



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104206946 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 17

(21) 申请号 201410364998. 3

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 11. 11

A23L 1/09 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/260, 495 2009. 11. 12 US

61/264, 430 2009. 11. 25 US

61/394, 805 2010. 10. 20 US

(62) 分案原申请数据

201080049822. 9 2010. 11. 11

(71) 申请人 雀巢产品技术援助有限公司

地址 瑞士沃韦

(72) 发明人 Z·(F)·鲁格海德 J·本雅各布

C·勒斯勒 J·R·梅格

J·A·斯万森 N·A·格林博格

D·R·博尔斯特

C·L·加西亚罗德纳斯 F·罗沙

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 陈润杰 黄革生

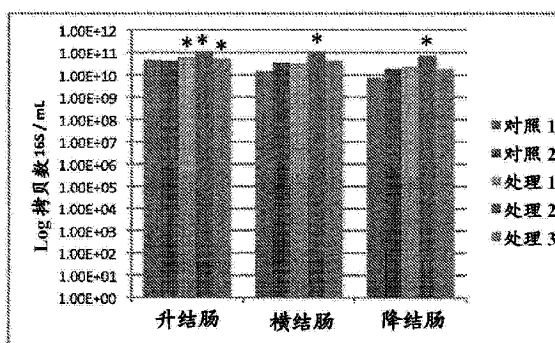
权利要求书3页 说明书33页 附图26页

(54) 发明名称

用于促进肠微生物群平衡和健康的营养组合
物

(57) 摘要

本公开涉及营养组合物,其包含以重量计 35 至 44% 的低聚果糖 (FOS); 非部分水解的瓜尔豆胶的多糖,例如以重量计 50% 至 38% 的阿拉伯半乳聚糖;和以重量计 12% 至 24% 的菊粉。FOS 和 多糖可以以约 1 : 1 的重量比存在。更特别地, FOS 和菊粉可以以约 7 : 3 的重量比存在。还提供了 促进肠微生物群平衡和健康的方法。该方法包括 向有需要的患者施用有效量的营养组合物。



1. 用于施用给个体的营养组合物,包括以重量计约 35 至约 44%的低聚果糖 (FOS) ;多糖,其不是部分水解的瓜尔豆胶 (PHGG) 并以以重量计约 38%至约 50%的量存在 ;和以重量计 12 至 24%的菊粉 ;其中 FOS 和多糖以 62 : 38 至 38 : 62 的重量比存在 ;且 FOS 和菊粉以 82 : 18 至 58 : 42 的重量比存在。

2. 权利要求 1 的营养组合物,其中所述多糖是阿拉伯树胶 (“AG”)。

3. 权利要求 1 的营养组合物,其中所述 FOS 和多糖以约 55 : 45 至约 45 : 55 的重量比存在。

4. 权利要求 1 的营养组合物,其中所述 FOS 和菊粉以约 76 : 24 至约 64 : 36 的重量比存在。

5. 权利要求 1 的营养组合物,其中所述多糖是阿拉伯半乳聚糖,且所述 FOS 以 1.5-5.5g/L 的量存在,所述阿拉伯半乳聚糖以约 2.5-5.5g/L 的量存在和菊粉以约 0.5-2.5g/L 的量存在。

6. 权利要求 5 的营养组合物,其另外包含多达 10g/L 的 PHGG。

7. 权利要求 1 的营养组合物,其另外包含有效增强个体消化功能的量的至少一种不溶性纤维,其中所述至少一种不溶性纤维是大豆纤维、豌豆外表纤维或它们的组合。

8. 权利要求 7 的营养组合物,其中所述可溶性纤维和不溶性纤维以约 1.5 : 1 至约 1 : 1.5 的比率存在,且所述 FOS 和 AG 以约 2.5-3.5g/L 的总量存在,所述菊粉以约 1.25-1.75g/L 的量存在,且所述大豆纤维和豌豆外表纤维各自以约 3.25-4.25g/L 的量存在。

9. 权利要求 8 的营养组合物,其中所述可溶性纤维和不溶性纤维各自以约 1.25 : 1 和约 1 : 1.25 的比率存在。

10. 权利要求 1 的营养组合物,其另外包含抗氧化剂、鱼油、DHA、EPA、维生素、矿物质、植物营养物、蛋白质、脂肪、益生菌和它们的组合的至少一种。

11. 促进肠微生物群平衡和健康的方法,所述方法包括向需要这类治疗的个体施用有效量的根据权利要求 1 至 10 任意一项的营养组合物。

12. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是改善患者对各类导致胃肠道障碍的医学治疗的耐受性,此类治疗包括放疗、化疗、胃肠手术、麻醉、抗生素、镇痛药的施用或者对腹泻的治疗。

13. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是赋予儿童全身益处,例如更好的追赶生长。

14. 权利要求 13 所述的方法,其中所述赋予全身益处是儿童的追赶生长。

15. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是减少患者的住院时间,同时使此类患者以对此类制剂更大的耐受性实现可接受的营养水平和喂饲目标,以因此增加喂饲要求的顺应性,并减少并发症。

16. 权利要求 15 所述的方法,其中所述减少的并发症选自 :腹泻、便秘、胃食道逆流、反刍、呕吐,以及它们的组合

17. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是激发个体的免疫系统。

18. 权利要求 17 的方法,其中所述激发的免疫系统包括改善的 GALT 功能。

19. 权利要求 17 的方法,其中所述激发的免疫系统包括增加的 sIgA 水平和提供平衡的 Th1/Th2。

20. 权利要求 17 的方法,其中所述激发的免疫系统增加个体抗疾病的能力。

21. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是改善器官移植耐受性,所述营养组合物赋予特定的集群作用,所述集群作用提供了独特的上调作用。

22. 权利要求 21 的方法,其中所述上调作用导致炎症细胞因子的减少,其导致瘦体重的减少。

23. 权利要求 21 的方法,其中所述上调作用导致通过 GLP-1 和 GLP-2 的胰岛素释放的减少。

24. 权利要求 21 的方法,其中所述上调作用导致 TH1/TH2 不平衡的减少。

25. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是在有需要的患者中改善骨生长或防止骨退化,以增强骨机动性和功能来改善骨生长或者防止骨退化。

26. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是增加个体的肠和结肠中维生素、矿物质、营养物和它们的组合的吸收。

27. 权利要求 26 的方法,其中所述方法帮助肌肉生长。

28. 权利要求 26 的方法,其中所述方法防止肌肉质量消耗。

29. 权利要求 26 的方法,其中所述方法在疾病或损伤后改善肌肉质量的恢复。

30. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是调节胃肠道产生的或者通过胃肠道调节的激素,其中调节激素为至少以下之一:在个体中减少炎症激素;增加个体健康状态的感觉;增加血清素;血清素导致在个体中改善的睡眠模式;血清素导致个体睡眠质量的改善;血清素导致食欲的正常化;血清素导致抑郁的减少;改善认知;减少 TH1/TH2 不平衡;减少的 TH1/TH2 不平衡导致哮喘的发生率减少;减少的 TH1/TH2 不平衡导致中耳炎的减少。

31. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是在患者的结肠中增加丁酸产生,所述方法包括将有效量的根据权利要求 1 至 10 任一项所述的营养组合物施用给患者,以与不含 AG 的制剂相比,增加丁酸产生,而在结肠中产生细胞增殖并降低结肠 pH,以抑制病原菌的生长。

32. 权利要求 31 的方法,其中所述丁酸产生导致至少以下之一:帮助保护患者肠屏障的抗炎症益处;更好的矿物质吸收、正常化胃肠通过时间、减少腹泻。

33. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康导致健康护理花费的减少,其中所述健康护理花费的减少归因于至少以下之一:在医院停留的时间减少;在疗养院停留的时间减少;并发症减少;腹泻发生率降低;便秘发生率降低;憩室炎发生率降低或者它们的组合。

34. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是有利于有益细菌的、微生物群平衡随时间的持续转移。

35. 权利要求 34 所述的方法,其中所述有益细菌是双歧杆菌属、乳杆菌属或双歧杆菌属和乳杆菌属。

36. 权利要求 34 所述的方法,其中病原体减少。

37. 权利要求 36 所述的方法,其中病原体是梭菌属。

38. 权利要求 36 所述的方法,其中梭菌属在远端结肠减少。

39. 权利要求 11 所述的方法,其中所述促进肠微生物群平衡和健康是贯穿结肠的持续发酵、小链脂肪酸生成、糖分解发酵从升结肠转移至降结肠从而导致降结肠中持续的糖类发酵以及蛋白发酵减少,或它们的组合。

40. 权利要求 39 所述的方法,其中存在更好的营养再吸收、水再吸收或电解质再吸收或它们的组合。

41. 权利要求 39 所述的方法,其中存在改善的肠规律性、改善的便秘、改善的腹泻、改善的肠激惹综合征、改善的局限性回肠炎、改善的溃疡性结肠炎或它们的组合。

42. 权利要求 39 所述的方法,其中生成重要的短链脂肪酸、丁酸、丙酸或它们的组合。

43. 权利要求 39 的方法,其中存在贯穿结肠整个长度的 pH 降低、结肠细胞的更好底物、结肠细胞的更好营养呈递。

用于促进肠微生物群平衡和健康的营养组合物

[0001] 本申请是申请日为 2010 年 11 月 11 日、发明名称为“用于促进肠微生物群平衡和健康的营养组合物”的中国专利申请 201080049822.9 的分案申请。

[0002] 相关申请的交互引用

[0003] 本申请要求 2009 年 11 月 12 日提交的美国系列号 61/260,495 的优先权,其全部内容在此明确引用作为参考。

[0004] 背景

[0005] 本公开涉及包含膳食纤维、用于促进肠微生物群平衡和健康的营养组合物,以及改善肠微生物群平衡和健康的方法,包括施用有效量的该组合物。

[0006] 众所周知,病原菌感染对健康有害。这些细菌的实例包括产气荚膜梭菌 (*Clostridium perfringens*)、艰难梭菌 (*C. difficile*)、沙门氏菌属 (*Salmonella*) 和其他肠病原体。

[0007] 在过去,允许这些有害细菌的感染发展,直到其必须通过抗生素治疗。抗生素对有害细菌具有较好的作用。然而,它们也受到如下问题的困扰:它们同时杀死无害且帮助消化食物并提供其他额外健康益处的肠细菌群。通常将这些细菌群体称为“友好的”。

[0008] 革兰氏阳性、非运动性、经常分枝的厌氧细菌(双歧杆菌属 (*Bifidobacteria*))是构成肠微生物群的主要细菌种属之一,即驻扎在结肠中的细菌。双歧杆菌属辅助消化、与变态反应的较低发生率相关,还阻止一些形式的肿瘤生长。双歧杆菌属的其他健康益处包括对抗病原菌的防御增加、刺激免疫系统和与短链脂肪酸(“SCFA”)的产生相关的健康益处,以及更低的腹部敏感性。

