



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

(21) **PI0617507-4 A2**

(22) Data de Depósito: 20/10/2006
(43) Data da Publicação: 26/07/2011
(RPI 2116)



(51) Int.Cl.:

A23L 1/30 2006.01
A23L 1/29 2006.01
A23L 1/308 2006.01
A23C 9/20 2006.01
A61K 35/74 2006.01
A61P 1/00 2006.01

(54) Título: **MÉTODO PARA ESTIMULAÇÃO DA FLORA INTESTINAL**

(30) Prioridade Unionista: 21/10/2005 EP 05 023029.1

(73) Titular(es): N.V. Nutricia

(72) Inventor(es): Bernd Stahl, Günther Boehm, Jan Knol

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

(86) Pedido Internacional: PCT EP2006010159 de 20/10/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/045502 de 26/04/2007

(57) Resumo: MÉTODO PARA ESTIMULAÇÃO DA FLORA INTESTINAL presente invenção refere-se aos métodos para alimentação e as composições a serem administradas aos bebês que nascem de parto por cesariana e especificamente ao uso de a) pelo menos dois microorganismos diferentes; ou b) pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou c) pelo menos duas espécies diferentes de Bifido-bacteria, subespécies ou cepas para a fabricação de uma composição para administração enteral a um bebê nascido de parto por cesariana. Pelo que, é possível estimular o desenvolvimento saudável da flora intestinal dos bebês.



PI0617507-4

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**MÉTODO PARA ESTIMULAÇÃO DA FLORA INTESTINAL**".

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se aos métodos para alimentação e
5 as composições a serem administradas aos bebês que nascem do parto por cesariana.

Antecedentes da Invenção

Quando se fórmula nutrição para bebês, o leite materno é usado como o melhor padrão. Os ingredientes, especificamente os de origem não
10 humana, são normalmente combinados para mimetizar os aspectos composicionais e efeitos fisiológicos do leite materno humano.

Um aspecto importante do leite humano é que ele fornece energia e fluidos ao bebê. Além de fornecer energia, o leite materno humano contém muitos componentes adicionais, que têm por objetivo manter a saúde do bebê. O leite materno humano contém, por exemplo, fibra prebiótica,
15 que estimula o desenvolvimento da flora intestinal saudável. Uma flora intestinal saudável traz inúmeros efeitos positivos ao bebê, tais como, incidência reduzida de infecções e um sistema imune resistente.

Várias fórmulas de leite para bebês disponíveis comercialmente
20 contêm ingredientes que objetivam estimular o desenvolvimento da flora intestinal. As fórmulas para bebês podem conter, por exemplo, fibras prebióticas ou organismos probióticos vivos. As fibras prebióticas normalmente passam não digeridas através do trato gastrointestinal superior e estimulam seletivamente o crescimento de bactérias benéficas no cólon. As bactérias
25 probióticas vivas aumentam as contagens bacterianas específicas no intestino.

A EP 1105002 descreve uma mistura de carboidrato prebiótico compreendendo um ou mais oligossacarídeos solúveis e um ou mais polisacarídeos solúveis com pelo menos 80% em peso de cada sendo de prebióticos.
30

O WO 2005039319 descreve uma preparação compreendendo *Bifidobacterium breve* e uma mistura de carboidratos não digeríveis para

bebês alimentados parcialmente de leite não materno e parcialmente de leite materno, bem como o uso da mesma para o tratamento ou prevenção de transtornos imunes em bebês alimentados parcialmente de leite não materno e parcialmente de leite materno.

5 Sumário da Invenção

As fórmulas para bebês são normalmente projetadas para mimetizar o desenvolvimento de uma flora intestinal em um bebê que recebe leite materno humano, com a implicação de que todos os bebês reagem de forma similar ao leite materno humano e à fórmula de leite para bebês. Contudo, os presentes inventores verificaram que uma subpopulação de bebês, denominados aqueles bebês que nascem de parto por cesariana, reagem de forma diferente, uma vez que sua flora intestinal no nascimento é completamente diferente da flora intestinal dos bebês que nascem de parto normal. Especificamente, o perfil e conteúdo das espécies da *Bifidobacteria* de bebês que nascem do parto por cesariana é diferente daquele perfil intestinal e teor de espécies da *Bifidobacteria* dos bebês que nascem através de parto normal.

Os presentes inventores analisaram a flora intestinal dos recém-nascidos após parto por cesariana e dos recém-nascidos após parto normal. Foi verificado, surpreendentemente, que existem muitas diferenças entre os dois grupos na composição da flora intestinal. Especificamente, os bebês que nascem de parto normal contêm pelo menos cerca de três espécies diferentes da *Bifidobacteria*, considerando-se que os bebês nascidos de parto por cesariana não possuem a maior parte das espécies da *Bifidobacteria* importantes.

Foi também descoberto que os bebês nascidos através do parto por cesariana especificamente não possuem *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis* e *Bifidobacterium longum*. Essas espécies estavam presentes na flora da maior parte dos bebês que nasceram através do parto normal.

Uma vez que a flora intestinal desempenha um papel importante no desenvolvimento do bebê, especificamente na estimulação do sistema

imune e resistência contra infecções, o mais importante é estimular o desenvolvimento saudável da flora intestinal dos bebês nascidos através do parto por cesariana.

