intestinale.

Par ailleurs, l'invention porte également sur
5 l'utilisation d'organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique en combinaison avec des fibres indigestibles pour induire la croissance de la flore intestinale d'un animal omnivore ou carnivore et/ou comme complément alimentaire.

10

L'invention porte également sur une méthode pour le maintien et/ou amélioration de la santé d'un animal omnivore ou carnivore consistant en une première étape d'administration de fibres indigestibles solubles et
15 une seconde étape concomitante ou séparée d'administration d'organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique préférentiellement choisis parmi les végétaux, les champignons, les levures et leur combinaison.

20

L'invention a également pour objet une méthode de complémentation alimentaire d'un animal omnivore ou carnivore comprenant une première étape d'administration de fibres solubles indigestibles et
25 une seconde étape concomitante ou séparée d'administration d'organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique préférentiellement choisis parmi les végétaux, les champignons, les levures et leur combinaison.

30

L'invention porte également sur un kit ou une préparation combinée d'organismes à paroi polysaccharidique et de fibres solubles indigestibles

pour une utilisation simultanée, séquentielle ou séparée dans le maintien de la santé d'un animal omnivore ou carnivore ou la prévention de maladies liées à l'âge ou à l'alimentation d'un animal omnivore ou carnivore. Ladite composition peut être utilisée chez l'homme, mais également chez l'animal et plus particulièrement chez le chat, le chien, le cochon, le lapin ou les autres animaux qui sont sensibles à l'inflammation intestinale, des animaux présentant une diminution de leur immunité, ou des animaux dont l'activité ou la résistance à l'effort nécessite un apport en nutriments tels que les chevaux ou les chiens de course. Ladite composition peut être envisagée comme complément alimentaire pour des animaux élevés en dehors de leur milieu naturel, tels que les poissons par exemple.

Cette composition est proposée pour la complémentation alimentaire prévenir ou pour compléter le traitement de maladies liées à l'alimentation ou à l'âge, de syndromes métaboliques, de Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (ou MICI), de syndromes tels que le syndrome du côlon irritable, pour la prévention ou le traitement de personnes atteintes de tourista, de douleurs abdominales dont l'étiologie est souvent méconnue, des personnes souffrant ou sujettes à des carences alimentaires tels que des végétariens ou végétaliens voire des personnes âgées, des personnes de santé fragile ou convalescentes.

Ladite composition est enfin particulièrement adaptée aux sujets stressés dont le stress se manifeste au niveau digestif.

5 L'invention sera mieux comprise à la lecture des exemples qui suivent et qui se veulent illustratifs et non limitatifs.

Exemple :

10 Le métabolisme de la Chlorelle et des Levures a été étudié chez le rat en comparaison d'une maltodextrine branchée (MDB) pendant 28 jours. En parallèle, les Chlorelles ou Levures ont été associées à la maltodextrine branchée pour étudier les effets de l'association d'un organisme eucaryote à paroi
15 polysaccharidique et d'une fibre indigestible soluble.

Les produits testés sont introduits dans un aliment standard pour rats de laboratoire à raison d'une dose fixe de 5%, seuls ou en mélange avec un
20 autre produit, selon le tableau 1 présenté ci-dessous.

25

30

Tableau 1

N° de lot	Produits testés
Lot 1 (témoin)	-
Lot 2 (C)	5% de Chlorelles
Lot 3 (MDB)	5% de MDB
Lot 4 (Y)	5% de Levures
Lot 5 (MDB+C)	5% de MDB + 5% de Chlorelles
Lot 6 (MDB+Y)	5% de MDB + 5% de Levures

La Chlorelle testée est une *Chlorella Vulgaris*. La
5 levure testée est un *Saccharomyces Cerevisiae*.

Après une semaine de quarantaine au cours de
laquelle les animaux reçoivent une alimentation
standard et de l'eau potable, les rats sont randomisés
sur la base de leur poids et attribués à un lot
10 d'étude.