[0009] 益生元是不易消化的物质,其可以通过选择性刺激肠道微生物群的生长而有益地影响宿主。低聚果糖(“FOS”)是用于促进双歧杆菌属和其他有益肠微生物群生长的化合物,且已经广泛地作为益生元研究。FOS 是简糖类的短链多聚体,其在体内并不具有简单糖的性质。FOS 天然存在于菊苣、香蕉、大蒜和某些其他食物中,且在技术上是可溶性纤维。已经显示:FOS 选择性支持肠益生菌、特别是双歧杆菌属的增殖。

[0010] 低聚果糖(“OF”)获自菊粉,其通过使用热水提取自菊苣。所产生的产物具有:

[0011] -92%菊粉型果聚糖(具有 β -2,1 果糖基-果糖糖苷键的分子);

[0012] 聚合程度(“DP”)为 2-60(平均 10-12);和

[0013] -6-10%游离糖(果糖、葡萄糖和蔗糖)。

[0014] 进一步加工(部分酶促水解或者分离操作)可以产生 OF 产物。这还可以通过去除游离糖增加纯度。这些产物中的全部键均为 β -2,1 构型。

[0015] 备选地,从蔗糖分子开始,以合成方式产生 FOS。在称为转果糖基化(transfructosylation)的处理中,使用真菌酶 β -果糖苷酶添加具有 β -2,1 键合的果糖单位。通过该方法还形成了有限数目的其他键合。DP 范围通常为 2-4,且全部从葡萄糖糖残基开始。

[0016] 术语菊粉型果聚糖(“ITF”)指含 β -2,1 果糖基-果糖糖苷键的所有线性果聚糖。

[0017] 产物含有的分子具有可变的 DP 和葡萄糖比例 ;通常通过平均 DP、最大 DP 或者 DP 范围描述。

[0018] 一些 ITF 以葡萄糖作为起始单元 (“GF_n- 型”),而其他 ITF 却不是 (“Fn- 型”)。

[0019] ITF 在文献中并没有一致的标记,因为还没有官方标准。然而,它们可以通过 DP 分类 :

[0020] 长链= ≥ 10 DP ;和

[0021] 短链= < 10 DP。

[0022] ITF 的命名在文献中并不一致。一些文献认为 OF 和 FOS 同义并定义为 DP 最大 < 10 的 ITF。其他文献使用 FOS 来描述短链 ITF (DP < 10),其合成自蔗糖且具有 GF_n 化学结构以及酶连接的果糖单元。OF 描述了来源于菊粉水解并具有 GF_n 或者 Fn 结构的短链分子。

[0023] 获自 Nestle SA 的添加剂 PREBIO1™ 是可溶性纤维 FOS 和菊粉的独特益生元掺和物,旨在支持全面的结肠健康,特别是近端结肠和末端结肠健康,以帮助维持结肠完整性并促进健康的肠微生物群。含 PREBIO1™ 添加剂的制剂还可以为胃肠 (“GI”) 损害如慢性腹泻 / 营养不良、早期肠道喂饲、自 TPN 转变 (transition from TPN)、短肠综合征 (short-bowel syndrome)、慢性胰腺炎、与癌症治疗相关的吸收不良、HIV/AIDS、胃排空延迟和囊性纤维化的患者提供营养支持。

[0024] 本公开通过提供与 PREBIO1™ 添加剂相比具有改善的耐受性和增加的益生元益处的组合物,满足了营养支持工业的需求,从而提供了新的组合物,所述新组合物促进施用其的个体的肠微生物群平衡和健康。

[0025] 概述

[0026] 目前,本公开提供了新的营养组合物,其以当施用给有需要的个体时足以提供营养的相对量包含 FOS、多糖和菊粉的组合。该组合物提供了针对个体需求的营养补充,并可以口服施用。对需要管饲的患者进行肠内施用也是可能的。

[0027] 本组合物通常包含以重量计约 38% 至约 44% 的 FOS。多糖一般是阿拉伯半乳糖,例如树胶,在一个实施方案中,为阿拉伯树胶 (“AG”),且以以重量计约 38% 至约 44% 的量存在。菊粉以以重量计约 12% 至约 24% 的量存在。AG 是由半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖和葡糖醛酸单元组成的高度分枝的高分子量分子。与其他可溶性纤维相比,其可以缓慢发酵并增加 SCFA 的产生,并因此有益于远端结肠。参见 Cherbut, 等人, “Acacia Gum is a Bifidogenic Dietary Fibre with High Digestive Tolerance in Healthy Humans”, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 15(1) :43-50 (2003)。AG 具有非常高的胃肠耐受性,每天多达 70g 也不会造成严重的副作用。参见同上。低剂量的 AG (3g/ 天) 表现为益生元,当与 3g/ 天的 FOS 组合时,支持双歧杆菌属的生长。参见 Rochat 等人, “Method of Treating Irritable Bowel Syndrome” 美国专利号 7, 141, 554。动物研究显示了 AG 改善腹泻症状的能力,且人体试验显示出正常化肠功能的作用。参见 Wapnir 等人, “Gum Arabic Promotes Rat Jejunal Sodium and Water Absorption from Oral Rehydration Solutions in Two Models of Diarrhea”, *Gastroenterology*, 112(6) :1979-1985 (1997)。还参见 Bliss 等人, “Supplementation with Gum Arabic Fiber Increases Fecal Nitrogen Excretion and Lowers Serum Urea Nitrogen Concentration in Chronic Renal Failure

Patients Consuming a Low-protein Diet”, Am. J. Clin. Nutr., 63(3):392-398(1996)。还参见 Cherbut 等人。此外,将 5gAG 加入到饮食中已显示较低的血糖应答,25g/ 天的长期消耗具有降脂作用。参见 Ross 等人,“A Study of the Effects of Dietary Gum Arabic in Humans”, Am. J. Clin. Nutr., 37(3):368-375(1983)。

[0028] 在一个实施方案中,本公开的营养组合物包含各自以重量计约 40% 至约 42% 的量存在的 FOS 和阿拉伯半乳聚糖;以及以重量计约 16% 至约 20% 的量存在的菊粉。

[0029] 在一个实施方案中,本公开的营养组合物包含各自以重量计约 41% 的量存在的 FOS 和阿拉伯半乳聚糖;以及以重量计约 18% 的量存在的菊粉。

[0030] 有利的是,FOS 和阿拉伯半乳聚糖以约 44 : 38 至约 35 : 50 或者约 42 : 40 至约 40 : 42 或者约 1 : 1 的重量比存在。还有利的是,FOS 和菊粉以约 38 : 24 至约 44 : 12 或者约 40 : 20 至约 42 : 16 或者约 7 : 3 的重量比存在。

[0031] 在本公开的营养组合物的一个实施方案中,FOS 以 1.5-5.5g/L 或者约 4.12g/L 的量存在,阿拉伯半乳聚糖例如 AG 以 1.5-5.5g/L 或者约 4.12g/L 的量存在,菊粉以 0.5-2.5g/L 或者约 1.76g/L 的量存在。这种组合物可以以多达 10g/L 的量另外包含部分水解的瓜尔豆胶 (“PHGG”)。例如,PHGG 可以以约 2g/L 至约 9g/L 的量提供。在一个实施方案中,PHGG 可以以 7g/L 的量存在。在另一实施方案中,PHGG 可以以 2.6g/L 的量存在。在另一实施方案中,PHGG 以 5g/L 的量存在。

[0032] 应当理解,从化学角度而言,尽管瓜尔豆胶是多糖且尽管至少一小部分 PHGG 仍是多糖,但当前要求保护的营养组合物中所包含的“多糖”并不包括 PHGG。作为替代,除多糖外可以加入 PHGG,以使例如 AG 和 PHGG 不一起加入以获得 38-50% 的多糖。作为替代,除 38-50% 的多糖外,还可以将 PHGG 加入到营养组合物中。

[0033] 在又另一实施方案中,本公开的营养组合物还包含至少一种不溶性纤维,例如大豆纤维、豌豆外表纤维 (outer pea fiber) 或者二者。在一个实施方案中,至少一种不溶性纤维是大豆纤维和豌豆外表纤维的组合。组合物的可溶性纤维即 FOS、阿拉伯半乳聚糖如 AG 和菊粉与不溶性纤维之间的比率为 1.5 : 1 至 1 : 1.5 或者 1.25 : 1 至 1 : 1.25 或者约 1 : 1。在一个实施方案中,FOS 和 AG 各自以 2.5-3.5g/L 的量存在,且菊粉以 1.25-1.75g/L 的量存在,以及大豆纤维和豌豆外表纤维各自以 3.25 至 4.25g/L 的量存在。又在另一实施方案中,FOS 和 AG 以约 3g/L 的量存在,菊粉以约 1.5g/L 的量存在,且大豆纤维和豌豆外表纤维各自以约 3.75g/L 的量存在。

[0034] 本公开的另一实施方案涉及包含本文所述营养组合物之一的干粉末制剂。这些粉末组合物可以由如下方法制备,所述方法包括将本文公开的营养组合物之一制备成液体,然后通过喷雾干燥、冷冻干燥或其他干燥技术干燥该液体。还考虑在干燥前将额外的营养成分或者组合物加入到液体中,以为粉末组合物提供增强的营养益处。

[0035] 本公开还涉及许多不同的治疗方法,旨在为不同个体提供营养。总之,通过给需要此种治疗的个体施用有效量的本公开营养组合物,该治疗方法促进了肠微生物群平衡和健康。

[0036] 另一方法涉及改善患者对导致胃肠道疾病的多种医学治疗的耐受性,此类治疗包括放疗、化疗、胃肠手术、麻醉、抗生素、镇痛药的施用或者对腹泻的治疗。该方法包括给此类患者施用有效量的本文公开的营养组合物之一。

[0037] 另一方法涉及赋予住院儿童全身性益处,例如较好的追赶生长(catch-up growth)。该方法包括给此类儿童施用有效量的本文公开的营养组合物之一。

[0038] 又另一方法涉及减少患者的住院时间。该方法包括给住院患者如老年患者施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以使此类患者在更大耐受此类制剂的情况下达到可接受的营养水平和喂饲目标,并因此增加喂饲的顺应性,转而改善患者条件以减少住院时间。

[0039] 其他方法包括用于在老年个体中最小化由于年龄增长所致肠微生物群负进化的治疗,通过给此类个体施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以使此类个体虽然年龄增长但仍更长期地维持健康的微生物群水平,同时还减少梭菌属(*Clostridium*)并增加双歧杆菌属。

[0040] 本公开还提供增加患者结肠中丁酸产生的方法,通过给患者施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以与不含 AG 的制剂相比增加丁酸产生,以在结肠中产生细胞增殖和分化并降低结肠 pH,从而抑制病原菌的生长,以提供帮助保护患者肠道屏障的抗炎症益处。

