



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 320 988**

51 Int. Cl.:

**A61K 35/74** (2006.01)

**A23L 1/03** (2006.01)

**A23L 1/308** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03760972 .4**

96 Fecha de presentación : **20.06.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1513541**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.03.2005**

54 Título: **Método para prevenir o aliviar los síntomas de malabsorción a través del tracto gastrointestinal.**

30 Prioridad: **20.06.2002 EP 02077460**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.06.2009**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.06.2009**

73 Titular/es: **N.V. Nutricia  
Postbus 1  
2700 MA Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es: **Speelmans, Gelske;  
Knol, Jan y  
Govers, Maria, Johanna, Adriana, Petronella**

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Método para prevenir o aliviar los síntomas de malabsorción a través del tracto gastrointestinal.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método para prevenir o aliviar los síntomas de mala absorción. El presente método comprende la administración entérica a un mamífero monogástrico de una composición que aumenta la digestión de nutrientes en el tracto gastrointestinal y es particularmente adecuado para tratar a pacientes que sufren de fibrosis quística, insuficiencia pancreática, enfermedad celíaca, alergia a las proteínas de la leche de vaca, el síndrome del intestino corto, o crecimiento excesivo del intestino delgado.

**Antecedentes de la invención**

Una función principal del tracto gastrointestinal es el procesamiento y absorción de alimentos. El estómago, que es tanto un órgano de almacenamiento como digestivo, trabaja para optimizar las condiciones para la digestión y absorción de alimentos en el intestino delgado. Siguiendo al estómago y antes del intestino grueso (colon) está el intestino delgado que comprende tres regiones: duodeno, yeyuno, e íleon. Una función principal del intestino delgado es la absorción de los nutrientes digeridos.

El paso de alimentos a través del tracto gastrointestinal, que conduce a la digestión y absorción de los nutrientes contenidos dentro, es controlado por un sistema complejo de mecanismos de motilidad inhibitoria y estimuladora que son puestos en movimiento por la composición de la comida ingerida. Los receptores específicos para grasas, y proteínas, y la osmolalidad, acidez y tamaño de las partículas de la comida activan las reacciones propulsoras e inhibitorias que modulan el tránsito y por tanto la absorción.

La interrupción de los procesos digestivos y de absorción normales se manifiestan frecuentemente como una variedad de síntomas, tales como, por ejemplo, mala absorción, pérdida de peso, diarrea, deficiencia vitamínica, desequilibrio de electrolitos, y similares. Los síndromes de mala absorción son entidades clínicas asociadas a la absorción defectuosa de aminoácidos, azúcar, grasa, vitaminas y minerales. La mala absorción es así el común denominador de una gran variedad de trastornos clínicos cuya gravedad cubre una gama amplia y que, cuando son diagnosticados, requieren un análisis individual de cada paciente con respecto a los antecedentes del proceso normal de absorción. Los pacientes con síndrome de mala absorción tienen dificultad para satisfacer las necesidades nutricionales diarias. En pacientes con síndrome de mala absorción hay generalmente tanto consecuencias catabólicas como serias consecuencias nutricionales.

La eficiencia con la que son absorbidos los nutrientes (y por tanto utilizados) por el cuerpo humano y animal depende entre otras cosas de la eficiencia digestiva. La digestión es mediada entre otras cosas por varias enzimas que tienen funciones específicas en varios lugares del tracto digestivo. El deterioro de la digestión, por ej. como resultado de la actividad enzimática disminuida, es una de las primeras causas de mala absorción.

En todo el proceso de digestión, que comienza en la boca, el páncreas tiene un papel importante. Segrega un jugo que tiene dos componentes principales, un fluido alcalino y enzimas, en el duodeno. Los dos componentes ocurren en proporciones variables dependiendo de los estímulos. El componente de fluido alcalino, que varía en volumen de 200-800 ml/día, tiene una concentración elevada de bicarbonato, que neutraliza el contenido gástrico que entra en el duodeno y ayuda a regular el pH del tracto intestinal.

Las enzimas del jugo pancreático son sintetizadas y segregadas por las células acinares que también segregan un fluido similar en composición electrolítica a un ultrafiltrado de plasma. En alimentadores intermitentes tales como el hombre, el perro y el gato, el volumen del fluido segregado por las células acinares es muy pequeño y ello tiene efecto pequeño sobre el volumen y la composición del jugo pancreático que fluye en el conducto pancreático principal.

El jugo pancreático contiene cuatro grupos enzimáticos principales: lipolítico, proteolítico, amilolítico y enzimas de separación de ácido nucleico. Estas enzimas pancreáticas, algunas de las cuales son segregadas en múltiples formas, poseen especificidades complementarias a las enzimas unidas a la membrana intestinal. El jugo pancreático fresco sin contaminar no tiene actividad proteolítica porque estas enzimas tienen forma de zimógenos inactivos. Una fracción importante del calcio en el jugo pancreático acompaña las enzimas, especialmente la alfa amilasa.