Les rats participant à cette étude sont des rats
OFA origine Sprague-Dawley, mâles. Leur poids est
compris entre 100 et 125g à la réception. Ils sont
15 hébergés par 2 dans des cages Makrolon.

En cours d'étude, différents paramètres sont
évalués : observation clinique, évolution pondérale,
consommation d'aliment, consommation de boisson.

A J-1 et J20, les animaux sont placés individuellement en cage à métabolisme pendant 24 heures. Pendant cette période, ils sont à jeun et reçoivent de l'eau potable à volonté.

A J0 et J21, les fèces 24 heures sont recueillies. Elles sont pesées humides et immédiatement congelées à -20°C . Elles seront ensuite lyophilisées pour une période de 48 à 72 heures, pesées sèches après lyophilisation et broyées. Les différentes analyses seront réalisées dans les 24 heures sur ces fèces broyées.

A J14, des fèces sont recueillies directement au niveau de l'anus des animaux. Une quantité minimale de 3 grammes est recueillie pour chaque animal. Ces fèces sont pesées humides puis congelées immédiatement à -20°C en attente d'être analysées.

Sur les fèces lyophilisées (recueillies à J-1 et J20), les activités enzymatiques des α -glucosidases, β -glucosidases, β -galactosidases, estérases, cellobiohydrolases et β -xylosidases sont réalisées par méthode spectrophotométrique. Les substrats utilisés sont respectivement : p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside, p-nitrophényl- β -D-glucopyranoside, p-nitrophényl- β -D-galactopyranoside, p-nitrophénylacétate, p-nitrophénylcellobioside, p-nitrophénylxylopyranoside. Avant de quantifier ces activités enzymatiques, les enzymes sont extraites par une succession d'étapes d'agitation, de centrifugation,

de lavage. Les résultats d'activités enzymatiques sont exprimés en unité d'absorbance par minute (ou heure pour les activités cellobiohydrolases et β -xylosidases) et par gramme de fèces sèches.

5

Sur les fèces congelées (recueillies à J14), l'activité antioxydante est réalisée par la méthode du TEAC assay (Trolox Equivalent Antioxydante Capacity). L'objectif de ce test est de générer un radical libre (ABTS $\bullet$ + de couleur bleue-verte) à partir d'un mélange d'une solution d'ABTS incolore avec du persulfate de potassium. La décoloration de l'espèce radicalaire par la réaction avec les antioxydants des fèces testées permet de déterminer une capacité antioxydante globale. Cette décoloration est suivie par spectrophotométrie. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition TEAC par rapport à un témoin négatif n'entraînant pas de décoloration.

L'analyse statistique des résultats a été réalisée par un test d'homogénéité des variances (test de Barlett) suivie d'une analyse de la variance par une ANOVA si le résultat était non significatif ou un test de Kruskal et Wallis et un test de Mann et Whitney si le résultat était significatif. Les lots ont été comparés entre eux et par rapport au lot témoin. Seules les comparaisons suivantes seront présentées :

- Lot 1 (témoin) versus tous les lots
- Lot 5 (MDB+C) versus Lot 2 (C)
- Lot 5 (MDB+C) versus Lot 3 (MDB)
- Lot 6 (MDB+Y) versus Lot 4 (Y)
- Lot 6 (MDB+Y) versus Lot 3 (MDB)

30

Dans les tableaux, un chiffre est noté : il indique le lot vis-à-vis duquel le résultat est significatif. Les symboles T, *, **, *** indiquent le
5 niveau de significativité, respectivement : tendance, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$.

Les résultats montrent que l'évolution pondérale, la consommation d'aliment et la consommation de boisson
10 évoluent de façon identique entre les lots. Aucune observation clinique particulière n'a été observée en cours d'étude.