[0041] 又另一方法涉及通过施用有效量的本文公开的营养组合物之一来提高个体的免疫功能,以减少艰难梭菌,同时增强 T 细胞功能、肠道相关的淋巴组织(“GALT”)和分泌型 IgA(“sIgA”),以增加个体抵抗疾病的能力。

[0042] 还提供了改善器官移植耐受性的方法,通过给接受移植物的个体施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以赋予其中特定的集群作用(colonization),提供独特的免疫应答的下调和调节导致瘦体重减少的炎症细胞因子, GLP-1 和 GLP-2 导致增加的胰岛素释放。GLP-1 是促胰岛素的,但 GLP-1 对肠具有营养作用(trophic effect),例如增强的肠滤泡细胞(crypt cell)增殖和绒毛高度,参见 Martin GR 等人,“Nutrient-stimulated GLP-2 release and crypt cell proliferation in experimental short bowel syndrome”, *Am. J. Physiol, Gastrointest., Liver Physiol*, G431-G438 (2005), 以及 T 辅助细胞(TH)1 和 TH2 应答之间的不平衡的减少,参见 Zhao Y 等人,“Th1 and Th2 cytokines in organ transplantation: paradigm lost?”, *Crit Rev Immunol*, 1999 ;19(2) :155-72。

[0043] 又另一方法涉及通过增加个体肠和结肠中维生素和营养物的吸收而在有需要的患者中改善骨生长或防止骨退化。该方法包括给患者施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以增加营养物如维生素 D、锌或者钙的吸收,来帮助改善骨结构、生长和功能。

[0044] 本公开的另一方法涉及通过增加个体肠和结肠中维生素和其他营养物的吸收来增强患者的肌肉质量。该方法包括给需要此类增强的肌肉质量和增加吸收的个体施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以在个体中特定增加维生素和矿物质例如(但不限于)维生素 D、叶酸、B12、镁或钙的吸收,来帮助改善总体幸福感(general well being)、骨骼肌健康、移动性和认知健康、预防肌肉质量消耗或者改善肌肉质量恢复。

[0045] 本公开还涉及改善个体代谢的方法。该方法包括给需要此种改善的代谢的个体施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以增强微营养物吸收、改善此类微营养物的生物利用率。

[0046] 本公开还涉及提供饱腹感(fuller feeling)或饱胀感(satiety)的方法,以使个体在施用组合物后能具有更好的清晨开端、避免过度饱食,以降低热量摄入或者提供持续的能量。

[0047] 本公开的另一方法涉及在需要此种治疗的患者中治疗糖尿病。该方法包括给

该患者施用有效量的本文公开的营养组合物之一,以降低胰岛素抵抗、减少血糖波动(excursion) 或者降低 CVD 风险,并在肾机能不全的患者中降低氮血。

[0048] 本公开还涉及多糖如树胶、包括例如 AG 在营养组合物中的用途,所述营养组合物包括 FOS 和菊粉,用于给个体施用以为其提供营养。多糖可以以当施用于个体时有效提供对此类营养组合物更大的耐受性的量存在,多糖、FOS 和菊粉以本文公开的量存在。

[0049] 本公开的另一方面是多糖如树胶、包括阿拉伯胶在制备营养组合物中的用途,所述营养组合物用于促进个体的肠微生物群平衡和健康。营养组合物还可以以本文公开的量包含 FOS 和菊粉。

[0050] 本文描述了其他特征和优点,并从以下详细说明和附图中显而易见。

[0051] 附图简述

[0052] 图 1 显示在儿科重症监护病房 (“PICU”) 中接受机械通气和含掺和物¹⁺(具有益生菌 NCC2461/NCC3001+ 益生元 (PREBIO1™+AG)+DHA) 或者掺和物¹(不添加益生菌和益生元或 DHA) 的肠喂饲物的住院儿童中达到目标热量摄入的时间。

[0053] 图 2 显示人类肠微生物生态系统模拟器 (“SHIME”) 的标准装置,其包括模拟人类肠道不同区域的 5 个顺次反应器。

[0054] 图 3A-3F 显示对于用掺和物¹(指定为数字“1”)和掺和物¹⁺(指定为数字“2”)进行的实验,在升结肠、横结肠和降结肠中,总 SCFA、乙酸、丙酸和丁酸的浓度的图。

[0055] 图 4A-4F 显示对于用掺和物¹(指定为数字“1”)和掺和物¹⁺(指定为数字“2”)进行的实验,在升结肠、横结肠和降结肠中,A/P/B 比率的柱形图。

[0056] 图 5A-5E 显示掺和物¹(指定为“SHIME 1”)和掺和物¹⁺(指定为“SHIME 2”)对 SHIME 实验不同结肠血管中产物的影响的数据。数据表示为每实验周。通过单因素 ANOVA 评价了结肠区室间 ACFA 浓度的差异,并使用 Tukey’s 检验比较各个平均值。

[0057] 图 6A-6B 显示对于使用掺和物¹(指定为“SHIME 1”)和掺和物¹⁺(指定为“SHIME 2”)进行的实验,在升结肠、横结肠和降结肠中铵浓度 (mgNH₄⁺/L) 的柱形图。数据表示为每实验期。通过 Student’s 双侧 T 检验评估铵产生的显著性差异 (CTRL 对比 TREAT),并用*表示 P < 0.05 和**表示 P < 0.01。

[0058] 图 7A-7B 显示对于使用掺和物¹(指定为“SHIME 1”)和掺和物¹⁺(指定为“SHIME 2”)进行的实验,在升结肠、横结肠和降结肠中乳酸盐浓度的柱形图。数据表示为每实验期。通过 Student’s 双侧 T 检验评估乳酸盐生成的显著性差异 (CTRL 对比 TREAT),用*表示 P < 0.05。

[0059] 图 8A-8F 显示对于使用掺和物¹(指定为“SHIME 1”)和掺和物¹⁺(指定为“SHIME 2”)进行的实验,在升结肠、横结肠和降结肠中的酸-碱消耗。数据表示为每实验期。

[0060] 图 9 显示在胃、小肠和升结肠的模拟条件下,由代表剂量的选定化合物顺次温育组成的短期筛选测定。

[0061] 图 10 显示用于 pH 和气体测量的分批实验抽样的方案。

[0062] 图 11A-11B 显示分批实验中总气体和 CO₂ 产生的变化。掺和物¹指定为“A”,掺和物¹⁺指定为“B”。通过 Student’s 双侧 T 检验评估显著性差异(与以前的取样点比较),用*表示 P < 0.05。

[0063] 图 12 显示比较时间 0 小时和 48 小时的值,分批实验中 pH 的变化。掺和物¹指定

为“A”，掺和物¹⁺指定为“B”。通过 Student's 双侧 T 检验评估显著性差异（与其他产品比较），用*表示 $P < 0.05$ 。

[0064] 图 13A-13B 显示在每一结肠区室中每实验周存在的总细菌的 qPCR 数据。图 13A 表示来自用掺和物¹的实验的数据，图 13B 表示来自用掺和物¹⁺的实验的数据。当用*标出时，与对照平均值的差异根据 T 检验是统计学上显著的 ($p < 0.05$)。

[0065] 图 14A-14B 显示在每一结肠区室中每实验周存在的总拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的 qPCR 数据。图 14A 表示来自用掺和物¹的实验的数据，图 14B 表示来自用掺和物¹⁺的实验的数据。当用*标出时，与对照平均值的差异根据 T 检验是统计学上显著的 ($p < 0.05$)。

[0066] 图 15A-15B 显示在每一结肠区室中每实验周存在总硬壁菌门的 qPCR 数据。图 15A 表示来自用掺和物¹的实验的数据，图 15B 表示来自用掺和物¹⁺的实验的数据。当用*标出时，与对照平均值的差异根据 T 检验是统计学上显著的 ($p < 0.05$)。

[0067] 图 16A-16B 显示在每一结肠区室中每实验周存在的总乳杆菌属的 qPCR 数据。图 16A 表示来自用掺和物¹的实验的数据，图 16B 表示来自用掺和物¹⁺的实验的数据。当用*标出时，与对照平均值的差异根据 T 检验是统计学上显著的 ($p < 0.05$)。

[0068] 图 17A-17B 显示在每一结肠区室中每实验周存在的总双歧杆菌属的 qPCR 数据。图 17A 表示来自用掺和物¹的实验的数据，图 17B 表示来自用掺和物¹⁺的实验的数据。当用*标出时，与对照平均值的差异根据 T 检验是统计学上显著的 ($p < 0.05$)。

[0069] 图 18A-18B 以散点图说明两种产品的每一结肠血管数据的比较。AC1、TC1 和 DC1 指掺和物¹；AC2、TC2 和 DC2 指掺和物¹⁺。第 1-2 周为对照期和第 3-5 周为处理期。红箭头表示每一组在样条模型 (spline model) 中结点的位置。

[0070] 图 19A-19B 以散点图说明两种产品的每一结肠血管数据的比较。AC1、TC1 和 DC1 指掺和物¹；AC2、TC2 和 DC2 指掺和物¹⁺。第 1-2 周为对照期和第 3-5 周为处理期。红箭头表示每一组在样条模型中结点的位置。

[0071] 图 20 是两种产品的每一结肠血管的数据的散点图比较。AC1、TC1 和 DC1 指掺和物¹；AC2、TC2 和 DC2 指掺和物¹⁺。第 1-2 周为对照期和第 3-5 周为处理期。红箭头表示每一组在样条模型中结点的位置。

[0072] 详述

[0073] 定义

[0074] 如在本公开和所附权利要求中所用，除非另外清楚指明，单数形式“一个”、“一”和“所述”包括复数指代。因此，例如，提及“氨基酸”包括两个或多个氨基酸的混合物等等。

[0075] 如本文中所用的“约”应当理解指一定范围数中的数值。此外，应当理解，本文中的所有数值范围包括范围内的全部整数、整数部分或分数部分。

[0076] 如本文中所用的术语“氨基酸”理解为包括一种或多种氨基酸。氨基酸可以是例如丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、瓜氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、羟脯氨酸、羟丝氨酸、羟酪氨酸、羟赖氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、牛磺酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸或者它们的组合。

[0077] 如本文中所用的“动物”包括但不限于哺乳动物，其包括但不限于啮齿类动物、水生哺乳动物、家畜如狗和猫、耕畜如绵羊、猪、牛和马，以及人类。其中使用术语“动物”或“哺乳动物”或者它们的复数形式时，还考虑其适用于能具有该段上下文所显示或预期显示