Adicionalmente, os recém-nascidos do parto por cesariana não possuem uma biodiversidade em sua flora intestinal. Apenas uma ou duas espécies diferentes da *Bifidobacteria* foram detectadas nos recém-nascidos de parto por cesariana, enquanto a flora intestinal dos recém-nascidos de parto normal normalmente contém várias espécies diferentes da *Bifidobacteria*. Os presentes inventores acreditam que essas observações são indicativas de uma falta geral de uma variedade de espécies no trato intestinal dos recém-nascidos de parto por cesariana. A biodiversidade é de grande importância para a obtenção dos efeitos fisiológicos desejados e estimular otimamente a saúde dos recém-nascidos.

Natren® produz o produto probiótico Life Start® que é indicado especificamente para bebês e apropriado para bebês que nasceram de parto por cesariana. O Life Start® é fabricado com a *Bifidobacterium infantis*. Uma vez que o produto Life Start® contém apenas uma espécie simples da *Bifidobacteria*, os benefícios para o bebê serão muito limitados.

Especificamente não esperada é também a observação de que as melhoras na saúde do bebê podem ser obtidos mesmo quando os bebês são alimentados com o leite materno. No caso em que os bebês nascem de parto por cesariana, o leite materno é (na maior parte dos casos) a melhor nutrição para o bebê. Contudo, o leite materno também não resulta instantaneamente em uma flora similar àquela observada em bebês nascidos de parto normal. O presente método portanto, também é usado vantajosamente quando o bebê recebe leite materno humano.

Conseqüentemente, a presente invenção tem especificamente por objetivo: a) aumentar a ocorrência de espécies específicas na flora intestinal dos bebês nascidos de parto por cesariana; b) aumentar a biodiversidade dos microorganismos na flora intestinal; e/ou c) estimular o crescimento de microorganismos benéficos, especificamente a *Bifidobacteria*.

Conseqüentemente, em um aspeto, a presente invenção provê um método

para estimular o desenvolvimento saudável da flora intestinal dos bebês nascidos de parto por cesariana, por administração de uma composição contendo:

- pelo menos dois microorganismos diferentes;
- 5 - pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou
- pelo menos duas espécies da *Bifidobacteria* diferentes, subespécies ou cepas.

O microorganismo aumentará a biodiversidade da flora dos bebês, enquanto os oligossacarídeos não digeríveis estimularão o desenvolvimento e crescimento de microorganismos inerentes e administrados.

A composição a ser administrada no presente método contém, preferivelmente, múltiplas espécies bacterianas diferentes, preferivelmente múltiplas espécies da *Bifidobacteria*. Isso resulta em estimulação otimizada da flora intestinal dos bebês que nascem do parto por cesariana.

Descrição Detalhada das Concretizações Preferidas

A presente invenção provê um método para alimentação de bebês, o dito método compreendendo administração enteral de uma composição a um bebê que nasceu de parto por cesariana, a dita composição compreendendo:

20 a) pelo menos dois microorganismos diferentes; ou b) pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou c) pelo menos duas espécies diferentes da *Bifidobacteria*, subespécies ou cepas.

Em um aspecto adicional, a presente invenção provê um método para estimular a saúde de um bebê que nasceu de parto por cesariana, compreendendo administração ao bebê e dentro de 100 horas após o nascimento, de uma composição contendo microorganismos e/ou oligossacarídeos não digeríveis.

Ainda em um aspecto adicional, a presente invenção provê um método para fabricação de nutrição para bebês, apropriada para bebê que nasceu de parto por cesariana, compreendendo mistura de: A) leite materno humano; e B) uma composição compreendendo: i) pelo menos dois microor-

ganismos diferentes; ou ii) pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou iii) pelo menos duas espécies diferentes de *Bifidobacteria*, subespécies ou cepas.

Ainda em um aspecto adicional, a presente invenção provê uma
5 composição compreendendo pelo menos quatro espécies da *Bifidobacteria*,
subespécies e/ou cepas selecionadas do grupo consistindo em *Bifidobacte-*
rium breve, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium*
catenulatum, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*,
Bifidobacterium gallicum, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angula-*
10 *tum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum*
e *Bifidobacterium longum*.

A presente invenção também provê uma composição nutricional
compreendendo entre 5 e 25% de proteína; entre 25 e 60% de gordura; en-
tre 30 e 70% de carboidratos; pelo menos duas espécies diferentes da *Bifi-*
15 *dobacteria* e pelo menos uma espécie de *Lactobacillus*.

A presente invenção também provê um recipiente com um volu-
me líquido entre 0,5 e 50 mL contendo uma composição a ser administrada
a um bebê compreendendo pelo menos dois microorganismos diferentes; ou
pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não dige-
20 rível; ou pelo menos duas espécies diferentes da *Bifidobacteria*, subespécies
ou cepas.

Em um aspecto adicional, a presente invenção provê um método
para estimular o desenvolvimento de uma flora intestinal saudável em um
bebê, compreendendo a etapa de: A) mistura de I) um líquido nutricional ou
25 farmacêuticamente aceitável; e II) uma composição seca, onde a composi-
ção seca II compreende pelo menos dois microorganismos diferentes; ou
pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não dige-
rível; ou pelo menos duas espécies de *Bifidobacteria* diferentes, subespécies
ou cepas; e B) administração da composição obtida na etapa a) a um bebê
30 que nasceu de parto por cesariana.

As composições usadas na presente invenção são preferivel-
mente as composições nutricionais e/ou farmacêuticas e apropriadas para

administração aos bebês.