Les résultats des activités enzymatiques des α -glucosidases (α -Glc), β -glucosidases (β -Glc), β -galactosidases (β -Gal), estérases, cellobiohydrolases (CBH) et β -xylosidases (β -Xyl) mesurées à J0 sont
15 résumés dans le tableau 2 suivant :

20

25

30

Tableau 2

Lot	α -Glc	β -Glc	β -Gal	estérases	CBH	β -Xyl
1 Témoin	6.6±1.4	9.2±2.5	28.2±7 .8	121.3±33. 0	158.8± 78.9	319.9± 95.5
2 C	7.7±1.8	9.1±2.9	28.0±7 .7	121.6±33. 6	127.9± 53.9	311.6± 61.6
3 MDB	7.1±1.5	9.2±2.8	26.0±7 .9	110.9±27. 2	156.7± 50.4	344.9± 122.1
4 Y	7.5±2.0	10.6±4. 2	27.7±6 .3	114.4±21. 2	161.6± 69.5	360.6± 120.2
5 MDB+C	7.1±1.7	10.4±3. 1	26.1±8 .4	113.9±22. 6	183.3± 100.3	398.2± 139.6
6 MDB+Y	6.5±0.8	7.6±3.0	23.4±7 .9	103.6±28. 8	90.9±4 8.8	250.3± 93.4

5

L'analyse statistique de ces données ne montre pas de différences significatives entre les lots. En début d'étude à J0, les animaux des différents lots ont tous la même ligne de base en termes d'activités enzymatiques fécales.

10

Les résultats des activités enzymatiques des α -glucosidases (α -Glc), β -glucosidases (β -Glc), β -galactosidases (β -Gal), estérases, cellobiohydrolases (CBH) et β -xylosidases (β -Xyl) mesurées à J21 sont résumées dans le tableau 3 suivant :

15

Tableau 3

Lot	α -Glc	β -Glc	β -Gal	estérasas	CBH	β -Xyl
1 Témoin	6.7±1. 4	9.3±3. 1	27.5±10 .4	111.5±24.2	170.2± 66.1	332.6±1 29.2
<i>stat</i>	3***- 4***- 5***- 6***	3***- 4**- 5***- 6***	5***- 6***	5***-6***	3**- 4***- 5***- 6***	4 ^T -5**- 6**
2 C	6.7±2. 4	11.5±4 .4	22.7±4. 5	99.2±18.8	191.0± 66.0	245.5±7 1.3
<i>stat</i>	5***	5***	5***	5***	5***	5***
3 MDB	14.4±5 .7	22.1±7 .2	28.4±10 .6	101.6±21.8	544.7± 270.3	391.4±9 8.3
<i>stat</i>	1***- 5 ^T -6**	1***- 5*- 6**	5***- 6***	5***-6***	1**- 5*-6**	5*-6**
4 Y	11.8±2 .3	16.3±3 .8	31.4±8. 3	123.0±19.4	327.8± 78.5	435.2±1 26.5
<i>stat</i>	1***- 6***	1**- 6***	6***	6**	1***- 6***	1 ^T -6*
5 MDB+C	18.9±4 .8	31.4±7 .1	56.3±11 .3	162.9±26.8	792.6± 169.4	593.2±2 26.5
<i>stat</i>	1***- 2***- 3 ^T	1***- 2***- 3*	1***- 2***- 3***	1***-2***- 3***	1***- 2**-3*	1**- 2***-3*
6 MDB+Y	34.6±1 4.1	42.9±1 5.6	56.4±11 .5	170.0±26.9	989.3± 208.6	647.4±2 08.9
<i>stat</i>	1***- 3**- 4***	1***- 3**- 4***	1***- 3***- 4***	1***-3***- 4**	1***- 3**- 4***	1**- 3***-4*

Le tableau 4 ci-dessous représente le facteur de multiplication des activités enzymatiques des différents lots en comparaison du lot 1 (témoin). La valeur représente le ratio : (Activité enzymatique d'un lot donné)/(Activité enzymatique du lot témoin).

Un résultat supérieur à 1 montre donc que l'activité enzymatique du lot donné est supérieure à l'activité enzymatique du lot témoin.