的效果的任何动物。

[0078] 如本文中所用的术语“抗氧化剂”理解为包括任意一种或多种不同的物质,如 β -胡萝卜素(微生物 A 前体)、维生素 C、维生素 E 和硒,其抑制氧化或者由活性氧类别(“ROS”)和其他自由基和非自由基类别促进的反应。此外,抗氧化剂是能减缓或者阻止其他分子氧化的分子。抗氧化剂的非限制性实例包括类胡萝卜素、辅酶 Q10(“CoQ10”)、类黄酮、谷胱甘肽 Goji (wolfberry)、桔皮苷、lactowolferry、木脂体、叶黄素、番茄红素、多酚、硒、维生素 A、维生素 B₁、维生素 B₆、维生素 B₁₂、维生素 C、维生素 D、维生素 E、玉米黄素或它们的组合。

[0079] 如本文中所用的“完全营养”指这样的营养产品,其含有足以成为其所施用的动物的唯一营养来源的足够类型和水平的常量营养物(蛋白质、脂肪和糖类)和微量营养物。

[0080] 如本文中所用的“有效量”是在个体中防止缺陷、治疗疾病或者医学病症、或者更一般地减少症状、控制疾病进展或者为个体提供营养、生理和医学益处的量。治疗可以是患者或者医生相关的。

[0081] 如本文中所用的“不完全营养”指这样的营养产品,其不含有足以成为其所施用动物的唯一营养来源的足够水平的常量营养物(蛋白质、脂肪或糖类)或微量营养物。

[0082] 尽管术语“个体”和“患者”在本文中通常用于指人类,但本发明并不限于此。因此,术语“个体”和“患者”指具有或处危可以受益于该治疗的医学病症的任一动物、哺乳动物或人类。

[0083] 如本文中所用,鱼油的非限制性实例包括二十二碳六烯酸(“DHA”)和十二碳五烯酸(“EPA”)。DHA 和 EPA 还可以存在于非鱼油来源中(例如藻类、改性植物等)。

[0084] 如本文中所用的“食品级微生物”意为在食物中使用并通常认为安全的微生物。

[0085] 如本文中所用的“长期施用”指连续施用 6 周以上。

[0086] 如本文中所用的“哺乳动物”包括但不限于啮齿类动物、水生哺乳动物、家畜例如狗和猫、耕畜如绵羊、猪、牛和马,以及人类。其中使用术语“哺乳动物”时,还考虑其也适用于能够具有哺乳动物所显示或预期显示的效果的其他动物。

[0087] 术语“微生物”意图包括细菌、酵母和/或真菌、具有微生物的细胞生长培养基或者其中培养微生物的细胞生长培养基。

[0088] 如本文中所用的术语“矿物质”理解为包括硼、钙、铬、铜、碘、铁、镁、锰、钼、镍、磷、钾、硒、硅、锡、钒、锌或者它们的组合。

[0089] 如本文中所用的“营养组合物”理解为包括任一数目的任选其他成分,包括常规食物添加剂,例如一种或多种酸化剂、其他增稠剂、缓冲液或者用于 pH 调节的试剂、螯合剂、着色剂、乳化剂、赋形剂、调味剂、矿物质、渗透剂、可药用载体、防腐剂、稳定剂、糖、甜味剂、组织形成剂和/或维生素。可以以任一合适的量加入任选的成分。

[0090] 如本文中所用的术语“患者”理解为包括动物,特别是哺乳动物,和更特别地接受或者预期接受如本文所定义的治疗的人类。

[0091] 如本文中所用的“植物化学物质”或者“植物营养物”是在许多食物中发现的非营养化合物。植物化学物质是具有超越基本营养的健康益处的功能性食物,并且是来自植物来源的健康促进化合物。如本文中所用的“植物化学物质”和“植物营养物”指由植物产生的任一化学物,其赋予使用者一种或多种健康益处。植物化学物质可以通过任一方

法、包括局部、肠内和 / 或肠胃外施用。如本文中所用,植物化学物质和植物营养物的非限制性实例包括 i) 酚化合物,其包括单苯酚(例如:芹菜脑、鼠尾草酚、香芹酚、莳萝脑、Rosemarinol);类黄酮(多酚),包括黄酮醇(例如:槲皮素、姜醇、堪非醇、杨梅树皮素、芦丁、异鼠李黄素)、黄烷酮类(例如:桔皮苷、柚皮素、水飞蓟素、圣草素)、黄酮(例如:芹菜配基、柑桔黄酮、毛地黄黄酮)、黄烷-3-醇(例如:儿茶素、(+)-儿茶素、(+)-没食子儿茶精、(-)-表儿茶酸、(-)-表没食子儿茶精(epigallocatechin)、(-)-表没食子儿茶精没食子酸酯(EGCG)、(-)-表儿茶酸-3-没食子酸酯、茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素-3,3'-二没食子酸酯、茶玉红精(thearubigin))、花色素苷(navonals)和花色素(例如:花葵素、甲基花青素、花青素、翠雀素、二甲翠雀素、矮牵牛苷配基)、异黄酮(植物雌激素)(例如:大豆黄素(芒柄花素)、染料木黄酮(鸡豆黄素A)、黄豆黄素)、二氢黄酮醇(dihydroflavonol)、查耳酮、考米斯坦(coumestans)(植物雌激素)和香豆雌酚;酚酸(例如:鞣花酸、没食子酸、鞣酸、香草醛、姜黄色素);羧基肉桂酸(例如:咖啡酸、氯原酸、肉桂酸、阿魏酸、香豆素)、木脂体(植物雌激素)、水飞蓟素、开环异落叶松脂素(secoisolariciresinol)、松脂醇和落叶松树脂醇(lariciresinol);酪醇酯(tyrosol esters)(例如:酪醇、羧基酪醇、橄榄油刺激醛(Oleocanthol)、橄榄苦苷);芪类化合物(stilbenoids)(例如:白藜芦醇、蝶芪、白皮杉醇(Piceatannol))和安石榴苷(punicalagin);ii) 萜烯(类异戊二烯),其包括类胡萝卜素(四聚类萜)包含胡萝卜素(例如: α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、 γ -胡萝卜素、 δ -胡萝卜素、番茄红素、链孢红素、六氢番茄红素、八氢番茄红素)和叶黄素(例如:角黄素、隐黄素、玉米黄素、虾青素、黄体素、玉红黄质);单萜(例如:柠檬烯、紫苏子醇(perillyl alcohol));皂苷;脂质,包括:植物甾醇(例如:菜油甾醇、 β 谷甾醇、 γ 谷甾醇、豆甾醇)、生育酚(维生素E)和 Ω -3,6和9脂肪酸(例如: γ -亚麻酸);三萜系化合物(例如:齐墩果酸、熊果酸、桦木酸、模绕酮酸(moronic acid));iii) 甜菜红碱(betalain),其包括 β 花青苷(betacyanin)(例如:甜菜苷、异甜菜甙、probetanin、新甜菜甙(neobetanin)) and 甜菜黄素(betaxanthin)(非糖苷型)(例如:梨果仙人掌黄质和仙人掌黄素(vulgaxanthin));iv) Organosulfides,其包括二硫酚硫酮(异硫氰酸酯)(例如:莱菔子素(Sulphoraphane));和 Thiosulphonate(葱属化合物)(例如:烯丙基甲基三硫化物和二烯丙基硫醚)、吲哚类、硫代葡萄糖酸盐(glucosinolate),其包括吲哚-3-甲醇;莱菔硫烷(sulforaphane);3,3'-二吲哚基甲烷;黑芥子苷;蒜素;蒜氨酸;异硫氰酸烯丙酯;胡椒碱;顺式-丙硫醛(propanethial)-S-氧化物;v) 蛋白质抑制剂,其包括蛋白酶抑制剂;vi) 其他有机酸,其包括草酸、植酸(六磷酸肌醇酯);酒石酸;和漆树酸;或者它们的组合。

[0092] 如本文中所用的“益生元”是食物物质,其选择性促进有益细菌的生长或者抑制病原菌在肠中的生长或者黏膜粘附。它们不是在胃和 / 或肠上部被失活或者在摄食它们的人的胃肠道中吸收,但是它们通过胃肠微生物区系和 / 或通过益生菌发酵。益生元例如由 Glenn R. Gibson 和 Marcel B. Roberfroid, Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics, J. Nutr. 1995;125:1401-1412 定义。益生元的非限制性实例包括阿拉伯树胶、 α 葡聚糖、阿拉伯半乳聚糖、 β 葡聚糖、右旋糖酐、低聚果糖、岩藻糖基乳糖、低聚半乳糖(galactooligosaccharide)、半乳甘露聚糖、低聚龙胆糖(gentiooligosaccharide)、低聚葡萄糖(glucooligosaccharide)、瓜尔豆胶、

菊粉、低聚异麦芽糖、lactoneotetraose、低聚乳果糖 (lactosucrose)、乳果糖、果聚糖、麦芽糖糊精、低聚乳糖、部分水解的瓜尔豆胶、低聚果胶糖 (pecticoligosaccharide)、抗性淀粉、回生淀粉 (retrograded starch)、低聚唾液糖 (sialooligosaccharide)、唾液乳糖 (sialyllactose)、低聚大豆糖、糖醇、低聚木糖或者它们的水解产物或者它们的组合。

[0093] 如本文中所用, 益生微生物 (下文中为“益生菌”) 是食品级微生物 (存活的, 包括半存活的或者减毒的和 / 或不能复制的)、代谢物、微生物细胞制备物或者微生物细胞组分, 其当以足够量施用时可给宿主赋予健康益处, 更具体地, 通过改善宿主的肠微生物平衡而有益地影响宿主, 导致对宿主的健康或身体健康产生影响。参见 Salminen S, Ouwehand A, Benno Y. 等人, “Probiotics :how should they be defined ?” Trends Food Sci. Technol. , 1999 :10, 107-10。总之, 认为这些微生物抑制或者影响肠道中病原菌的生长和 / 或代谢。益生菌还可以激活宿主的免疫功能。为此, 存在多种不同方法将益生菌包含入食物产品中。益生菌的非限制性实例包括气球菌属 (Aerococcus)、曲霉属 (Aspergillus)、芽孢杆菌属 (Bacillus)、拟杆菌属 (Bacteroides)、双歧杆菌属 (Bifidobacterium)、念珠菌属 (Candida)、梭菌属 (Clostridium)、德巴利酵母属 (Debaromyces)、肠球菌属 (Enterococcus)、梭杆菌属 (Fusobacterium)、乳杆菌属 (Lactobacillus)、乳球菌属 (Lactococcus)、明串珠菌属 (Leuconostoc)、蜜蜂球菌属 (Melissococcus)、微球菌属 (Micrococcus)、毛霉菌属 (Mucor)、酒球菌属 (Oenococcus)、片球菌属 (Pediococcus)、青霉菌属 (Penicillium)、消化链球菌属 (Peptostreptococcus)、毕赤酵母属 (Pichia)、丙酸杆菌属 (Propionibacterium)、Pseudocatenulatum、根霉菌属 (Rhizopus)、酵母属 (Saccharomyces)、葡萄球菌属 (Staphylococcus)、链球菌属 (Streptococcus)、球拟酵母菌属 (Torulopsis)、魏斯氏菌属 (Weissella) 或者它们的组合。