Parto por cesariana

A presente invenção refere-se à administração enteral de uma composição contendo um microorganismo aos bebês que nascem do parto por cesariana. Um parto por cesariana é um procedimento cirúrgico onde um bebê nasce através de uma incisão feita na parede abdominal da mãe, e então através da parede do útero. Um parto por cesariana é geralmente realizado quando é mais seguro para a mãe e para o bebê em comparação ao parto normal. Outras vezes, a mulher pode escolher entre ter seu bebê de um parto por cesariana ou parto normal.

Diversidade

A presente composição contém pelo menos dois microorganismos diferentes; ou pelo menos um organismo do tipo microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou pelo menos duas espécies da *Bifidobacteria*, subespécies ou cepas diferentes. Os microorganismos são preferivelmente bactérias e/ou leveduras. Preferivelmente, os microorganismos empregados na presente invenção são probióticos, isto é, quando aplicados aos seres humanos ou animais, eles afetam benéficamente o hospedeiro por melhorar as propriedades da microflora nativa. As combinações mencionadas acima geralmente têm o objetivo de aumentar a diversidade e/ou quantidade dos microorganismos nos intestinos da criança que nasceu de parto por cesariana. Isso afeta benéficamente o bebê, provendo vários benefícios saudáveis.

O termo "microorganismos diferentes" conforme usado na presente invenção refere-se ao microorganismo que pertence a um gênero e/ou espécie diferente. Preferivelmente, os microorganismos diferentes são bactérias diferentes. Preferivelmente, os microorganismos diferentes são espécies diferentes. Por exemplo e preferivelmente, a presente composição compreende ou consiste em breve *Bifidobacterium* (*B. breve*) e *Bifidobacterium catenulatum* (*B. catenulatum*). *B. breve* e *B. catenulatum* são consideradas aqui como duas espécies bacterianas diferentes. Espécies bacteriana não são consideradas diferentes se elas forem de subespécies diferentes. Por

exemplo, *Lactobacillus delbrueckii* subespécie *delbrueckii* e *Lactobacillus delbrueckii* subespécie *bulgaricus* não são considerados como duas espécies diferentes. A presente composição contém pelo menos dois microorganismos diferentes, preferivelmente pelo menos duas espécies bacterianas diferentes. Preferivelmente, a presente composição contém pelo menos três espécies diferentes, mais preferivelmente pelo menos quatro espécies diferentes. Preferivelmente, o microorganismo ou as espécies bacterianas empregados são probióticas.

Em uma concretização, a presente invenção contém, pelo menos, duas espécies de *Bifidobacteria* diferentes, subespécies ou cepas. A presente composição compreende, preferivelmente, pelo menos um, preferivelmente pelo menos duas, mesmo mais preferivelmente pelo menos três e a mais preferivelmente pelo menos quatro subespécies de *Bifidobacteria* diferentes. Por exemplo, a *Bifidobacterium animalis* subespécie *animalis* e *Bifidobacterium animalis* subespécie *lactis* são subespécies diferentes. *B.breve* M16V e *B.breve* R0070 são cepas diferentes.

Microorganismos

Preferivelmente, a presente composição contém pelo menos um microorganismo selecionado do grupo consistindo em bactérias do ácido láctico, bacilos e leveduras, preferivelmente pelo menos uma bactéria do ácido láctico selecionada do grupo consistindo em *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* e *Bifidobacteria*. A presente composição contém, preferivelmente, pelo menos dois, mais preferivelmente pelo menos três, mais preferivelmente pelo menos quatro microorganismos diferentes.

Preferivelmente, a presente composição contém pelo menos uma espécie selecionada do gênero *Bifidobacteria*, mais preferivelmente pelo menos duas, mesmo mais preferivelmente pelo menos três, mais preferivelmente pelo menos quatro, mais preferivelmente pelo menos cinco espécies do gênero da *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria* são bactérias Gram positivas, anaeróbias, conformadas em bastão. As presentes espécies de *Bifido-*

bacterium possuem preferivelmente pelo menos 95% de identidade da sequência 16 S do RNAr quando comparadas ao tipo de cepa das respectivas espécies *Bifidobacterium*, mais preferivelmente pelo menos 97% de identidade, conforme definido nos livros desse assunto, como por exemplo, Sambrook, J., Fritsch, E.F., e Maniatis, T. (1989), Molecular Cloning, A Laboratory manual, 2^a-edição, Cold Spring Harbor (N.Y.) Laboratory Press. *Bifidobacteria* preferivelmente usadas são também descritas por Scardovi, V. Genus *Bifidobacterium*. p. 1418 - p 1434. Em: Bergey's manual of Systematic Bacteriology. Volume 2, Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe e J.G. Holt (ed.) Baltimore: Williams & Wilkins. 1986. 635 p.

A presente composição preferivelmente contém, pelo menos uma, mais preferivelmente pelo menos duas, mesmo mais preferivelmente pelo menos três e mesmo mais preferivelmente pelo menos quatro espécies *Bifidobacterium* preferivelmente selecionadas do grupo consistindo em *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* e *Bifidobacterium longum*. Mais preferivelmente a presente composição preferivelmente compreende pelo menos uma, mais preferivelmente pelo menos duas, mesmo mais preferivelmente pelo menos três e mais preferivelmente pelo menos quatro espécies *Bifidobacterium* preferivelmente selecionadas do grupo consistindo em *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis* e *Bifidobacterium longum*. Mais preferivelmente a presente composição contém *Bifidobacterium breve* e/ou *Bifidobacterium catenulatum*.