Los pacientes que padecen de mala absorción como resultado de la actividad enzimática intestinal disminuida (por ej. como resultado de insuficiencia pancreática), son comúnmente tratados suministrando oralmente una o más enzimas digestivas (terapia de sustitución pancreática exocrina). Un objetivo importante de la terapia de sustitución pancreática exocrina es eliminar la mala absorción y mantener una nutrición adecuada. No obstante, es conocido que en muchos pacientes que padecen de insuficiencia pancreática, la terapia de sustitución pancreática exocrina no restaurará la eficacia digestiva a los niveles normales. Como resultado, muchos pacientes que usan terapia de sustitución pancreática exocrina siguen padeciendo de síntomas de mala absorción.

La mala absorción como resultado de una digestión deficiente puede también tener lugar en sujetos que no padezcan de insuficiencia pancreática, por ej. en pacientes que sufren del síndrome de intestino corto. En pacientes que sufren del síndrome de intestino corto el paso de nutrientes a través del intestino delgado ocurre en intervalos de tiempo tan pequeños que los nutrientes solo son digeridos parcialmente antes de entrar en el colon. La terapia de sustitución pancreática exocrina no es eficaz en pacientes de este tipo y los métodos alternativos de tratamiento generalmente son inadecuados para mejorar los procesos digestivos en estos pacientes.

Así, a pesar de la gran cantidad de investigación que ha sido emprendida para dilucidar el papel de la nutrición y absorción en trastornos gastrointestinales, actualmente existen pocos métodos que ofrezcan solaz adecuado para pacientes que sufran de estos trastornos, en particular pacientes que sufran de mala absorción como resultado de una digestión intestinal deficiente. Así, existe una demanda de métodos y composiciones nutricionales nuevas que puedan ser empleadas eficazmente para mejorar la digestión y absorción posterior de los nutrientes ingeridos.

### Resumen de la invención

Los inventores han descubierto que los síntomas de mala absorción en mamíferos monogástricos que sea provocada por una mala digestión intestinal pueden ser aliviados o prevenidos eficazmente administrando entéricamente una cantidad eficaz de un prebiótico que estimule la actividad gastrointestinal de *Propionibacteria*.

La *Propionibacteria* se encuentra en el abdomen e intestino de rumiantes (bovinos, ovejas), donde juega un papel en la formación de ácidos grasos, particularmente ácidos propiónicos y acéticos. La *Propionibacteria* es responsable de la conversión de lactato, que surge de varias fermentaciones en el abdomen, a predominantemente propionato. Bajo condiciones anaeróbicas, los elementos del género *Propionibacterium* fermentan glucosa, sacarosa, lactosa y pentosas, al igual que lactato, malato, glicerol y otros sustratos a ácido propiónico. El catabolismo de las hexosas se procesa por medio de la vía de fructosa-bisfosfato.

Aunque los inventores no desean ser limitados por la teoría, se cree que en el medio intestinal anaeróbico, la *Propionibacteria* es capaz de fermentar nutrientes, que el mamífero es incapaz de digerir (enzimáticamente) y/o absorber, a ácido propiónico (o propionato). El ácido propiónico es fácilmente absorbido en el intestino, después de lo cual puede ser usado como una fuente de energía. Así, la administración entérica de *Propionibacteria* permite que el mamífero recupere una fracción más grande de su ingesta de energía total en forma de alimentos ingeridos. De forma similar, dado que la *Propionibacteria* ocurre de forma natural en la microflora intestinal, la administración entérica de un prebiótico que mejore la actividad intestinal de la *Propionibacteria* puede ser usada para conseguir el mismo efecto. Dado que la digestión y absorción de varios nutrientes están fuertemente interrelacionados, se piensa también que la administración entérica de *Propionibacteria* y/o el prebiótico mejora la capacidad de los mamíferos de satisfacer su necesidades de determinados nutrientes esenciales.

Otros microorganismos, tales como aquellos pertenecientes al género *Lactobacillus* y *Enterococcus*, son conocidos también por tener la capacidad de fermentar los nutrientes a ácidos grasos de cadena corta en el tracto intestinal. No obstante, los inventores han descubierto que la *Propionibacteria* ofrece varias ventajas importantes sobre estos otros microorganismos.

Se descubrió que a diferencia de microorganismos tales como *Lactobacillus* y *Enterococcus* y *Bifidobacterium* que también son capaces de fermentar nutrientes a ácidos grasos de cadena corta, la *Propionibacteria* fermenta nutrientes a ácido propiónico sin producir simultáneamente cantidades sustanciales de metano. Mientras que la *Propionibacteria* sólo produce ácido propiónico, todos los otros microorganismos de uso alimentario producen lactato y/o acetato que son fácilmente convertidos en metano. Esto significa que en comparación con estos otros microorganismos la *Propionibacteria* dará lugar a significativamente menor flatulencia e hinchazón. Además, es importante destacar que la producción fermentativa de metano está asociada a menos rendimiento de energía para el mamífero, lo que significa que la *Propionibacteria* es capaz de suministrar más fuentes de energía al mamífero del mismo sustrato que otros microorganismos.