[0094] 如本文中所用的术语“蛋白质”、“肽”、“寡肽”或“多肽”应理解为指任意组合物, 包括单一氨基酸 (单体)、通过肽键连接在一起的两个或多个氨基酸 (二肽、三肽或多肽)、胶原、前体、同源物、类似物、模拟物、盐、前体药物、代谢产物或者它们的片段或它们的组合。为明确起见, 除非另外说明, 任何以上术语的使用可以互换。应当理解, 多肽 (或肽或蛋白质或寡肽) 常常含有除通常称为 20 种天然存在氨基酸的 20 种氨基酸之外的氨基酸, 且许多氨基酸、包括末端氨基酸可在给定的多肽中通过天然处理例如糖基化和其他翻译后修饰、或者通过本领域熟知的化学修饰技术进行修饰。在本发明多肽中可以存在的已知修饰中, 包括但不限于乙酰化、酰化、ADP- 核糖基化、酰胺化、黄烷类 (flavanoid) 或血红素部分的共价连接、多核苷酸或多核苷酸衍生物的共价连接、脂质或者脂质衍生物的共价连接、磷脂酰肌醇的共价连接、交联、环化、二硫键形成、脱甲基化、共价交联的形成、胱氨酸的形成、焦谷氨酸的形成、甲酰化、 γ - 羧基化、糖化、糖基化、糖基磷脂酰肌醇 (“GPI”) 膜锚着点形成、羟基化、碘化、甲基化、豆蔻酰化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、selenoylation、硫酸化、转移 -RNA 介导的氨基酸至多肽的加成例如精氨酸化 (arginylation) 和泛素化。术语“蛋白质”还包括“人造蛋白质”, 其指由肽的交替重复组成的线性或非线性多肽。

[0095] 蛋白质的非限制性实例包括基于乳的蛋白质、基于植物的蛋白质、基于动物的蛋白质和人造蛋白质。基于乳的蛋白质包括例如酪蛋白、酪蛋白酸盐 (例如全部形式, 包括钠、钙、钾的酪蛋白酸盐)、酪蛋白水解产物、乳清 (例如全部形式, 包括浓缩的、分离的、去

矿物质的)、乳清水解产物、乳蛋白浓缩物和乳蛋白分离物。基于植物的蛋白质包括例如大豆蛋白质(例如包括浓缩的和分离的全部形式)、豌豆蛋白质(例如包括浓缩的和分离的全部形式)、低芥酸菜子蛋白质(例如包括浓缩的和分离的全部形式),其他市售为小麦和分级小麦蛋白质的植物蛋白质;玉米及其部分,包括玉米蛋白、稻、燕麦、马铃薯、花生、绿豌豆粉、绿豆粉,以及来源于豆类、扁豆类和其他豆科植物(pulses)的任意蛋白质。

[0096] 如本文中所用的“短期施用”是6周以下的连续施用。

[0097] 如本文中所用的“合益素(synbiotic)”是含有一起作用的益生元和益生菌二者的补充剂,以改善肠的微生物区系。

[0098] 如本文中所用的术语“治疗”、“处理”和“减轻”包括预防性或防止性治疗(防止和/或减缓靶病理病症或疾病的发展)和治愈性、治疗性或者改善病情性治疗,包括治愈、减缓、减轻症状和/或中止进程所诊断的病理病症或疾病的治疗措施;和治疗处于感染疾病风险或疑似感染疾病的患者,以及生病或已经诊断为患病或医学病症的患者。该术语并不必然意指对受试者进行治疗直到恢复。术语“治疗”和“处理”还指在未患病但可能意思发展成不健康病症如氮失调或者肌肉损失的个体中维持和/或促进健康。术语“治疗”、“处理”和“减轻”还意图包括强化或增强一种或多种基础预防性或治疗性措施。术语“治疗”、“处理”和“减轻”进一步意图包括疾病或病症的膳食管理或者预防或防止疾病或病症的膳食管理。

[0099] 如本文中所用的“管饲物”指不通过口服施用的施用给动物胃肠系统的完全或不完全营养产物或组合物,包括但不限于经鼻胃管、经口胃管、胃管、空肠造口术(jejunostomy)管(“J-管”)、经皮内窥镜胃造口术(“PEG”)、孔如提供通向胃的胸壁孔、空肠以及其他合适的进入孔。

[0100] 如本文中所用的术语“维生素”理解为包括对于身体的正常生长和活动以微量必须的任意多种脂溶性或水溶性有机物质(非限制性实例包括维生素A、维生素B1(硫胺素)、维生素B2(核黄素)、维生素B3(烟酸或烟酰胺)、维生素B5(泛酸)、维生素B6(吡哆醇、吡哆醛或吡哆胺或者盐酸吡多辛)、维生素B7(生物素)、维生素B9(叶酸)和维生素B12(多种钴维生素;在维生素补充剂中常见的氰钴胺素)、维生素C、维生素D、维生素E、维生素K、叶酸和生物素),并可以天然获自植物和动物食物或者合成制备的前维生素、衍生物、类似物。

[0101] 肠内营养

[0102] 对于口服不能满足其营养需求的个体,肠内营养是优选的营养递送方法。在没有特定医学考虑的情况下,可以将标准制剂通常地用于个体。这些制剂具有常量营养物和微量营养物内含物,其满足健康人群的建议,并通常是较好耐受的。在过去,由于管阻塞的问题,无纤维的肠内制剂是优选的,并且肠静息(bowel rest)的理念是有益的。由于几乎已经全部消除了由于纤维的阻塞问题,目前认为在此类制剂中可以包含纤维,以发挥对于该人群有利的许多有益的生理学作用。

[0103] 纤维的直接益处

[0104] 纤维增加了水含量和食物内容物的体积,使粪便通过肠的进程正常化。因此,膳食纤维有助于改进肠运动的规律性、促进软便的产生,并改善粪便排泄的容易度和控制性。此外,可溶的粘性纤维还具有许多代谢益处,包括降胆固醇作用。这些纤维的存在增加了肠内

含物的粘度并可以干扰胆汁酸在回肠中的吸收,造成粪便胆汁酸损失的增加。结果,LDL 胆固醇通过肝从血液中去掉并转变成胆汁酸以弥补损失。类似地,粘性纤维还可以削弱葡萄糖和胰岛素对营养摄入的应答。这些纤维可以增加胃的粘度,从而推迟胃排空。此外,食糜的粘度增加减缓了肠葡萄糖吸收的速率,并减低对胰岛素的需求。通过增加胃内含物的粘度,这些纤维还可以降低胃食道逆流、反刍和呕吐事件的次数,其改善了肠道喂饲的耐受性。

[0105] 纤维的间接益处

[0106] 在一般的成人肠中,大约存在 100 万亿个微生物。有益菌与病原菌之间的平衡对于维持正常的肠生理是极其重要的,因为这种平衡直接影响免疫功能以及营养摄入和吸收。根据定义,益生元物质是“选择性发酵的成分,其允许胃肠微生物区中的组成和 / 或活性二者的特定改变,对宿主健康状态和健康提供益处”。这通常指增加双歧杆菌属和 / 或乳杆菌属。益生元物质 (或者简称为益生元) 的益处包括 :

[0107] (1) 改善黏膜屏障功能,帮助阻止细菌到血流的移位 ;

[0108] (2) 促进有益的细菌并减少病原菌亚群 ;

[0109] (3) 产生 SCFA,例如丁酸,大肠中上皮细胞的主要能量来源 ;SCFA 还帮助调节 Na⁺ 和水吸收 ;和

[0110] (4) 通过肠免疫细胞与病原菌之间相互作用,改善宿主免疫力 ;。

[0111] 临床营养物中膳食纤维的益处

[0112] 在用无纤维肠内制剂的患者中,腹泻和便秘是常见的疾病。纤维已经表现出能正常化排便频率和通过时间,因此可以将纤维加入到制剂中以促进规律性。包括 51 个对纤维补充肠内制剂之研究的最新 Meta 分析发现,纤维施用降低了腹泻的发生率,并且当排便频率较低时,增加排便频率,其支持了纤维对肠功能的缓和效应 (moderating effect)。同样地,基于对腹泻、便秘和喂饲耐受性的益处,共识专家组建议如果没有禁忌症存在,可以在全部患者的饮食中包含纤维。参见 ESPEN,Guidelines 2006。纤维的其他益处包括改善肠屏障功能、结肠上皮增殖、增强流体和电解质吸收、减轻胃食道逆流、反刍和呕吐、改善肠道喂饲的耐受性并且有益于血糖控制和血脂参数。另一方面,偶有报道,纤维补充剂会造成胃肠副作用,例如肿胀和胃肠胀气。因此,重要的是包含的纤维类型和数量具有最小的胃肠副作用。

[0113] 因为已经普遍认为,不同的纤维发挥不同的健康作用,所以纤维掺和物的使用已经变得越来越常见。认为掺和物更类似于正常混合的饮食,并允许实现一系列生理效应。对于可溶性与不溶性纤维的比率,目前还没有官方建议,尽管据估计,在混合的饮食中,大约 30% 消耗的纤维是可溶的。

[0114] Nestle HealthCare Nutrition 的标准管饲纤维掺和物特别地旨在最大化健康益处,同时优化胃肠耐受性并确保可接受的粘度和流速。该掺和物通过提供 15g/L 纤维的制剂以及可溶性和不溶剂纤维的混合物满足了当前建议。该纤维掺和物的可溶性组分旨在构建并改善 Nestle' s Branded Active Benefit,PREBIO 1_{TM} 添加剂的现有科技成果和商标资产,所述纤维掺和物为低聚果糖 (FOS) 和菊粉的 70 : 30 掺和物,其是获自菊苣的低粘度、可溶性纤维。这些分子是含 β (2-1) 果糖基 - 果糖糖苷键的线性果聚糖。菊粉 (以 1.5g/L 包含) 指具有 > 10 的平均 DP 的分子,而 FOS (以 3g/L 包含) 具有更低的 DP,并可以作为