Em uma concretização adicionalmente preferida, a presente composição compreende pelo menos uma, mais preferivelmente pelo menos duas, mesmo mais preferivelmente pelo menos três e mais preferivelmente pelo menos quatro subespécies *Bifidobacterium*. Ainda em uma concretização adicionalmente preferida, a presente composição compreende pelo me-

nos uma, mais preferivelmente pelo menos duas, mesmo mais preferivelmente pelo menos três e mesmo mais preferivelmente pelo menos quatro cepas *Bifidobacterium*.

Em uma concretização adicionalmente preferida, a presente
 5 composição contém uma bactéria do ácido láctico, preferivelmente pelo menos uma bactéria selecionada do grupo consistindo em *Lactobacilli*, *Lactococci* e *Streptococci*. Mais preferivelmente, a presente composição contém pelo menos uma bactéria selecionada do grupo consistindo em *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*,
 10 *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus paracasei*. A biodiversidade adicionalmente aumentada terá um efeito estimulador na saúde dos recém-nascidos.

A presente composição contém preferivelmente entre 10^1 e 10^{13}
 15 microorganismos de unidades de formação de colônia (cfu) por grama de peso seco da presente composição, preferivelmente entre 10^2 e 10^{12} , mais preferivelmente entre 10^3 e 10^{10} . Preferivelmente, a presente composição contém entre 10^1 e 10^3 unidades de formação de colônia (cfu) *Bifidobacteria* por grama de peso seco da presente composição, mais preferivelmente entre 10^2 e 10^{12} , mais preferivelmente 10^3 e 10^{12} .
 20

O presente método compreende preferivelmente a administração de uma porção contendo entre 10^1 e 10^{13} cfu de microorganismos, mais preferivelmente entre 10^2 e 10^{11} , mais preferivelmente entre 10^3 e 10^{10} . O presente método compreende, preferivelmente, a administração de uma porção
 25 contendo entre 10^1 e 10^3 cfu de *Bifidobacteria*, mais preferivelmente entre 10^2 e 10^{12} , mais preferivelmente entre 10^3 e 10^{11} .

Oligossacarídeos

O termo "oligossacarídeos não digeríveis" conforme usado na presente invenção refere-se aos oligossacarídeos/carboidratos que não são
 30 usados ou apenas parcialmente digeridos no intestino pela ação de ácidos ou enzimas digeríveis presentes no trato digestivo superior humano (intestino delgado e estômago) porém que são fermentadas pela flora intestinal

humana. Preferivelmente, o presente oligossacarídeo não digerido possui um grau de polimerização (DP) de 2 a 100, preferivelmente um DP de 2 a 50. Preferivelmente, o presente oligossacarídeo não digerível é uma fibra prebiótica. O termo "fibra prebiótica" refere-se às fibras não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro por estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade de um ou um número limitado de espécies bacterianas no cólon. Preferivelmente, o presente oligossacarídeo não digerível é solúvel. O termo "solúvel" conforme usado aqui, quando se referindo a um polissacarídeo, fibra ou oligossacarídeo, significa que a substância é pelo menos 50% solúvel de acordo com o método descrito por L. Prosky e outros, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71, 1017-1023 (1988).

Preferivelmente, a presente composição contém pelo menos um oligossacarídeo selecionado do grupo consistindo em galactooligossacarídeos, dextrinas não digeríveis, xilooligossacarídeos, arabinooligossacarídeos, glicooligossacarídeos, manooligossacarídeos, isomalto-oligossacarídeo e frutopolissacarídeo.

O termo "frutopolissacarídeo" conforme usado aqui refere-se a um carboidrato de polissacarídeo compreendendo uma cadeia de pelo menos 3 unidades de frutose ligadas em β , com um DP entre 3 e 300, preferivelmente entre 20 e 150. Preferivelmente é empregada a inulina. A inulina está disponível sob a marca registrada "Raftilin HP[®]", (Orafti). O DP médio do frutopolissacarídeo é preferivelmente de pelo menos 15, mais preferivelmente pelo menos de 20 ou mais, até 300. Na inulina, as unidades de frutose são ligadas com uma ligação de β (2 $\rightarrow$ 1).

As polidextrinas não digeríveis refere-se às (malto)dextrinas resistentes à digestão ou polidextrose resistente à digestão que possuem um DP de 10 a 50, preferivelmente entre 10 e 20. As polidextrinas não digeríveis compreendem ligações α (1 $\rightarrow$ 4), α (1 $\rightarrow$ 6) glicosídicas e ligações 1 $\rightarrow$ 2 e 1 $\rightarrow$ 3. Polidextrinas digeríveis são por exemplo disponíveis sob a marca registrada "Fibersol 2[®]" da Matsutami Industries or Litesse[®] de Danisco.

Os presentes inventores verificaram que os galactooligossacarídeos podem ser vantajosamente usados na presente composição, uma vez

que esses oligossacarídeos se mostraram especificamente eficazes na estimulação do crescimento da *Bifidobacteria*. Conseqüentemente, em uma concretização preferida, a presente composição contém galactooligossacarídeos. O termo "galactooligossacarídeo" conforme usado aqui refere-se a um

5 sacarídeo não digerível, onde pelo menos 30% das unidades de sacarídeo são unidades de galactose, preferivelmente pelo menos 50%, mais preferivelmente pelo menos 60%. Preferivelmente os sacarídeos do oligossacarídeo são ligados em β , como é o caso no leite materno humano.