Así, el presente método de administración entérica a mamíferos monogástricos de un prebiótico que estimule la actividad gastrointestinal de la *Propionibacteria* es un método muy eficaz para tratar o prevenir los síntomas de mala absorción provocados por la mala digestión intestinal puesto que el método es particularmente eficaz en aumentar la recuperación de energía a partir de nutrientes ingeridos y no tiene efectos secundarios desagradables tales como flatulencia e hinchazón.

El presente método es generalmente beneficioso para mamíferos monogástricos que estén desnutridos, o con riesgo de desnutrirse como resultado de la mala absorción. Es de importancia crucial para los mamíferos de este tipo recuperar tanta energía como sea posible a partir de los nutrientes ingeridos. La presente invención permite recuperar más energía de los nutrientes ingeridos, lo que es ventajoso para cualquier mamífero que sufra de mala absorción como resultado de una digestión enzimática o fermentativa intestinal deficiente, aunque este tipo de mala absorción no sea provocada por una mala digestión.

**Descripción detallada de la invención**

Consecuentemente, un aspecto de la invención se refiere a un método de prevención o alivio de los síntomas de mala absorción en un mamífero monogástrico cuya mala absorción sea provocada por una digestión intestinal fermentativa deficiente, dicho método comprendiendo la administración entérica a dicho mamífero de una cantidad eficaz de un prebiótico que estimule la actividad gastrointestinal de la *Propionibacteria*, y opcionalmente una o más cepas del género *Propionibacterium*.

El término “mamífero monogástrico” comprende todos los mamíferos que no pertenezcan al grupo de mamíferos poligástricos. Representantes importantes del grupo de mamíferos poligástricos son los rumiantes, tales como bovinos. Ejemplos típicos de mamíferos monogástricos incluyen seres humanos, cerdos, perros y gatos.

El término “administración entérica” incluye la administración oral y rectal. El término “administración oral” también comprende la alimentación tubular. Preferiblemente, el presente método emplea la administración oral.

El término “mala absorción” se refiere a una condición de absorción intestinal deficitaria de aminoácidos, péptidos, azúcar, grasa, vitaminas y/o minerales. Preferiblemente, la mala absorción es definida más detalladamente como absorción intestinal deficitaria de péptidos aminoácidos, productos de degradación de carbohidratos y/o productos de degradación de grasas.

La eficacia del presente método depende de la cantidad de células de *Propionibacteria* y/o prebiótico administrada al igual que del estado de las células de *Propionibacteria*. En una forma de realización particularmente preferida, las células metabólicamente activas de *Propionibacteria* son administradas en una cantidad diaria de al menos  $10^6$  células. Más células metabólicamente activas son administradas en una cantidad diaria de al menos  $10^8$  células, de la forma más preferible al menos  $10^9$  células. Aquí el término “cantidad diaria” se refiere al promedio de cantidad diaria. El término “metabólicamente activo” se refiere a la capacidad de las células de convertir los nutrientes ingeridos en ácido propiónico.

En general, el prebiótico será administrado en una cantidad diaria de al menos 0,5 g, preferiblemente en una cantidad diaria de al menos 1 g, de la forma más preferible de al menos 5 g. La cantidad diaria administrada de prebiótico normalmente no excederá de 50 g. Preferiblemente dicha cantidad no excederá de 30 g.

En una forma de realización muy preferida de la invención, el presente método comprende la coadministración de *Propionibacterias* y prebióticos. Esta forma de realización particular no sólo ofrece la ventaja de que introduce una o más cepas metabólicamente activas de la *Propionibacteria* en el intestino sino que, además, estimula la actividad metabólica e incluso la proliferación de estas cepas a costa de otros microorganismos menos deseables presentes en la microflora intestinal.

Los inventores han descubierto que el impacto del presente método en la proporción de propionato respecto a acetato encontrado en las heces del mamífero es un indicador fiable de la eficacia del presente método. Las proporciones elevadas de propionato respecto a acetato corresponden generalmente a una alta recuperación de energía y pequeña producción de metano, puesto que una proporción tan elevada es indicativa de una alta actividad intestinal de la *Propionibacteria*, en relación a la actividad intestinal de otros microorganismos. La proporción en la que el propionato y acetato tiene lugar en las heces puede ser influida eficazmente por la administración de un prebiótico adecuado, es decir, un sustrato para *Propionibacteria*. Los términos “propionato” y “acetato” como se usan en este documento comprenden tanto las formas de ácido libre como las sales de estas sustancias.

Para establecer si un componente puede o no ser usado idóneamente como un prebiótico en el presente método puede aplicarse una prueba *in vitro* relativamente simple. Este método se describe con detalle en el apéndice I.