菊粉的水解产物获得或者通过用果糖或者果糖和葡萄糖合成而获得。

[0115] 已经将 FOS 和菊粉二者广泛地研究为益生元,在剂量低至 4g/ 天观察到双歧杆菌促进因子作用 (bifidogenic effect)。二者都可以容易地发酵,并表现出增加丙酸和丁酸的产生,所述丙酸和丁酸被认为对于结肠健康是最有益的。这些纤维具有一些膨胀特性,将 FOS 添加到肠内制剂中已经显示出减少便秘。菊粉和 FOS 还显示出有益于免疫功能。在每天消耗 6gFOS/ 菊粉掺和物的溃疡性结肠炎患者中降低了炎症和促炎症因子的表达,接受每天 8g FOS 的老年疗养院患者观察到由 T 淋巴细胞增加指示的免疫应答的改善。此外,这些纤维的掺和物 (8g/ 天以及更多) 已经主要在青少年和绝经后妇女中显示出增强的矿物质吸收,例如,钙、镁、锌或铁吸收,其导致更低的血压和更好的心血管健康,以及更好的骨矿化。然而,为了获得来自 FOS 的最好结果,每日摄取应当在每天 5 至 10 克之间,因为 15 克以上的剂量会因为过量的双歧杆菌属群体造成气体或者肠痉挛。已经发现,与单独使用任何一种比较,当使用 FOS/ 菊粉掺和物时,改善了归因于气体产生的 GI 耐受性。

[0116] 本公开提供了营养组合物,其具有的这些纤维的剂量低于显示出诱发肠不适的剂量,而仍赋予益生元益处。如在以下部分中所讨论,在本公开的营养组合物中添加 AG 使得能使用低剂量的菊粉和 FOS,同时增加总纤维含量并赋予更全面的益生元益处。

[0117] 标准管饲掺和物

[0118] 本公开提供了新的且经改进的组合物,其包含 70 : 30 比率的 FOS 和菊粉 (PREBIO1™) 和 1 : 1 比率的 FOS 和 AG。其提供了以不同速率发酵的一系列短链 (FOS)、中链 (菊粉) 和长链 (AG) 纤维,从而沿结肠的整个长度赋予益处。

[0119] AG 还称为阿拉伯树胶、金合欢树胶、阿拉伯胶或者印度树胶,是天然的、不粘的、可溶性纤维,其属于复合型阿拉伯半乳聚糖家族。AG 是由半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖和葡糖醛酸单元组成的高度分枝的高分子量分子。这种天然物质具有 300 至 800kDa 的平均分子量。其包含 95% 干重的多糖和 1-2% 的蛋白质 (取决于蛋白质的种类)。AG 由三种不同的部分组成,即 1% 糖蛋白、1-10% 阿拉伯半乳聚糖 - 蛋白质,以及 90-99% 阿拉伯半乳聚糖。与其他可溶性纤维相比,AG 是缓慢发酵的,并增加了 SCFA 的产生,并因此有益于远端结肠。当与每天 3g FOS 组合时,低剂量的 AG (3g/ 天) 表现为益生元。动物实验显示,AG 具有改善腹泻症状的能力,人类试验已经显示出对正常化肠功能具有作用。此外,将 5gAG 加入到膳食中已经显示出降低血糖应答,每天 25g 的长期消耗具有降脂作用。

[0120] 通常个体对 AG 具有非常高的胃肠耐受性,每天施用多达 70g 的情况下,在健康个体中也不会造成严重的副作用。已经发现,如在本公开的组合物中所提供的以 1 : 1 比率组合的 FOS 和 AG,与单独的 FOS 相比,减少了 GI 副作用例如胃气胀和胃不适,而同时赋予了协同的益生元益处。因此,AG 可以提供 FOS 的部分替代,以提供益生元益处而无耐受性问题。此外,AG 还可以保护 FOS 免于水解,并帮助降低大豆纤维和其他纤维例如豌豆外表纤维的粘度。据信 AG 在此类组合物中以与乳剂类似的方式发挥作用,以改善 FOS 的性能。因此,添加高度复合的大分子量 AG 改善了肠不适,同时增加了 FOS 纤维的益生元益处。

[0121] 在本公开的制剂中,AG 还提供了许多意料之外的益处。例如,已经发现本文所述量的 AG 保护 FOS 免于水解,因此使 FOS 在施用给个体后仍可以以活性形式保持。据信当其他纤维例如大豆纤维或者豌豆纤维存在时,AG 还辅助维持制剂粘度。AG 的其他优点包括其在水中的相对低粘度、其在室温的高溶解度、其中性味道、颜色和气味,以及其改善口感

并增强风味释放的能力（当与香料一起使用时）。

[0122] 在过去，菊粉和 FOS 的快速发酵与过多气体和 GI 不适相关，因此限制可以加入到产品中的益生元纤维的剂量。有利地，缓慢发酵的 AG 的使用允许在没有相关的 GI 不耐受的情况下递送更高剂量的益生元纤维。此外，以约 1 : 1 的比率使用 AG 和 FOS 的比率已经显示出促进协同的益生元作用以及增强胃肠耐受性，因此使得这种可溶性纤维的组合对于添加到肠内制剂中是理想的。

[0123] 肠内营养中主要的问题之一是在营养期间出现腹泻和其他胃肠副作用。据报道，接受了肠内营养的患者，具有大约 2% 至 67% 之间的腹泻率。参见 Patti Eisenberg, “An Overview of Diarrhea in the Patient Receiving Enteral Nutrition”, *Gastroenterology Nursing*, 25(3) :95-104(2002)。

[0124] 本公开的组合物使用具有一系列分子量（非常小至非常大）和发酵率（快速至慢速）的强益生元纤维，其允许 SCFA 产生和益生元作用沿结肠的整个长度维持。

[0125] FOS、菊粉和 AG 的量可以改变，只要它们在要求专利保护的比率内。如本文所述，FOS 或 AG 的量各自可以在 1.5-10g/L 的范围内，但也可以在 3-5.5g/L 之间。菊粉可以在 0.5-5g/L 之间，但也可以在 1-2.5g/L 之间。在要求专利保护的比率内使用的这些量被施用了该组合物的个体较好地耐受。

[0126] 在另一实施方案中，本公开的组合物还包含不溶性豌豆外表纤维。豌豆外表纤维是获自豌豆外壳的不溶性纤维，并可以以 5-10g/L 之间，或者 7-8g/L 之间或者约 7.5g/L 的量包含。豌豆外表纤维主要由富含阿拉伯糖的半纤维素、纤维素和果胶物质如糖醛酸组成。将 4g/ 天的豌豆外壳纤维加入到老年养老院居民的饮食中，与基线相比，显著增加排便频率并减少了对缓泻剂使用（梅干果泥 (prune puree) 施用）的需求。在人类和动物中还显示出增加粪便重量。还发现将豌豆外壳纤维 (10g) 加入到膳食中，降低了餐后血清胆固醇水平。

[0127] 加入不溶性纤维如豌豆外表纤维、大豆蛋白质、纤维素或半纤维素提供了规律性和粪便膨胀的益处。为了提供益生元纤维的有效剂量并优化 GI 耐受性和技术性能，可以将可溶性 / 不溶性纤维的比率设定为 50 : 50。表 1 中显示了该组合物的一个实施方案。在完全喂饲物中由掺和物提供的纤维的量符合若干专业协会设定的建议，例如：

[0128] (a) European Society for Parenteral and Enteral Nutrition (“ESPEN”) : 具有正常肠功能的患者，包括术前患者，可以受益于添加的纤维；10-15g 纤维 /L 是合适的最小量；

[0129] (b) Institute of Medicine (“IOM”) 和 American Dietetic Association (“ADA”) : 14g 纤维 /1000 千卡；和

[0130] (c) American Diabetes Association (“ADA”) : 15-25g 纤维 /1000 千卡。

[0131] 表 1 : 标准管饲掺和物（成人和儿科制剂）的比较

[0132]

纤维类型	1L 中的量(g)	1.5L 中的量(g) (完全喂饲物)
FOS	3	4.5
菊粉	1.5	2.25
阿拉伯树胶	3	4.5
豌豆外表纤维(纤维素、半纤维素和果胶的来源)	7.5	11.25
合计	15	22.5

[0133] *假定等热量的制剂 (1.0-1.2Kcal/mL)

[0134] 肾纤维混合物

[0135] 患晚期肾病的患者常遭受消化障碍,特别是便秘。大约 50% 患晚期肾病的患者遭受便秘。参见 Murtagh FEM, Addington-Hall J, Higginson IJ. The Prevalence of Symptoms in End-Stage Renal Disease :A Systematic Review. *Advances in Chronic Kidney Disease* 2007 ;14(1) :82-89。PHGG 是提取自瓜尔豆胶的独特水溶性膳食纤维。水解后,几乎消除了瓜尔豆胶的原始高粘度,使得其对于流体食物和营养制剂是理想的添加剂。数据支持了 PHGG 对肠规律性以及特别地便秘的益处。PHGG 的许多有益作用归因于其在结肠中完全发酵,其产生了比其他可溶性纤维显著更多的丁酸。参见 Velazquez M, Davies C, Marett R, Slavin J, Feirtag J, Effect of oligosaccharides and fibre substitutes on short chain fatty acid production by human faeca microflora. *Anaerobe* 2000 ; 6(2) :87-92。与其他在近侧结肠中快速发酵的可溶性纤维一样, PHGG 并不显著增加粪便重量。然而,许多研究显示, PHGG 有益于正常化肠功能、防止或减轻腹泻和便秘二者,特别是在接受肠内营养的患者和其他高风险人群中。参见 Slavin JL, Greenberg NA, 2003, Partially Hydrolyzed Guar Gnm :Clinical Nutrition Uses, *Nutrition* ;19 :549-552。

[0136] 在随机双盲临床试验中,评价了可溶性纤维 PHGG 对医学和手术患者中腹泻率的影响。100 名患者中的 30 名在上胃肠手术后接受了全肠内营养 (“TEN”), 70 名患者接受了 1000ml/ 天的补充肠内营养。在 15 名无纤维喂饲患者 (30%) 中和 6 名纤维喂饲患者 (12%) 中发生了腹泻 ($P < 0.05$)。在无纤维膳食组中,其中 40.6 天记录了患者遭受腹泻,在补充组中记录了 10.2 天 ($P < 0.05$, $P < 0.05$)。与补充组相比,在接受了 TEN 的无纤维组患者中显著更经常地发生由于 GI 副作用的肠内营养退出。PHGG 的使用在全肠内营养以及补充肠内营养的患者中降低了发生腹泻的比率。然而,当腹泻在接受补充纤维的肠内营养的患者中发生时,持续时间更短。

[0137] 在通过灌肠剂处理的患便秘的长期护理居民的研究中,每日补充 PHGG (18g) 导致在基线具有更高灌肠剂使用的居民中对灌肠剂需求的显著减少。参见 Soriano CV, Hibler KD, Maxey KI, Long-term fiber intervention program :reduction in enema use at a developmental care facility, *Journal of the American Dietetic Association* 2000S ;100(9) :A82。此外, PHGG (每天 8-12g) 减少了便秘的发生,并在每天服用缓泻药的