Tableau 4

Lot	α -Glc	β -Glc	β -Gal	estérases	CBH	β -Xyl
2 C	0	1.23	0.83	0.88	1.12	0.73
3 MDB	2.14	2.37	1.03	0.91	3.20	1.17
4 Y	1.76	1.75	1.14	1.10	1.92	1.30
5 MDB+C	2.82	3.37	2.04	1.46	4.65	1.78
6 MDB+Y	5.16	4.61	2.05	1.52	5.81	1.94

Le tableau 5 ci-dessous représente le facteur de multiplication des activités enzymatiques du lot « Maltodextrine branchée+Chlorelles » en comparaison des lots « Maltodextrine branchée » et « Chlorelles ». La valeur représente le ratio : (Activité enzymatique du lot « Maltodextrine branchée+Chlorelles »)/(Activité enzymatique du lot « Maltodextrine branchée ») ou le ratio (Activité enzymatique du lot « Maltodextrine

branchée + Chlorelles »)/(Activité enzymatique du lot « Chlorelles»).

5 Tableau 5

Lot	α -Glc	β - Glc	β - Gal	estérases	CBH	β -Xyl
2 C	2.82	2.73	2.48	1.64	4.14	2.41
3 MDB	1.31	1.42	1.98	1.60	1.45	1.51

Le tableau 6 ci-dessous représente le facteur de multiplication des activités enzymatiques du lot « Maltodextrine branchée+Levures » en comparaison des lots « Maltodextrine branchée » et « Levures». La valeur représente le ratio : (Activité enzymatique du lot « Maltodextrine branchée+Levures »)/(Activité enzymatique du lot « Maltodextrine branchée») ou le ratio (Activité enzymatique du lot « Maltodextrine branchée + Levures »)/(Activité enzymatique du lot « Levures»).

20 Tableau 6

Lot	α -Glc	β -Glc	β -Gal	estérases	CBH	β -Xyl
3 MDB	2.40	1.94	1.98	1.67	1.81	1.65
4 Y	2.93	2.63	1.79	1.38	3.01	1.48

Pour les activités α -glucosidases, β -glucosidases et cellobiohydrolases, l'analyse statistique montre que les activités de tous les lots, excepté le lot « Chlorelles », augmentent significativement par rapport au lot témoin. En excluant le lot « Chlorelles », le facteur de multiplication des activités est compris entre 1.76 et 5.16 (α -glucosidases), entre 1.75 et 4.61 (β -glucosidases) et entre 1.92 et 5.81 (cellobiohydrolases) par rapport au lot témoin.

Ces activités sont statistiquement plus importantes pour le lot « Maltodextrine branchée+Chlorelles » en comparaison du lot « Maltodextrine branchée » seul ou du lot « Chlorelles » seul. Les facteurs de multiplication sont, respectivement de 1.31-2.82 pour l' α -glucosidase, 1.42-2.73 pour la β -glucosidase, 1.45-4.14 pour la cellobiohydrolase.

De même, ces activités sont statistiquement plus importantes pour le lot « Maltodextrine branchée+Levures » en comparaison du lot « Maltodextrine branchée » seul ou du lot « Levures » seul. Les facteurs de multiplication sont, respectivement de 2.40-2.93 pour l' α -glucosidase, 1.94-2.63 pour la β -glucosidase, 1.81-3.01 pour la cellobiohydrolase.

Pour les activités β -galactosidases, estérases et β -xylosidases, les lots « Maltodextrine branchée+Chlorelles » et « Maltodextrine branchée+Levures » voient leurs activités augmenter

statistiquement par rapport au lot témoin. Pour ces deux lots, le facteur de multiplication des activités est de 2.04/2.05 (β -galactosidases), 1.46/1.52 (estérases) et 1.78/1.94 (β -xylosidases) par rapport au
 5 lot témoin.

Ces activités sont statistiquement plus importantes pour le lot « Maltodextrine branchée+Chlorelles » en comparaison du lot « Maltodextrine branchée » seul ou du lot
 10 « Chlorelles » seul. Les facteurs de multiplication sont, respectivement de 1.98-2.48 pour la β -galactosidase, 1.60-1.64 pour l'estérase, 1.51-2.41 pour la β -xylosidase.