En una forma de realización particularmente preferida, el prebiótico usado según la invención proporciona una proporción de propionato respecto a acetato que es al menos 25% superior a la observada respecto a un control de glucosa en la prueba de incubación *in vitro* mencionada arriba. Más preferiblemente dicha proporción es al menos 50% más elevada y de la forma más preferible al menos 75% superior a la misma proporción observada para el control de glucosa.

En el presente método la frecuencia de administración puede variar de manera adecuada desde 4 veces al día hasta una vez a la semana. Preferiblemente la frecuencia está entre 3 veces al día y una vez cada 3 días. De la forma más preferible la frecuencia de administración es una o dos veces al día. El presente método es particularmente eficaz cuando comprende la administración ininterrumpida de *Propionibacteria* y/o el prebiótico durante un periodo de al menos 1 semana, más preferiblemente de al menos 3 semanas.

Los prebióticos que pueden ser empleados ventajosamente en el presente método, por ser fuentes buenas de propionato, son inulina; inulina modificada; inulina hidrolizada; fructo-oligosacáridos; galactomanano (por ej. goma guar) y sus hidrolizados; arabinogalactano (por ej. goma acacia) y sus hidrolizados; trans-galacto-oligosacáridos; ramnosa; pectina e hidrolizados de pectina; almidón resistente e hidrolizados del mismo; dextrina indigerible e hidrolizados de la misma; polidextrosa indigerible; beta-glucano e hidrolizados del mismo; y combinaciones de estos oligo y polisacáridos. Preferiblemente, el prebiótico es seleccionado del grupo que consiste en inulina; inulina modificada; inulina

hidrolizada; fructo-oligosacáridos; arabinogalactano y sus hidrolizados ; almidón resistente; dextrina indigerible; poli-dextrosa indigerible; y sus combinaciones. Más preferiblemente, el prebiótico es seleccionado del grupo que consiste en inulina; inulina modificada; inulina hidrolizada; fructo-oligosacáridos; arabinogalactano e hidrolizados del mismo; almidón resistente; dextrina indigerible y combinaciones de la misma. De la forma más preferible, el prebiótico es seleccionado del grupo que consiste en inulina, arabinogalactano, almidón resistente, dextrina indigerible y sus combinaciones.

Estudios de selección llevados a cabo por el solicitante usando el método descrito en el Apéndice 1 mostraron que los siguientes carbohidratos son prebióticos particularmente adecuados:

| Prebiótico                         | Proporción de propionato/acetato respecto al control de glucosa (después de 48 horas) |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Almidón resistente (Novelose™ 330) | 4,77                                                                                  |
| Dextrina indigerible (Fibersol™)   | 3,46                                                                                  |
| Arabinogalactano (acacia)          | 2,02                                                                                  |
| Inulina (Raftline™)                | 2,02                                                                                  |

Por motivos nutricionales el almidón puede ser clasificado en tres categorías: rápidamente digerible, lentamente digerible y almidón resistente. Los almidones resistentes pasan por el intestino delgado sin ser digeridos o absorbidos. Posteriormente, en el intestino grueso, el almidón resistente puede ser descompuesto por fermentación en ácidos grasos de cadena corta, dióxido de carbono, hidrógeno y metano. Hay cuatro tipos de almidones resistentes:

1. almidones físicamente inaccesibles que están encerrados dentro de membranas celulares tales como aquellos encontrados en granos parcialmente molidos, semillas y legumbres
2. gránulos de almidón nativos resistentes tales como aquellos encontrados normalmente en plátanos, patatas crudas y almidón de maíz de amilasa alta
3. almidón cristalino no granulado degradado, tal como almidón como el que se encuentra en patatas, cortezas de pan, copos de maíz cocinados y enfriados y almidón de maíz muy degradado con amilasa
4. almidón específico químicamente modificado o repolimerizado tal como dextrinas alteradas ligadas en cadena (véase el artículo de M. Croghan en Functional Foods & Nutraceuticals; Septiembre/Octubre 2001)

En otra forma de realización preferida de la invención la *Propionibacteria* es administrada en forma de células viables, es decir, células que son capaces de replicación. El presente método comprende ventajosamente la administración entérica de una o más cepas viables del género *Propionibacterium* en una cantidad diaria de al menos  $10^6$  CFU, preferiblemente de al menos  $10^8$  CFU, de la forma más preferible al menos  $10^9$  CFU.

Ejemplos de especies de *Propionibacterium* que pueden ser empleados de manera adecuada en el presente método incluyen *P. freudenreichii*, *spp freudenreichii* o *spp shermanii*; *P. jensei*; *P. acidipropionici* y *P. microaerophilus*.