老年疗养院居民中显著降低了缓泻药使用。参见 Patrick P, Gohman S, Marx S, DeLegge M, Greenberg N, Effect of Supplements of Partially Hydrolyzed Guar Gum on the Occurrence of Constipation and Use of Laxative Agents, Journal of the American Dietetic Association 1998 ;98(8) :912-914。类似地,每日摄取 11g PHGG 增加了患便秘妇女肠运动的频率。参见 Takahashi H, Yang S, Hayaski C, Kim M, Yamanaka J, Yamamoto T, Influence of partially hydrolyzed guar gum on constipation in women, Journal of Nutritional Science and Vitaminology 1994 ;40 :251-259。PHGG 显示出降低肠激惹综合征的症状,以及增加肠中双歧杆菌属的产生。

[0138] 此外, PHGG 的使用在患肠激惹综合征 (“IBS”) 的成年人中还显示出减轻腹痛和改善排便习惯。在该研究中的大多数受试者都具有便秘为主的 IBS。与接受麦麸的受试者相比,每天接受 5g PHGG 的受试者报道了更多的主观改善。参见 Parisi G, Zilli M, Miani M 等人, High-fiber diet supplementation in patients with irritable bowel syndrome (IBS) :a multicenter, randomized, open trial comparison between wheat bran diet and partially hydrolyzed guar gum (PHGG), Dig Dis Sci 2002 ;47(8) : 1697-704。

[0139] 已经研发了许多组合物。如本文中所用,称为“肾纤维掺和物”的组合物并非意图限于肾病患者 ;其意图用于可以受益于该掺和物的那些患者群。例如,肾纤维掺和物还赋予血糖控制益处,因此在一个实施方案中,意图用于患急性或慢性肾衰竭的患者,所述患者通常还具有应激诱导的高血糖症或者糖尿病。备选地,因为肾纤维掺和物赋予血糖益处,所以其在一个实施方案中意图用于患高血糖症或糖尿病但不具有急性或慢性肾衰竭的患者。在一个实施方案中,本公开的组合物是另外包含 PHGG 的肾纤维掺和物。在一个实施方案中,本公开的肾纤维掺和物包含 3-5.5g/L FOS、1-2.5g/L 菊粉、3-5.5g/L AG 和 0-10g/L PHGG。

[0140] 在另一实施方案中,本公开的肾纤维掺和物包含 4.12g/L FOS、1.76g/L 菊粉、4.12g/L AG 和 7g/L PHGG。

[0141] 又在另一实施方案中,本公开的肾纤维掺和物包含 4.12g/L FOS、1.76g/L 菊粉、4.12g/L AG 和 5g/L PHGG。

[0142] 在另外的实施方案中,本公开的肾纤维掺和物包含 4.12g/L FOS、1.76g/L 菊粉、4.12g/L AG 和 2.6g/L PHGG。

[0143] 在另外的实施方案中,本公开的肾纤维掺和物包含 4.0g/L FOS、1.76g/L 菊粉和 4.0g/L AG。

[0144] 本公开的营养组合物还可以以液体形式制备。尽管水是其它组分最常见的载体,但当口服施用此类组合物时,还考虑将其它液体例如奶、果汁、咖啡、茶或者其它饮料加入到组合物中。通常将水用于其它肠内制剂。

[0145] 本公开还提供了干粉制剂。这些粉末制剂可以通过组合干粉成分制备,或者它们可以由本文所述的液体营养组合物中的一种制备。通常,使用喷雾干燥、冷冻干燥或其它干燥技术,通过干燥液体营养组合物制备粉末制剂。根据需要,可以在干燥前,将其它营养成分或组合物加入到液体中,以为粉末制剂提供增强的营养益处。此类粉末制剂具有更长的保质期并可以包装以储存和运输适合于将来使用。在那时,可以用水或其它流体重构粉末制剂并经口施用给个体。可以在多种容器中包装粉末制剂,包括那些用于大量贮备此类粉

末制剂的容器,以加入到玻璃杯、瓶或者其它含流体容器中的液体中,或者可以将在容器中存在的粉末提供为一份,向其中加入水或其它流体以形成口服施用的液体。

[0146] 还考虑将多种常规添加剂包含于本公开的液体制剂中。例如,可以以常规量包含多种香料、维生素、矿物质、抗氧化剂、防腐剂或者有益健康的添加剂,用于其常规目的。

[0147] 还可以将本公开的组合物施用给个体以增加益生菌稳定性 (probiotic stability)。该益处对于粉末产品是特别有用的,以使当个体想要消耗该产品辅助维持益生菌稳定性时,可以重构该粉末营养组合物。

[0148] 本公开的营养组合物通常用于促进肠道微生物群健康。实验数据已经显示,当肠内提供时,本公开的营养组合物是较好耐受的。特别地,本营养组合物与 PREBIO1™ 相比,提供了改善的耐受性,以及增加的益生元益处。

[0149] 本公开的组合物可以包括作为在肠内制剂中使用的部分或完全营养组合物,所述肠内制剂的施用为 HIV、重症监护病房 (“ICU”) 和儿科患者提供营养,以及改善肠健康。已经发现,在此类患者中改善了追赶重量增加,最可能归因于组合物改善的耐受性。还认为由于在使用该组合物后实现了微生物 (microbiotic) 平衡改善,所以提高了个体的免疫力。

[0150] 本公开的营养组合物还可以用于改善导致 GI 疾病的多种治疗的耐受性,例如放疗、化疗、抗生素、腹泻处理、胃肠手术、麻醉和镇痛药。该营养组合物还可以赋予全身益处,例如赋予住院儿童更好的追赶生长。

[0151] 还可以施用本公开的营养组合物以辅助患者驱动 Na/H₂O 或矿物质在其肠中的吸收,以及正常化通过时间。在改善肠功能中的这些改善还导致减少了用于不同治疗所施用的多种药物的副作用,因为此类药物从个体中更有效地排出。认为这些改善至少部分归因于 AG 能在患者肠中提供更大量的丁酸的能力。与果胶、麦麸、ispaghula 或纤维素相比,AG 提供了更大量的丁酸。相反,FOS 主要产生乙酸而不是丁酸,乙酸通过肝代谢。菊粉和 PHGG 也产生丁酸。丁酸是有利的,因为它们是结肠细胞产生细胞增殖的主要燃料。丁酸还降低结肠 pH 以抑制病原菌的生长。这产生了帮助保护肠屏障的抗炎症益处。

[0152] 对于老年患者,例如那些大于 65 岁年龄的患者,本公开营养组合物的施用能使此类患者以对该类制剂更大的耐受性实现可接受的营养水平和喂饲目标。对于住院患者,喂饲目标的实现和足够营养的提供通常导致减少住院时间、对喂饲要求的顺应性增加,以及减少的并发症如腹泻或便秘。对于患者和保险人二者,减少的住院时间导致花费的减少。

[0153] 本公开营养组合物的施用还最小化由于个体年龄增长产生的肠道微生物群的负进化。这使得接受此类组合物的个体尽管年龄增长仍可以更长期地维持健康的微生物群水平。此外,减少了梭菌属,同时增加双歧杆菌属。

[0154] 本文所公开的本营养组合物的施用还可以增强个体的免疫系统。具体而言,减少了艰难梭菌,同时增加了 T 细胞功能和 GALT。增加了个体的适应性免疫 sIgA 和先天免疫,使得个体抗疾病的能力增加。本组合物所赋予的特定集群作用提供了独特的上调作用,以使炎症细胞因子导致瘦体重降低,GLP-1 和 GLP-2 导致胰岛素抵抗增加,并降低 TH1/TH2 不平衡。认为这些益处在此类个体中导致了更好的移植耐受性。

[0155] 又另一方法涉及通过在个体的肠和结肠中增加维生素和营养物的吸收,在有需要的患者中改善骨生长或防止骨退化。该方法包括给患者施用有效量的本文中所公开的营养组合物之一,以增加营养物如维生素 D、锌或者钙的吸收,来帮助改善骨组分和功能。

[0156] 本公开的另一方法涉及通过增加个体的肠和结肠中营养物的吸收,增强患者的肌肉质量。该方法包括给想要增强肌肉质量和增加吸收的个体施用有效量的本文中所公开的营养组合物之一,以在个体中特定增加营养物例如叶酸、维生素 D、镁或 B12,来帮助肌肉生长、防止肌肉质量消耗或者改善肌肉质量恢复。

[0157] 通过施用有效量的本文公开的营养组合物之一,可以改善个体的代谢。这使得个体能增强微营养物吸收,能改善此类微营养物的生物利用率、或提供更多的热量摄入。其可以提供许多好处,因为在该改善吸收的情况下,个体能具有更好的清晨开端。此外,还可以将其用于治疗肥胖,因为接受该组合物的个体会具有饱腹感 (fuller feeling) 或饱胀感 (satiety) 以避免过度饱食。其还可以导致减少热量摄入,同时还提供持久的能量,以使个体能在施用组合物后参加燃烧热量的锻炼或其它活动。

[0158] 该组合物还用于在需要糖尿病治疗的患者中治疗糖尿病。施用本文公开的营养组合物之一可以降低胰岛素抵抗、减少血糖波动或者降低 CVD 风险。

[0159] 示例性实施例

[0160] 本公开的一个实施方案是用于施用给个体的营养组合物,包括以重量计 35-44% 的低聚果糖 (FOS);以重量计 38-50% 的多糖;和以重量计 12-24% 的菊粉。FOS 和多糖可以以 62 : 38 至 38 : 62 的重量比存在,并且 FOS 和菊粉可以以 82 : 18 至 58 : 42 的重量比存在。在另外的实施方案中,FOS 为以重量计 40-42%。在另外的实施方案中,FOS 为以重量计约 41%。在另一实施方案中,多糖是 AG。在另一实施方案中,多糖为以重量计 40-50%。在另一实施方案中,多糖为以重量计约 41%。在另一实施方案中,AG 为以重量计 40-42%。在另一实施方案中,AG 为以重量计约 41%。在另一实施方案中,菊粉为以重量计 15-21%。在另一实施方案中,菊粉为以重量计 18%。在另一实施方案中,营养组合物包含:以重量计 40-42% 的 (FOS);以重量计 40-42% 的 AG;和以重量计 15-21% 的菊粉。在另一实施方案中,营养组合物包含:以重量计 41% 的 (FOS);以重量计 41% 的 AG;和以重量计 18% 的菊粉。在另一实施方案中,FOS 和多糖以 55 : 45 至 45 : 55 的重量比存在。在另一实施方案中,FOS 和多糖以 1 : 1 的重量比存在。在另一实施方案中,FOS 和菊粉以 76 : 24 至 64 : 36 的重量比存在。在另外的实施方案中,FOS 和菊粉以 7 : 3 的重量比存在。在另一实施方案中,多糖是阿拉伯半乳聚糖,且 FOS 以 3-5.5g/L 的量存在、阿拉伯半乳聚糖以 3-5.5g/L 的量存在,且菊粉以 1-2.5g/L 的量存在。在另一实施方案中,营养组合物另外包含多达 10g/L 的 (PHGG)。在另一实施方案中,阿拉伯半乳聚糖是 AG,且 FOS 和 AG 各自以 4.12g/L 的量存在、菊粉以 1.76g/L 的量存在,且 PHGG 以 7g/L 的量存在。在另一实施方案中,阿拉伯半乳聚糖是 AG,且 FOS 和 AG 各自以 4.12g/L 的量存在、菊粉以 1.76g/L 的量存在,且 PHGG 以 5g/L 的量存在。在另一实施方案中,阿拉伯半乳聚糖是 AG,且 FOS 和 AG 各自以 4.12g/L 的量存在、菊粉以 1.76g/L 的量存在,且 PHGG 以 2.6g/L 的量存在。在另一实施方案中,(FOS) 为以重量计 35% 的量;多糖为以重量计 50% 的量;和菊粉为以重量计 15% 的量。在另一实施方案中,(FOS) 为以重量计 35% 的量;AG 为以重量计 50% 的量;和菊粉为以重量计 15% 的量。