De même, ces activités sont statistiquement plus
 15 importantes pour le lot « Maltodextrine branchée+Levures » en comparaison du lot « Maltodextrine branchée » seul ou du lot « Levures » seul. Les facteurs de multiplication sont, respectivement de 1.98-1.79 pour la β -galactosidase,
 20 1.67-1.38 pour l'estérase, 1.65-1.48 pour la β -xylosidase.

Afin de prouver l'effet synergique des produits et non l'effet cumulatif, le tableau 7 ci-dessous
 25 représente la différence d'activité enzymatique calculée entre un lot donné et le lot témoin. Sur ce même tableau, les « résultats théoriques » ont été calculés :

- l'activité théorique du lot 5 représente la somme de
 30 l'activité obtenue pour le lot 2 additionnée de l'activité du lot 3 ;

- l'activité théorique du lot 6 représente la somme de l'activité obtenue pour le lot 3 additionnée de l'activité du lot 4.

5 Tableau 7

	α -Glc	β -Glc	β -Gal	estérases	CBH	β -Xyl
2 C	0	2.2	-4.8	-12.3	20.8	-87.1
3 MDB	7.7	12.8	0.9	-9.9	374.5	58.8
4 Y	5.1	7.0	3.9	11.5	157.5	102.6
5 MDB+C	12.2	22.1	28.8	51.4	622.4	260.6
5 théorique MDB+C	7.7	15.0	-3.9	-22.2	395.3	-28.3
6 MDB+Y	27.9	33.6	28.9	58.5	819.1	314.8
6 théorique MDB+Y	12.8	19.8	4.8	1.6	532.1	161.4

10 Ce tableau montre clairement que quelque soit l'activité enzymatique mesurée, les activités obtenues pour les produits testés en mélange sont très largement supérieures aux activités enzymatiques théoriques calculées. Les effets sont donc des effets synergiques et non des effets additifs.

15 Afin de mettre en évidence la lyse cellulaire des microorganismes, une analyse d'un marqueur

intracellulaire a été effectuée. Par opposition à la levure, la Chlorelle est décrite comme contenant de nombreux agents antioxydants telles que la chlorophylle et les vitamines par exemple. L'étude de ce marqueur spécifique de la lyse de la chlorelle dans les fèces aussi bien des rats ayant ingérés de la chlorelle (lot 2 et 5) que des levures (lot 4 et 6), permet de distinguer la lyse de la chlorelle de tout autre effet artéfactuel et non spécifique à l'organisme eucaryote, chlorelle ou levure, associé à la fibre.

Les résultats des activités antioxydantes des fèces mesurées à J14 sont résumés dans le tableau 8.

Tableau 8

Lot	% d'inhibition
1 Témoin	409.7±28.6
<i>stat</i>	5***
2 C	413.9±37.6
<i>stat</i>	5***
3 MDB	426.1±43.4
<i>stat</i>	5**
4 Y	380.6±23.6
<i>stat</i>	-
5 MDB+C	497.0±51.9
<i>stat</i>	1***-2***-3**
6 MDB+Y	419.5±30.5
<i>stat</i>	-

La capacité antioxydante des fèces des animaux du lot « Maltodextrine branchée+Chlorelles » est
 5 statistiquement augmentée par rapport au lot témoin, par rapport au lot « Maltodextrine branchée » et par rapport au lot « Chlorelles ».

Les facteurs de multiplication pour le lot « Maltodextrine branchée+Chlorelles » sont de :

- 10 - 1.21 par rapport au lot témoin
- 1.20 par rapport au lot « Chlorelles »
- 1.16 par rapport au lot « Maltodextrine branchée ».