El presente método comprende ventajosamente la coadministración entérica de una o más cepas homofermentativas metabólicamente activas del género *Lactococcus* o *Lactobacillus*, preferiblemente en una cantidad diaria de al menos  $10^6$  células. Las cepas homofermentativas del género *Lactococcus* o *Lactobacillus* pueden tener una fermentación anaeróbica de nutrientes hacia ácido láctico y, a diferencia de cepas heterofermentativas, no producen prácticamente nada de dióxido de carbono. La coadministración del género *Lactococcus* y/o *Lactobacillus* ofrece la ventaja de que se pueden conseguir índices de recuperación de energía incluso más elevados, puesto que las últimas cepas son particularmente eficaces en fermentar determinados nutrientes tales como la lactosa. Los productos de fermentación de *Lactococcus* y/o *Lactobacillus*, especialmente lactato, pueden de manera adecuada servir como sustrato para cepa(s) de *Propionibacterium*.

Las cepas del género *Lactobacillus* son preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *L. casei*, *L. plantarum*, *L. sake*, *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. johnsonii*, *L. gasseri*, *L. delbrueckii*, *L. jensenii*, *L. curvatus*, *L. helveticus*, *L. amnophilus*, *L. amylovorus* y *L. rhamnosus*.

Otro género de microorganismos que puede ser coadministrado ventajosamente con la *Propionibacteria* es la *Bifidobacteria*. La *Bifidobacteria* es altamente eficaz en degradar (hidrolizar) carbohidratos complejos que pueden posteriormente ser fermentados por la *Propionibacteria* y/o el *Lactococcus/Lactobacillus*. Consecuentemente, en una forma de realización preferida, el presente método comprende la coadministración entérica de una o más cepas metabólicamente activas del género de *Bifidobacterium*, preferiblemente en una cantidad diaria de al menos  $10^6$  células, más preferiblemente en una cantidad diaria de al menos  $10^8$  células.

El presente método puede ser usado de manera adecuada para tratar a pacientes que sufren de varias formas de mala absorción. El método es particularmente eficaz para tratar a pacientes que padecen de mala absorción provocada por una digestión enzimática o digestión fermentativa intestinal deficiente. Los mejores resultados son obtenidos en pacientes que sufren de alguna forma de insuficiencia pancreática o síndrome de intestino corto.

La administración entérica de *Propionibacteria* puede proporcionar un remedio para la absorción intestinal deficiente de aminoácidos, péptidos, azúcares, grasa, vitaminas y/o minerales. El presente método es particularmente eficaz para tratar a mamíferos que sufren de mala absorción de lípidos y/o carbohidratos. Un beneficio crucial del presente método es que aumenta la energía que el mamífero tratado puede obtener de los nutrientes ingeridos, especialmente el material de carbohidrato ingerido.

Los síntomas de mala absorción tratados por el presente método pueden estar asociados a una variedad de trastornos. El presente método es muy adecuado para tratar pacientes que padezcan de mala absorción asociada a un trastorno seleccionado del grupo que consiste en fibrosis quística, insuficiencia pancreática, pancreatitis, enfermedades acompañadas por atrofia vellosa (por ej. provocada por enfermedad celíaca, alergia a proteínas de la leche de vaca, enfermedad de la cadena  $\alpha$ , y enfermedades inflamatorias o infecciosas), síndrome del intestino corto, mala absorción de mono- y disacáridos, y crecimiento excesivo (bacteriano) del intestino delgado. El método según la invención es particularmente adecuado para tratar o prevenir los síntomas de mala absorción en pacientes que sufren de un trastorno seleccionado del grupo que consiste en fibrosis quística, insuficiencia pancreática, pancreatitis o síndrome del intestino corto.

La fibrosis quística es una enfermedad hereditaria de las glándulas exocrinas y glándulas exocrinas sudoríparas, que principalmente afecta a los sistemas digestivo y respiratorio. Esta enfermedad está normalmente caracterizada por infecciones respiratorias crónicas, insuficiencia pancreática, secreciones de mucosa anormalmente viscosas y muerte prematura. Los efectos clínicos principales de la fibrosis quística son observados por la evidencia de complicación del tracto respiratorio y la insuficiencia pancreática caracterizada por el fracaso para engordar a pesar de un apetito excelente, heces frecuentemente encefadas y pruebas anormales de la función pancreática.

El síndrome de intestino corto se refiere generalmente a una condición donde menos de 150 cm del intestino delgado restante está asociado a una pérdida masiva de la capacidad de absorción. Está caracterizado por diarrea severa y mala absorción. Los pacientes con síndrome de intestino corto experimentan a menudo mala absorción de proteínas, carbohidratos y grasas que da como resultado depleción calórica y esteatorrea.

El objetivo terapéutico más importante en el control del síndrome de intestino corto es mantener el estado nutricional del paciente. Por necesidad se consigue principalmente por asistencia de nutrición parentérica en el periodo temprano postoperatorio. La asistencia de nutrición entérica puede comenzar poco después de la operación cuando el íleo se ha eliminado. La maximización de la absorción entérica de nutrientes es importante para la supervivencia a largo plazo. Generalmente, dicha maximización requiere que la ingesta entérica exceda en gran parte las necesidades de absorción necesarias para asegurar que se satisfagan las necesidades nutricionales.