Preferivelmente, a presente composição contém um galactooligossacarídeo selecionado do grupo consistindo em transgalactooligossacarídeos, lacto-N-tetraose (LNT) e lacto-N-neotetraose (neo-LNT). Em uma concretização especificamente preferida, o método da presente invenção compreende a administração do transgalactooligossacarídeo ([galactose]_n-glicose; onde n é um inteiro entre 1 e 60, isto é, 2, 3, 4, 5, 6, ... 59, 60; preferivelmente, n é selecionado de 2,3,4,5,6,7,8,9 ou 10). Os transgalactooligos-

10 sacarídeos (TOS) são vendidos, por exemplo, sob a marca registrada Vivinal® (Borculo Domo Ingredients, Países-Baixos). Preferivelmente os sacarídeos dos transgalactooligossacarídeos são ligados em β .

A presente composição contém, preferivelmente, 0,5 a 75 gramas dos oligossacarídeos solúveis não digeríveis por 100 gramas de peso seco, preferivelmente entre 0,5 e 50 gramas. A presente composição contém, preferivelmente, 0,1 a 95 gramas de galactooligossacarídeos por 100 gramas de peso seco, preferivelmente entre 0,1 e 50 gramas.

20

O presente método compreende, preferivelmente, a administração de uma porção contendo entre 0,05 e 25 gramas de oligossacarídeo não digerível, preferivelmente entre 0,1 e 5 gramas. O presente método compreende, preferivelmente, a administração de uma porção contendo entre 0,05 e 25 gramas de galactooligosascarídeos, preferivelmente entre 0,1 e 5 gramas de galactooligossacarídeos.

25

Os presentes inventores também verificaram que uma mistura de oligossacarídeos não digeríveis de cadeia longa e oligossacarídeos não digeríveis de cadeia curta estimula sinergisticamente o crescimento da flora

30

intestinal saudável, especificamente a *Bifidobacteria*. Conseqüentemente, a presente invenção contém pelo menos dois oligossacarídeos com graus médios diferentes de polimerização (DP). Preferivelmente as razões em peso:

5 a. (oligossacarídeos não digeríveis com DP de 2 a 5): (oligossacarídeos não digeríveis com DP 6, 7, 8 e/ou 9) > 1; e

b. (oligossacarídeos não digeríveis com DP de 10 a 60): (oligossacarídeos não digeríveis com DP 6, 7, 8 e/ou 9) > 1

Preferivelmente, ambas as razões em peso estão acima de 2, mesmo mais preferivelmente acima de 5.

10 Para aperfeiçoamento adicional, o oligossacarídeo preferivelmente possui um teor relativamente alto de oligossacarídeos de cadeia curta, uma vez que esses estimulam fortemente o crescimento da *Bifidobacteria*. Conseqüentemente, preferivelmente, pelo menos 10% em peso dos oligossacarídeos na presente composição possuem um DP de 2 a 5 (isto é, 2,
15 3, 4 e/ou 5) e pelo menos 5% em peso possuem um DP de 10 a 60. Preferivelmente pelo menos 50% em peso, mais preferivelmente pelo menos 75% em peso dos oligossacarídeos possuem um DP de 2 a 9 (isto é, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e/ou 9).

20 Para aperfeiçoar a biodiversidade e estimular o crescimento de múltiplos organismos intestinais, a presente composição compreende, preferivelmente, dois oligossacarídeos com uma estrutura diferente. A presente composição compreende pelo menos dois oligossacarídeos diferentes, onde os oligossacarídeos possuem uma homologia nas unidades de sacarídeo abaixo de cerca de 90%, preferivelmente abaixo de 50%, mesmo mais preferivelmente abaixo de 25%, mesmo mais preferivelmente abaixo de 5%. O
25 termo "homologia" conforme usado na presente invenção é o cumulativo da porcentagem da mesma unidade de sacarídeo nos diferentes oligossacarídeos. Por exemplo, o oligossacarídeo 1 (OL1) possui a estrutura fruc-fruc-glu-gal, e assim compreende 50%a fruc, 25% gal e 25% glu. O oligossacarídeo 2 (OL2) possui a estrutura fruc-fruc-glu, e assim compreende 66% fruc,
30 33% glu. Os oligossacarídeos diferentes assim possuem uma homologia de 75% (50% fruc + 25% glu).

Preferivelmente, a presente composição contém galactooligosacarídeos e frutopolissacarídeos.

Aplicação

5 A presente composição é preferivelmente aplicada enteralmente, mais preferivelmente oralmente. A presente composição é portanto preferivelmente um líquido. O termo "enteral" usado aqui também engloba uma administração retal ou anal.

Quando os bebês recebem fórmula de leite para bebês, a presente composição com os microorganismos e opcionalmente incluindo pelo
10 menos um oligossacarídeo não digerível, é preferivelmente incluída na fórmula nutricional. O probiótico e/ou prebiótico podem ser separadamente adicionados à fórmula para bebês. Quando os recém-nascidos recebem nutrição através de um tubo, os microorganismos podem ser apropriadamente incluídos na nutrição administrada através do tubo. A estimulação da diversidade
15 é de grande importância, assim, a presente invenção também provê uma composição nutricional compreendida entre 5 e 25% da proteína; entre 25 e 60% de gordura; entre 30 e 70% de carboidratos; e pelo menos duas espécies diferentes de *Bifidobacteria* e pelo menos uma espécie de *Lactobacillus*.

Quando os bebês recebem leite materno humano, a presente
20 composição pode ser apropriadamente misturada com leite materno humano. A presente invenção conseqüentemente também provê um método para fabricação de nutrição para bebês apropriada para bebês nascidos de parto por cesariana, compreendendo mistura: A) leite materno humano, e B) uma composição compreendendo: (i) pelo menos dois microorganismos diferen-
25 tes; ou (ii) pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou (iii) pelo menos duas espécies *Bifidobacteria*, subespécies ou cepas. As características preferidas da composição B) são conforme providas aqui.