Afin de prouver l'effet synergique des produits et non l'effet cumulatif, le tableau 9 ci-dessous
 15 représente la différence de capacité antioxydante calculée entre un lot donné et le lot témoin. Sur ce même tableau, les « résultats théoriques » ont été calculés :

- 20 - l'activité théorique du lot 5 représente la somme de la capacité antioxydante obtenue pour le lot 2 additionnée de la capacité antioxydante du lot 3 ;
- l'activité théorique du lot 6 représente la somme de la capacité antioxydante obtenue pour le lot 3
 25 additionnée de la capacité antioxydante du lot 4.

Tableau 9

	% d'inhibition
2 C	4.2
3 MDB	16.4
4 Y	-29.1
5 MDB+C	87.3
5 théorique MDB+C	20.6
6 MDB+Y	9.8
6 théorique MDB+Y	-12.7

Ce tableau montre clairement que la capacité
 5 antioxydante obtenue pour le mélange maltodextrine
 branchée et chlorelles est très largement supérieures à
 la capacité antioxydante théorique calculée. Les effets
 sont donc des effets synergiques et non des effets
 additifs. Cette observation n'est pas valable pour le
 10 lot MDB+Y.

Ces résultats montrent bien que l'hydrolyse de la
 paroi de la Chlorelle permet la libération des
 antioxydants alors que cela n'est pas observé pour les
 15 animaux consommant la Chlorelle seule.

Ces résultats sont extrêmement intéressants puisqu'ils démontrent un effet synergique, et non additif, entre la Maltodextrine branchée et les Chlorelles ou Levures. Ainsi, la demanderesse a montré par l'étude des activités enzymatiques dans les fèces des rats, un effet synergique du mélange de fibres solubles indigestibles et d'organismes eucaryotes à paroi polysaccharidique sur la croissance de la flore intestinale. La demanderesse a de plus montré, par l'étude des activités antioxydantes des fèces, un effet synergique du mélange de fibres solubles indigestibles et d'organisme eucaryotes à paroi polysaccharidique sur la lyse des organismes à paroi polysaccharidique. Selon toute vraisemblance, les bactéries de la flore intestinale, suite à l'induction du fait de l'ingestion du mélange sécrèteraient des enzymes capables d'hydrolyser la paroi des Chlorelles et des Levures libérant divers composés notamment azotés favorisant la croissance d'autres bactéries qui vont elles-mêmes produire des enzymes.

Salyers AA, Palmer JK, Wilkins TD. Laminarinase (beta-glucanase) activity in *Bacteroides* from the human colon. *Appl Environ Microbiol.* 1977 May;33(5):1118-24.

25

Robert C, Chassard C, Lawson PA, Bernalier-Donadille A. *Bacteroides cellulosilyticus* sp. nov., a cellulolytic bacterium from the human gut microbial community. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007 Jul;57(Pt 7):1516-20.

30

Kopecný J, Hajer J, Mrázek J. Detection of cellulolytic bacteria from the human colon. *Folia Microbiol (Praha)*. 2004;49(2):175-7.

- 5 Marteau P, Pochart P, Flourié B, Pellier P, Santos L, Desjeux JF, Rambaud JC. Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *Am J Clin*
10 *Nutr.* 1990 Oct;52(4):685-8.

REVENDICATIONS

1. Composition caractérisée en ce qu'elle comprend une ou plusieurs algues et une ou
5 plusieurs fibres indigestibles solubles dont au moins une de ces fibres est une maltodextrine branchée.
2. Composition selon la revendication 1 caractérisée en ce que les fibres indigestibles
solubles autres que les maltodextrines branchées sont choisies parmi les dextrines, les
10 galacto-oligosaccharides (GOS), les fructo-oligosaccharides (FOS), les oligosaccharides oléagineux ou protéagineux, le fructane, l'inuline, le polydextrose, les gluco-oligosaccharides, le lactosucrose et leurs mélanges.
3. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2 caractérisée en ce que
15 les algues sont des microalgues choisies parmi les *chlorophyta*, les *viridiplantae*, les *labyrinthulides*, les *haptophytes*, les *rodophytes* et les *alveolates* ou leurs combinaisons, préférentiellement les *chlorophyta*.
4. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisée en ce
20 qu'elle comporte un rapport en poids algues/fibres solubles indigestibles allant de 5/95 à 90/10.
5. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisée en ce que
la maltodextrine branchée présente entre 15 et 35% de liaisons glucosidiques 1→6,
25 une teneur en sucres réducteurs inférieure à 20%, un indice de polymolécularité inférieur à 5 et une masse moléculaire en nombre Mn au plus égale à 4500 g/mole.
6. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisée en ce
qu'elle est sous la forme d'une poudre, d'un comprimé, d'un suppositoire, d'une
30 émulsion ou d'un sirop.