El método según la invención puede comprender el uso de un suplemento dietético que comprenda al menos  $10^6$  células metabólicamente activas del género *Propionibacterium*, al menos 0,5 g de un prebiótico que produzca una proporción de propionato respecto a acetato que sea al menos 25% superior a la observada para un control de glucosa en una prueba de incubación *in vitro* tal y como se define en el Apéndice I, y un soporte nutricionalmente aceptable. El suplemento dietético puede contener al menos de manera adecuada 0,5 g de un prebiótico como se ha descrito antes. Preferiblemente la cantidad de prebiótico contenido en el suplemento es al menos 1 g, más preferiblemente 5 g. Normalmente la cantidad de prebiótico en una dosis unitaria diaria del suplemento no excederá de 50 g, preferiblemente no excederá de 30 g.

Como se ha explicado anteriormente, la combinación de cepas de *Propionibacterium* con *Lactobacillus* y/o de *Bifidobacterium* ofrece la ventaja de que permite índices de recuperación de energía altísimos. Se pueden conseguir índices de recuperación de energía particularmente elevados incluyendo células metabólicamente activas de tanto *Lactobacillus* como *Bifidobacterium*. Consecuentemente, en una forma de realización preferida, el suplemento contiene adicionalmente al menos  $10^6$  células metabólicamente activas del género *Bifidobacterium* y al menos  $10^6$  células metabólicamente activas del género *Lactobacillus*.

Para conseguir buenos resultados en un plazo breve, es preferido incorporar al menos  $10^8$  células metabólicamente activas de *Propionibacterium* y al menos  $10^8$  células metabólicamente activas de *Lactobacillus* y/o al menos  $10^8$  células metabólicamente activas de *Bifidobacterium*.

La invención es ilustrada mediante los siguientes ejemplos.

#### Ejemplo 1

Un producto en polvo, envasado en un sobre que contiene 85 g, para componer con leche entera. Para niños de 1-5 años se prepara medio sobre con 240 ml de leche. Para niños de 5-10 años se prepara 1 sobre con 240 ml de leche. Raciones: 1 al día. Para niños de 10 años en adelante se recomiendan 1-2 raciones al día.

## ES 2 320 988 T3

Se pueden usar diferentes sabores, por ejemplo, vainilla, fresa, naranja, limón, moca o chocolate. (Lo mismo ocurre para la mayoría de los otros ejemplos)

Por sobre la composición es la siguiente:

- 5           - Energía: 1831 kJ
- Proteína: 4 g
- 10          - Carbohidrato 55 g, de los que 20,1 g son azúcares
- 21 g de grasa de los que 9 g de grasa saturada
- Sodio 119 mg
- 15          - Potasio 485 mg
- Calcio 111 mg
- 20          - Fósforo 340 mg
- Magnesio 12 mg
- *Propionibacterium freudenreichii* spp *freudenreichii*: 10<sup>9</sup> células
- 25          - *Lactobacillus rhamnosus*: 10<sup>9</sup> células
- Almidón resistente o inulina: 1 g
- 30          - Humedad

### Ejemplo 2

35          Un polvo que puede ser fácilmente incorporado en una fórmula de leche para lactantes, alimentos húmedos o un líquido espolvoreándolo en la cantidad recomendada, y agitación posterior. Se recomienda preparar antes una pasta con una cantidad pequeña de líquido/agua antes de la adición para asegurar una mezcla profunda. La dosis varía de 1 g a 10 g/100 ml líquido y debería ser aumentada gradualmente.

40          El polvo es envasado en botes de hoja de aluminio.

La composición por 100 g de polvo es la siguiente:

- 45           - Energía 2000 kJ
- Proteína 0 g
- Carbohidrato 69,1 g; azúcares 6,2 g y oligosacáridos 5 g (TOS + proporción de inulina 9/1 p/p)
- 50          - Grasa 21,2 g de la cual saturada 13,8 g, monoinsaturada 2,6 g, y poliinsaturada 4,8 g
- La grasa contiene 35% de triglicéridos de cadena media
- Minerales 20 mg Na, 5 mg K, 20 mg Cl, 5 mg y 5 mg P
- 55          - *Propionibacterium acidpropioni*: 10<sup>9</sup> células
- *Lactobacillus rhamnosus*: 10<sup>9</sup> células
- 60          - *Bifidobacterium bifidum*: 10<sup>9</sup> células

### Ejemplo 3

65          Polvo, envasado en botes o sobres, usado para enriquecer bebidas y alimentos. También se puede usar en alimentación por tubo o mediante sorbos. Puede mezclarse con agua para formar un líquido muy energético con un gusto insípido. Se prepara una pasta con el polvo y una cantidad pequeña de agua y se añade el agua restante dinámicamente con un tenedor. Una vez preparado, se deposita en el frigorífico 12 h.