Em uma concretização preferida adicional, a presente invenção
30 é administrada ao bebê em um volume muito pequeno, por exemplo, por "inoculação" do bebê. Preferivelmente, a presente composição é administrada ao bebê com uma seringa, pipeta ou tubo, preferível e diretamente após o

nascimento. Em uma concretização adicional preferida, a presente composição é administrada no reto ou ânus do bebê que nasce de parto por cesariana, preferivelmente na forma de um supositório, pílula ou comprimido. Conseqüentemente, a presente invenção também provê um supositório, pílula ou comprimido apropriado para administração retal a um bebê com a idade abaixo de um ano, onde o supositório, pílula ou comprimido contém microorganismos e/ou oligossacarídeos não digeríveis, preferivelmente a presente composição conforme descrita aqui anteriormente.

Em uma concretização adicionalmente preferida, a presente invenção provê um método de estimulação da flora intestinal de um bebê compreendendo administração retal à criança com a idade abaixo de 3 anos, de uma composição compreendendo microorganismo e/ou oligossacarídeo não digerível. Preferivelmente, o bebê possui idade abaixo de 1 ano, mais preferivelmente abaixo de 2 semanas. Preferivelmente, o bebê nasce de parto por cesariana. Preferivelmente essa composição para administração retal contém a composição descrita acima.

Esse procedimento tem a vantagem de não interferir com a prática de alimentação por leite materno e lembra muito a inoculação vaginal, que ocorre durante o nascimento. A presente invenção também provê um método para estimular a saúde de um bebê que nasce de parto por cesariana, compreendendo administração ao bebê e dentro de cem horas após o nascimento, preferivelmente entre 72 horas após o nascimento, mais preferivelmente dentro de 48 horas após o nascimento, de uma composição contendo microorganismos e/ou oligossacarídeos não digeríveis.

A composição é preferivelmente apropriada para administração diretamente após o nascimento. Conseqüentemente, em uma concretização adicionalmente preferida, a presente invenção provê um recipiente compreendendo uma composição líquida com um volume entre 0,5 e 50 mL, que contém a presente composição. O líquido com o presente microorganismo, combinado opcionalmente com oligossacarídeos não digeríveis, pode ser apropriadamente usado no presente método. Preferivelmente, o líquido possui um volume entre 0,5 e 25 mL. Esse volume é preferivelmente pequeno,

porque ele de outra forma interferiria com os comportamentos de apetite e de bebida do bebê.

De modo similar e englobado por essa invenção se encontra um recipiente com uma composição seca reconstituível contendo a presente invenção, onde o recipiente contém um volume entre 0,5 e 50 mL. Esse recipiente é preferivelmente acompanhado por instruções de como reconstituir o pó em um volume de líquido pequeno, por exemplo, água.

A presente invenção assim provê um método para estimular o desenvolvimento da flora intestinal saudável em um bebê compreendendo a etapa A: administração I) de um líquido específico, nutricional e farmacologicamente aceitável; e II) uma composição seca, onde a composição seca II compreende pelo menos dois microorganismos diferentes; ou pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou pelo menos duas espécies de *Bifidobacteria* diferentes, subespécies ou cepas; e etapa B) administração da composição obtida na etapa a) a um bebê que nasceu de parto por cesariana.

A presente composição é preferivelmente administrada a um bebê no primeiro ano de vida, preferivelmente entre duas semanas após o nascimento, mesmo mais preferivelmente dentro de uma semana após o nascimento, mais preferivelmente dentro de 48 horas após o nascimento.

Exemplos

Exemplo 1: Caracterização molecular dos micróbios intestinais em bebês que nasceram de parto normal versus parto por cesariana

No presente estudo, a influência do modo do nascimento (parto por cesariana versus parto normal) na composição microbiana intestinal no terceiro dia de vida por emprego de PCR-Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE) e PCR-Eletroforese em Gel de Gradiente de Temperatura (TGGE). Ambas as análises DGGE e TGGE foram utilizadas, em conjunto com ampliações específicas para dez espécies de *Bifidobacterium*.

Após o consentimento informado por escrito obtidos dos pais, vinte e três recém-nascidos após parto por cesariana e parto normal foram recrutados no estudo. As amostras fecais foram obtidas no terceiro dia de

vida. O DNA microbiano foi extraído e analisado de acordo com Favier e outros, *Environ Microbiol* 2002; 68:219-226 e Satokari e outros, *Appl Environ Microbiol* 2001; 67:504-513; Satokari e outros, *System Appl Microbiol* 2003; 26:572-584.

5 Os resultados da *Bifidobacteria* detectados nas amostras fecais de recém-nascidos após parto por cesariana obtidos no terceiro dia de vida são fornecidos na Tabela 1. A Tabela 2 fornece a *Bifidobacteria* detectada nas amostras fecais de recém-nascidos após parto normal no terceiro dia de vida.

10 Foi verificado que a flora microbiana de um bebê nascido de parto por cesariana mostra fortes diferenças em relação a um bebê nascido de parto normal. O reconhecimento dessas diferenças nos níveis de espécies permitiu aos presentes inventores projetar as presentes composições e métodos.

15 Esses resultados são indicativos do uso vantajoso da composição e método de acordo com a presente invenção, por exemplo, um método para alimentar bebês nascidos do parto por cesariana, estimulando a flora intestinal saudável e conseqüentemente prevenindo infecções e estimulando o sistema imune saudável.