7. Combinaison d'algues et de fibres indigestibles dont au moins une de ces fibres est une maltodextrine branchée pour induire la croissance de la flore intestinale d'un animal omnivore ou carnivore et/ou comme complément alimentaire.
- 5 8. Préparation combinée d'algues et de fibres solubles indigestibles dont au moins une de ces fibres est une maltodextrine branchée pour une utilisation simultanée, séquentielle ou séparée dans le maintien de la santé d'un animal omnivore ou carnivore ou la prévention de maladies liées à l'âge ou à l'alimentation d'un animal omnivore ou carnivore.

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

☒ Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

☐ Le demandeur a maintenu les revendications.

☒ Le demandeur a modifié les revendications.

☐ Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

☐ Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

☒ Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

☒ Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

☒ Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

☐ Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

☐ Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

DATABASE GNPD [ONLINE] MINTEL, anonymous : "Dietary supplement"
XP002685862

DATABASE GNPD [ONLINE] MINTEL, anonymous : "Sun vitamins dietary supplement"
XP002685863

DATABASE GNPD [ONLINE] MINTEL, anonymous : "Denoxinal detoxication dietary supplement"
XP002685864

DATABASE GNPD [ONLINE] MINTEL, anonymous : "GREENS+ - Superfood powder for great health"
XP002566318

WO2006112364 A1 (DAINIPPON INK & CHEMICALS [JP]; OKINAWA FERMENTATIVE CHEMICALS [JP]; SADOYAMA KEIICHI [JP]; MIYAGI TAKESHI [JP]; INAFUKU KEIICHIRO [JP]; SAKAKIBARA MASAKI [JP]; HIRAHASHI TOMOHIRO [JP]; YOSHIKAWA NORITAKA [JP]) 26 octobre 2006 (2006/10/26)

FR2884422 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]) 20 octobre 2006 (2006/10/20)

BOMBA A ET AL. "Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids" British Journal of Nutrition, 2001 YAKULT INTERNATIONAL CONFERENCE ON PROBIOTICS AND HEALTH; LONDON, ENGLAND; SEPTEMBER 13-14, 2001, vol. 88, no. Supplement 1, 1 september 2002 (2002-09-01), pages S95-S99, XP002566319

YOKOSE TAKESHI ET AL.: "Growth-Promoting Effect of Alginate Oligosaccharides on a Unicellular Marine Microalga, Nannochloropsis oculata", BIOSCI. BIOTECHNOL. BIOCHEM., vol. 73n no. 2, 1 février 2009 (2009-02-01), pages 450-453, XP002566327

WO 97/34615 A1 (UNIV NEW SOUTH WALES [AU]; BURNS PHILIP & COMPANY LIMITED [AU]; BURNS P) 25 septembre 1997 (1997-09-25)

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

WO 00/33854 A (NUTRICIA NV [NL]; JONG PATRICIA DE [NL]; LAERE KATRIEN VAN [NL]) 15 juin 2000 (2000-06-15)

US 2007/009502 A1 (LALL RAJIV [US] ET AL) 11 janvier 2007 (2007-01-11)

FR 2 906 109 A (PHYSICIENCE SOC PAR ACTIONS SIM [FR]) 28 mars 2008 (2008-03-28)

WO 2006/134409 A (JASZBERENYI CSABA JOZSEF [HU]; SZAKACS TAMAS JANOS [HU]) 21 décembre 2006 (2006-12-21)

**3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND
DE LA VALIDITE DES PRIORITES**

NEANT