## ES 2 320 988 T3

Para ser introducido en la dieta gradualmente: 1 a 10 gr por 100 ml de bebida o alimentos. Composición por 100 g:

- Energía 1940 kJ
- Carbohidratos 70 g de los que 4,8 g de azúcar
- Grasas: 22 g de las que 17,8 g son saturadas, 0,7 g son monoinsaturadas y 2,5 g son poliinsaturadas
- La grasa está presente en forma de 83% MCT y 17% LCT
- 30 mg Na, 3,7 mgK, 50 mg Cl
- *Propionibaeterium freudenreichii spp shermanii*:  $10^7$  células
- *Lactobacillus casei*:  $5,10^9$  células
- Inulina 5 g

### Ejemplo 4

Barra gruesa en forma de refrigerio lista para comer de sabor natural o de fresa. Composición por 100 g

- Energía 2477 kJ
- Proteína menos de 0,05 g
- Carbohidrato: 47,36 g (azúcar)
- 47,36 g de grasa de la que 28,9 g es saturada , 16,3 g monoinsaturada, 2,2 g poliinsaturada
- *Propionibacterium freudenreichii spp freudenreichii*:  $2,10^7$  células
- Goma guar: 8 g

### Ejemplo 5

Polvo en bote. Dosis 50 g/día para niños, 100 g/día para adultos. 5 g por cuchara. Espolvorear la mezcla en alimentos húmedos o líquidos.

Composición por 100 g:

- Energía 1615 kJ
- 95 g de carbohidratos de los que 1,9 g de glucosa, 4,3 g de maltosa y 88,8 g de polisacárido incluyendo 10 g de inulina
- *Propionibacterium acidipropioni*:  $10^9$  células
- *Lactobacillus acidofilus*:  $10^9$  células

### Ejemplo 6

Suplemento: polvo en una cápsula de gelatina, pastilla o sobre. 0,5 g polvo por cápsula o dosis de pastilla: 2 cápsulas por día. No debe ser ingerido junto con bebidas calientes.

Composición de cápsula/pastilla:

- *L. rhamnosus*  $10^{10}$  células
- *P. freudenreichii*  $10^8$  células
- *B. bifidum*  $10^9$  células
- 0,4 g ramnosa (los sobres contienen 1,9 g de ramnosa)

## ES 2 320 988 T3

### Ejemplo 7

Suplemento: cápsula, pastilla o polvo en un sobre. Composición de cápsula/pastilla:

- *Lactobacillus, rhamnosus* 10<sup>9</sup> células
- *Propionibacterium, jensenii* 10<sup>9</sup> células
- *Lactococcus, lactis ssp cremoris* 10<sup>9</sup> células
- *Streptococcus, thermophilus ssp salivarius* 10<sup>9</sup> células
- *Bifidobacterium, bididum* 10<sup>9</sup> células
- *Lactobacillus fermentum* 10<sup>9</sup> células
- 0,5 g de goma guar (los sobres contienen 1,9 g de goma guar)

### APÉNDICE I

Protocolo para fermentación en tubos de diálisis

Materiales

| Microorganismos                                                                      | Heces recientes                                    |             |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------|
| Sustrato                                                                             | Prebióticos o glucosa                              |             |
| Medio de McBain & MacFarlane                                                         | Agua tamponada con peptona                         | 3,0 g/l     |
|                                                                                      | Extracto de levadura                               | 2,5 g/l     |
| Llenar botellas Scott de 500 ml con el medio y esterilizar 15 minutos a 121°C        | Mucina (vellosidades)                              | 0,8 g/l     |
|                                                                                      | Triptona                                           | 3,0 g/l     |
|                                                                                      | L-Cisteína-HCL                                     | 0,4 g/l     |
|                                                                                      | Sales de bilis                                     | 0,05 g/l    |
|                                                                                      | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> •3H <sub>2</sub> O | 2,6 g/l     |
|                                                                                      | NaHCO <sub>3</sub>                                 | 0,2 g/l     |
|                                                                                      | NaCl                                               | 4,5 g/l     |
|                                                                                      | MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O               | 0,5 g/l     |
|                                                                                      | CaCl <sub>2</sub>                                  | 0,228 g/l   |
|                                                                                      | FeSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O               | 0,005 g/l   |
| Medio tamponado.                                                                     | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> •3H <sub>2</sub> O | 2,6 g/l     |
| Ajustar el pH a 6.3 ± 0.1 con K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> o NaHCO <sub>3</sub> . | NaHCO <sub>3</sub>                                 | 0,2 g/l     |
|                                                                                      | NaCl                                               | 4,5 g/l     |
| Llenar botellas Scott de 500 ml con el medio y esterilizar 15 minutos a 121°C        | MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O               | 0,5 g/l     |
|                                                                                      | CaCl <sub>2</sub>                                  | 0,228 g/l   |
|                                                                                      | FeSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O               | 0,005 g/l   |
| Medio de conservación                                                                | Peptona tamponada                                  | 20,0 g/l    |
|                                                                                      | L-Cisteína-HCl                                     | 0,5 g/l     |
| Ajustar el pH a 6.7 ± 0.1 con 1M NaOH o HCl                                          | Sodio tioglicolato                                 | 0,5 g/l     |
| Hervir en microondas                                                                 | Tableta de Resazurina                              | 1 por litro |
| Llenar botellas de suero de 30 ml con medio de 25 ml.                                |                                                    |             |
| Esterilizar 15 minutos a 121°C.                                                      |                                                    |             |