Tabela 1: Cesariana

RECÉM-NASCIDOS	<i>B. breve</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. dentium</i>	<i>B. angulatum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B. lactis</i>	grupo <i>B. catenulatum</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. gallicum</i>
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) = sem ampliação; (+/-) = ampliação fraca; (+) = ampliação positiva; (++) = ampliação forte

Tabela 2: Parto Normal

RECÉM-NASCIDOS	<i>B. breve</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. dentium</i>	<i>B. angulatum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B. lactis</i>	grupo <i>B. ca-tenulatum</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. gallicum</i>
1a	-	+	-	-	-	-	-	-	++	-
2a	+/-	-	-	-	++	-	++	-	++	-
3a	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4a	+/-	-	-	-	-	-	++	+	+	-
5a	+/-	-	-	-	++	-	++	-	++	++
6a	-	-	-	-	+/-	-	++	-	++	-
7a	-	-	-	-	+/-	-	++	++	-	-
8a	++	++	-	-	-	-	+	++	-	-
9a	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-
10a	++	-	-	-	-	-	+	+	-	-
11a	++	-	-	-	++	-	++	-	++	-
12a	+	+	-	-	+	-	+	-	++	-
13a	+/-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
16a	-	-	-	-	-	-	++	-	+	-
17a	+/-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
18a	+/-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
19a	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
20a	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
21a	-	-	-	-	-	-	+	++	+	-
22a	-	+	-	-	-	-	++	-	+	-
23a	+	-	-	-	++	-	++	-	+	-

(-) = sem ampliação; (+/-) = ampliação fraca; (+) = ampliação positiva; (++) = ampliação forte

Exemplo 2: Fermentação *in vitro* de galacto-oligossacarídeo por fezes de bebês

Objetivo: a capacidade dos galactooligossacarídeos (GOS) e uma combinação de GOS e inulina de favorecer a atividade das bactérias do ácido láctico foi avaliada usando um sistema de fermentação em batelada semidinâmico, *in vitro*, empregando fezes de bebês. A quantidade de lactato foi determinada, uma vez que é o produto de fermentação das bactérias do ácido láctico incluindo a *Bifidobacteria*.

Método: fezes frescas foram obtidas de bebês alimentados com mamadeira saudáveis. O material de fezes fresco dos bebês variando de 1 a 4 meses de idade foi agrupado e colocado em um meio de preservação (peptona tamponada 20,00 g/L, L-Cisteína-HCl 0,5 g/L, Tioglicolato de sódio 0,5 g/L, comprimido de resazurina 1/1, pH 6,7) dentro de 1 hora e armazenados a 4°C por no máximo 2 horas antes do experimento de fermentação começar.

A solução preservada das fezes foi centrifugada a 13.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi removido e as fezes foram misturadas com meio McBain & MacFarlane (água peptona tamponada 3,0 g/L, 2,59 g/L extrato de levedura; 0,8 g/L de mucina (microviscosidades); 3,0 g/L de triptona; L-Cisteína-HCl 0,4 g/L, sais biliares 0,05 g/L, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 2,6 g/L, $NaHCO_3$ 0,2 g/L, NaCl 4,5 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g/L, $CaCl_2$ 0,228 g/L, $FeSO_4$ 0,005 g/L), que é representativo do ambiente intestinal, em uma razão de 1:5.

Em $t = 0$, 15 ml da suspensão fecal foram combinados com 500 mg de prebiótico em uma garrafa e misturados completamente. Como um controle nenhum prebiótico foi adicionado. Os prebióticos adicionados foram como se segue:

Meios: 1 2 3

GOS: 0 500 450

30 Inulina: 0 0 50

Como uma fonte de GOS, foi utilizado Vivinal GOS (Borculo Domo). Como uma fonte da inulina foi empregado RaftilinHP (Orafti).

15 mL foram transferidos para um tubo de diálise em uma garrafa de 250 mL enchida com 250 mL de meio tamponado ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 2,6 g/L, $NaHCO_3$ 0,2 g/L, $NaCl$ 4,5 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g/L, $CaCl_2$ 0,228 g/L, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,005 g/L, pH 6,3 (?)). A garrafa foi fechada e incubada a 37°C. As amostras de 1 mL foram retiradas do tubo de diálise e do tampão de diálise com uma seringa hipodérmica após três 3 horas e armazenadas a 18°C. Os experimentos foram realizados em duplicidade. O lactato foi determinado enzimaticamente usando kit de detecção de ácido L-lactato com D- e L-lactato-desidrogenase (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemanha).

Resultados e Conclusões: os resultados são expressos como quantidades de lactato formado por g de prebiótico adicionado. Os resultados mostram que a quantidade de lactato é aumentada quando uma microflora do bebê fermenta GOS ou uma mistura de GOS e inulina. Quando nenhum prebiótico é adicionado, a produção de lactato não é observada. Com GOS sozinho, 0,1801 mmol/g de lactato prebiótico é produzido. Quando uma combinação de GOS e inulina é adicionada, o lactato produzido é de 0,2119 mmol por grama de prebiótico.

Os resultados indicam que os oligossacarídeos estimulam o crescimento e/ou atividade da bactéria de ácido láctico nos bebês, incluindo *Bifidobacteria*. Esses resultados são indicativos do uso vantajoso dos oligossacarídeos não digeríveis, especificamente galactooligossacarídeos, na presente composição e o método de acordo com a presente invenção, isto é, em um método para alimentar bebês nascidos de parto por cesariana.

Exemplo 3: Método para alimentar bebês nascidos de parto por cesariana

Dentro de dois dias após o bebê nascer de parto por cesariana, uma composição nutricional é administrada contendo por 100 mL prontos para fórmula de alimentação: 1,6 g de proteína, 3,6 g de gordura, 6,4 g de carboidratos digeríveis (principalmente lactose), 0,8 g de carboidratos não digeríveis dos quais 0,60 g de transgalactooligossacarídeos, 0,07 g de inulina, 1×10^9 cfu de *Bifidobacterium breve*, 1×10^9 cfu de *Bifidobacterium catenulatum*, 1×10^9 cfu de *Bifidobacterium longum* e 1×10^9 cfu de *Lactobacillus paracasei*.

Exemplo 4: Composição embalada

- A composição embalada, onde a embalagem indica que o produto é especificamente apropriado para alimentação oral de bebês nascidos de parto por cesariana, a composição compreendendo *Bifidobacterium breve*,
5 *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, galactooligossacarídeos e inulina.

Exemplo 5: Composição embalada

- Composição de acordo com o Exemplo 4, onde a composição
10 possui um volume de 10 mL e é embalada em uma seringa.

Exemplo 6: Administração retal

P11 apropriado para administração retal a um bebê dentro de duas semanas do nascimento, compreendendo galactooligossacarídeos e *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de:

a) pelo menos dois microorganismos diferentes; ou

5 b) pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou

c) pelo menos duas espécies diferentes de *Bifidobacteria*, sub-espécies ou cepas para fabricação de uma composição para administração enteral a um bebê nascido de parto por cesariana.

10 2. Uso de acordo com a reivindicação 1, em que a composição contém pelo menos uma espécie da *Bifidobacteria*.

3. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a composição compreende pelo menos uma *Bifidobacterium* selecionada do grupo consistindo em *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* e *Bifidobacterium longum*.

20 4. Uso de acordo com a reivindicação 3, em que a composição compreende pelo menos duas espécies de *Bifidobacterium* selecionadas do grupo conforme mencionado na reivindicação 3.

5. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, onde a composição compreende pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível.

25 6. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a composição compreende um oligossacarídeo não digerível, selecionado do grupo consistindo em galactooligossacarídeos, dextrinas não digeríveis, xilooligossacarídeos, arabinooligossacarídeos, glicoligossacarídeos, manooligossacarídeos, isomalto-oligossacarídeo e frutopolissacarídeo.

30 7. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a composição compreende entre 5 e 25% de proteína, entre 25 e 60% de gordura e entre 30 e 70% de carboidrato.

8. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a composição é administrada a um bebê que recebe leite materno humano.

5 9. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a composição é administrada a um bebê dentro de uma semana após o nascimento.

10 10. Composição nutricional ou farmacêutica compreendendo, pelo menos, quatro espécies de *Bifidobacteria*, subespécies e/ou cepas selecionadas do grupo consistindo em *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium thermacidophilum* e *Bifidobacterium longum*.

15 11. Composição nutricional compreendendo entre 5 e 25% de proteína; entre 25 e 60% de gordura; entre 30 e 70% de carboidrato; pelo menos duas espécies diferentes de *Bifidobacteria* e pelo menos uma espécie de *Lactobacillus*.

12. Método para fabricação de uma nutrição para bebês apropriada para bebês nascidos de parto por cesariana, compreendendo mistura de:

20 a. leite materno humano; e

b. uma composição compreendendo:

i. pelo menos dois microorganismos diferentes; ou

ii. pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou

25 iii. pelo menos duas espécies diferentes de *Bifidobacteria*, subespécies ou cepas.

13. Recipiente com um volume líquido entre 0,5 e 50 mL contendo uma composição a ser administrada a um bebê compreendendo, pelo menos, dois microorganismos diferentes; ou pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou pelo menos duas espécies de *Bifidobacteria* diferentes, subespécies ou cepas.

14. Método para estimulação do desenvolvimento de uma flora

intestinal saudável em um bebê nascido de parto por cesariana compreendendo as etapas de:

- 5 a) mistura de I) um líquido nutricional ou farmacêuticamente aceitável; e II) uma composição seca, em que a composição seca II compreende pelo menos dois microorganismos diferentes; ou pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossacarídeo não digerível; ou pelo menos duas espécies de *Bifidobacteria*, subespécies ou cepas.

b) administração da composição obtida na etapa a) ao bebê.

- 10 15. Método para estimular a flora intestinal de um bebê nascido de parto por cesariana compreendendo a administração ao bebê e dentro de 100 horas após o nascimento, de uma composição contendo microorganismos e/ou oligossacarídeos não digeríveis.

- 15 16. Método para estimular a flora intestinal de um bebê compreendendo administração retal à criança com idade abaixo de 3 anos, de uma composição compreendendo microorganismos e/ou oligossacarídeos não digeríveis.

Pt 0617507-4

RESUMO

Patente de Invenção: "MÉTODO PARA ESTIMULAÇÃO DA FLORA INTES-
TINAL".

5 A presente invenção refere-se aos métodos para alimentação e
as composições a serem administradas aos bebês que nascem de parto por
cesariana e especificamente ao uso de a) pelo menos dois microorganismos
diferentes; ou b) pelo menos um microorganismo e pelo menos um oligossa-
carídeo não digerível; ou c) pelo menos duas espécies diferentes de *Bifido-*
10 *bacteria*, subespécies ou cepas para a fabricação de uma composição para
administração enteral a um bebê nascido de parto por cesariana. Pelo que, é
possível estimular o desenvolvimento saudável da flora intestinal dos bebês.