## ES 2 320 988 T3

### *Métodos*

#### *Conservación*

- 5 Las heces recientes son mezcladas con el conservante y de esta forma pueden ser conservadas durante varias horas a 4°C.

#### *Suspensión fecal*

- 10 La solución conservada de heces es centrifugada a 13.000 r.p.m. durante 15 minutos. El sobrenadante es eliminado y las heces son mezcladas con el medio McBain y MacFarlane en una relación de peso de 1:5.

#### *Fermentación*

- 15
- Combinar 15 ml de suspensión fecal con 500 mg de glucosa o prebiótico en una botella y mezclar exhaustivamente
- 20
- Llevar 15 ml de la suspensión resultante a un tubo de diálisis y eliminar el aire
  - Poner el tubo de diálisis en una botella rellena de 250 ml del medio tamponado
  - Cerrar las botellas bien e incubar a 37°C
- 25
- Coger unas muestras del medio con una jeringa hipodérmica después de 24 y 48 horas ( $\pm$  1 ml) y ponerlas inmediatamente sobre hielo para detener la fermentación

#### *Determinación de la proporción de propionato respecto a acetato*

- 30 Preparar las muestras para análisis gascromatográfico (incluyendo la metilación de los ácidos allí presentes) y determinar las cantidades relativas de propionato y acetato encontradas en cada una de las muestras prebióticas al igual que la muestra de glucosa. Calcular la proporción de propionato:acetato para cada muestra y comparar las proporciones obtenidas para las muestras prebióticas con la proporción observada para la muestra de glucosa.

# REIVINDICACIONES

1. Uso de un prebiótico que estimula la actividad gastrointestinal de *Propionibacterium* en la producción de un suplemento dietético para el uso en un método de prevención o alivio de síntomas de mala absorción y/o tratamiento de fibrosis quística en un mamífero monogástrico, comprendiendo dicho método la administración entérica al mamífero de una cantidad eficaz de un prebiótico seleccionado del grupo que consiste en inulina; inulina modificada; inulina hidrolizada; fructo-oligosacáridos; galactomanano e hidrolizados del mismo; arabinogalactano e hidrolizados del mismo; trans-galacto-oligosacáridos; ramnosa; pectina e hidrolizados de pectina; almidón resistente e hidrolizados del mismo; dextrina indigerible e hidrolizados de la misma; polidextrosa indigerible; beta-glucano e hidrolizados del mismo; y combinaciones de estos oligo y polisacáridos.

2. Uso según la reivindicación 1 donde el mamífero monogástrico padece de digestión intestinal deficitaria que le provoca mala absorción.

3. Uso según la reivindicación 1 o 2, donde la mala absorción está asociada a un trastorno seleccionado del grupo que consiste en fibrosis quística, insuficiencia pancreática, pancreatitis y síndrome de intestino corto.

4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la malabsorción es provocada por digestión intestinal deteriorada de proteína, carbohidratos y/o grasa.

5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el método comprende la administración entérica de una combinación de una o más cepas del género *Propionibacterium*.

6. Uso según la reivindicación 5, donde el método comprende la administración entérica de una o más cepas metabólicamente activas del género *Propionibacterium* en una cantidad diaria de al menos  $10^6$  células.

7. Uso según la reivindicación 5 o 6, donde la primera o más cepas del género *Propionibacterium* son seleccionadas del grupo que consiste en *P. freudenreichii*, *spp freudenreichii* o *spp shermanii*; *P. jensenii*; *P. acidipropionici* y *P. microaerophilus*.

8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el prebiótico es administrado en una cantidad diaria de entre 0,5 y 50 g.

9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde el prebiótico proporciona una proporción de propionato respecto a acetato que es al menos 25% superior a la observada para un control de glucosa en una prueba de incubación *in vitro* tal y como se define en la descripción.

10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el prebiótico comprende almidón resistente.

11. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde el prebiótico comprende inulina.

12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde el método comprende la coadministración entérica de una o más cepas homofermentativas metabólicamente activas del género *Lactobacillus*, preferiblemente en una cantidad diaria de al menos  $10^6$  células.

13. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-12, donde el método comprende la coadministración entérica de una o más cepas metabólicamente activas del género de *Bifidobacterium* preferiblemente en una cantidad diaria de al menos  $10^6$  células.