[0161] 此外,应当理解,从化学角度而言,尽管瓜尔豆胶是多糖,并且尽管至少一小部分 PHGG 仍是多糖,但当前要求专利保护的营养组合物中所包含的“多糖”并不包括 PHGG。备选地,除多糖外,可以加入 PHGG,以使例如在没有同时加入 AG 和 PHGG 的情况下获得 38-50%

的多糖。备选地,除 38-50%的多糖外,还可以将 PHGG 加入到营养组合物中。

[0162] 在一个实施方案中,营养组合物以可以在个体中有效增强消化功能的量另外包含至少一种不溶性纤维,其中所述至少一种不溶性纤维是大豆纤维、豌豆外表纤维或者它们的组合。在营养组合物的实施方案中,可溶性纤维和不溶性纤维以 1.5 : 1 至 1 : 1.5 的比率存在,且 FOS 和 AG 以 2.5-3.5g/L 的总量存在、菊粉以 1.25-1.75g/L 的量存在,且大豆纤维和豌豆外表纤维各自以 3.25-4.25g/L 的量存在。在营养组合物另外的实施方案中,可溶性纤维和不溶性纤维以 1.25 : 1 至 1 : 1.25 的比率存在。在营养组合物另外的实施方案中,可溶性纤维和不溶性纤维以 1 : 1 的比率存在。在营养组合物另外的实施方案中,FOS 和 AG 以约 3g/L 的总量存在。在营养组合物另外的实施方案中,菊粉以约 1.5g/L 的量存在。在营养组合物另外的实施方案中,大豆纤维和豌豆外表纤维各自以约 3.75g/L 的量存在。

[0163] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含抗氧化剂。

[0164] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含鱼油或非海洋鱼油例如藻类。

[0165] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含 DHA、EPA 或者它们的组合。

[0166] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含维生素、矿物质或者它们的组合。

[0167] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含植物营养物。

[0168] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含蛋白质。

[0169] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含脂肪。

[0170] 在一个实施方案中,营养组合物另外包含益生菌。

[0171] 在一个实施方案中,营养组合物是干粉制剂。在另一实施方案中,可以通过将组合物之一制备为液体并通过本领域已知的方法之一、包括喷雾干燥、冷冻干燥或者其它干燥技术制备营养组合物,以产生干粉组合物。在另外的实施方案中,在干燥前将营养组分或组合物加入到液体中,以为粉末组合物提供增强的营养益处。在另外的实施方案中,通过将制剂与液体结合、通过重构权利要求 35-37 的干粉制剂之一获得营养组合物。

[0172] 在一个实施方案中,营养组合物是完全营养的。在一个实施方案中,营养组合物是不完全营养的。

[0173] 在一个实施方案中,将营养组合物用于促进肠微生物群平衡和健康的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给可以受益于该治疗的个体。

[0174] 在一个实施方案中,将营养组合物用于改善患者对导致胃肠道疾病的多种医学处理耐受的方法,此类处理包括放疗、化疗、胃肠手术、麻醉、抗生素、镇痛药的施用或者对腹泻的治疗。该方法包括将有效量的营养组合物施用给此类患者。

[0175] 在一个实施方案中,将营养组合物用于赋予儿童益处例如追赶生长的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给此类儿童。

[0176] 在一个实施方案中,将营养组合物用于减少患者住院时间的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给住院患者,以使此类患者以对此类制剂更大的耐受性实现可接受的营养水平和喂饲目标,以因此增加对喂饲要求的顺应性,并减少并发症如腹泻或便秘,以反过来改善患者的条件,从而减少住院时间。在另外的实施方案中,患者是成年人和老年人。

[0177] 在一个实施方案中,将营养组合物用于最小化在老年个体中由于年龄增长所致的

肠道微生物群负进化的方法中,其通过将有效量的营养组合物使用给此类个体,以使此类个体尽管年龄增长仍可以更长期地维持健康的微生物群水平。在另外的实施方案中,该方法包括减少梭菌属。在另外的实施方案中,该方法包括增加双歧杆菌属。

[0178] 在一个实施方案中,将营养组合物用于在患者结肠中增加丁酸产生的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给患者,以与不含 AG 的制剂相比增加丁酸产生、在结肠中产生细胞增殖并降低结肠 pH 以抑制病原菌的生长。在另外的实施方案中,该方法导致了抗炎症益处,其帮助保护患者肠屏障。在另外的实施方案中,该方法导致了更好的矿物质吸收。在另外的实施方案中,该方法导致正常化胃肠通过时间。在另外的实施方案中,该方法导致腹泻的减少。在另外的实施方案中,该方法导致便秘的减少。

[0179] 在一个实施方案中,将营养组合物用于提高个体免疫系统的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给需要刺激其免疫系统的个体。在另外的实施方案中,经刺激的免疫系统减少了病原微生物如艰难梭菌。在另外的实施方案中,经刺激的免疫系统包含改善的 T 细胞功能。在另外的实施方案中,经刺激的免疫系统包含改善的 GALT 功能。在另外的实施方案中,经刺激的免疫系统包含增加的 sIgA 产生。在另外的实施方案中,经刺激的免疫系统增加了个体抵抗疾病的能力。

[0180] 在一个实施方案中,将营养组合物用于改善器官移植耐受性的方法,其通过将有效量的营养组合物施用给已经接受了移植物的个体,以赋予其中特定的集群作用,其提供了独特的下调。在另外的实施方案中,上调导致炎症因子减少,导致瘦体重增加。在另外的实施方案中,上调导致胰岛素经 GLP-1 和 GLP-2 释放的增加。在另外的实施方案中,上调导致 TH1/TH2 不平衡的减少。

[0181] 在一个实施方案中,将营养组合物用于在有需要的患者中改善骨生长或防止骨退化的方法,其通过在个体的肠和结肠中增加维生素和营养物的吸收。该方法包括将有效量的本文公开的营养组合物之一施用给患者,以增加营养物如维生素 D、锌或钙的吸收,来帮助改善骨成分和功能。

[0182] 本公开的另一方法涉及通过在个体的肠和结肠中增加营养物的吸收来增强患者的肌肉质量。该方法包括将有效量的本文公开的营养组合物之一施用给需要该增强的肌肉质量和增加的吸收的个体,以在个体中特定增加营养物例如钙、维生素 D、叶酸、镁或 B12 的吸收,来帮助肌肉生长、防止肌肉质量消耗或者改善肌肉质量恢复。

[0183] 在一个实施方案中,将营养组合物用于在个体的肠和结肠中增加维生素和营养物吸收的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给需要该增加吸收的个体,以在个体中特定增加维生素或钙以及其它矿物质或维生素和矿物质的吸收。在另外的实施方案中,维生素是维生素 D、叶酸、B12 等。在另外的实施方案中,矿物质至少是镁或钙。在另外的实施方案中,该方法帮助肌肉生长。在另外的实施方案中,该方法防止肌肉消耗。在另外的实施方案中,该方法改善疾病或损伤后的肌肉质量恢复。

[0184] 在一个实施方案中,将营养组合物用于改善个体的代谢的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给需要该改善的代谢的个体。在另外的实施方案中,该方法增强微营养物吸收。在另外的实施方案中,该方法改善微营养物的生物利用率。在另外的实施方案中,该方法提供了更多的热量摄入。在另外的实施方案中,该方法提供了更多的热量摄入,以使个体能具有更好的清晨开端。在另外的实施方案中,该方法包括提供饱胀感。在另外

的实施方案中,该方法提供了饱胀感,以避免过度饱食。在另外的实施方案中,该方法提供了饱胀感,以减少热量摄入。在另外的实施方案中,该方法提供了饱胀感,以治疗肥胖。在另外的实施方案中,在此种施用后,该方法提供了持续的能量。

[0185] 在一个实施方案中,将营养组合物用于在可受益于该治疗的患者中治疗糖尿病的方法。该方法包括将有效量的营养组合物施用给此类患者。在另外的实施方案中,该方法降低胰岛素抵抗。在另外的实施方案中,该方法降低血糖波动。在另外的实施方案中,该方法降低 CVD 风险。

[0186] 本公开的一个实施方案包括多糖如树胶在包含 FOS 和菊粉的营养组合物中的用途,用于施用给个体以提供其营养,其中多糖以当施用给个体时有效提供这类营养组合物更大耐受性的量存在,多糖、FOS 和菊粉以本文公开的量存在。在另外的实施方案中,多糖是 AG。

[0187] 本公开的一个实施方案包括多糖如树胶在制备营养组合物中的用途,所述营养组合物用于在个体中促进肠微生物群平衡和健康,其中营养组合物还以本文公开的量包含 FOS 和菊粉。在另外的实施方案中,多糖是 AG。

[0188] 在一个实施方案中,将营养组合物用于使用有效量的营养组合物用于长期施用的方法中。

[0189] 在一个实施方案中,将营养组合物用于使用有效量的营养组合物用于短期施用的方法中。

[0190] 在一个实施方案中,将营养组合物用于使用有效量的营养组合物用于管饲施用的方法中。

[0191] 在一个实施方案中,将营养组合物用于调节通过胃肠道产生或者通过胃肠道调节的激素的方法,包括给可受益于该方法的个体施用有效量的营养组合物。在另外的实施方案中,在个体中减少了炎症激素。在另一实施方案中,增加了个体健康状态的感觉。在另外的实施方案中,增加了血清素。在另外的实施方案中,血清素导致个体中改善的睡眠模式。在另外的实施方案中,血清素导致个体改善的睡眠质量。在另外的实施方案中,血清素导致抑郁的减少。在另外的实施方案中,血清素导致食欲的正常化。在另外的实施方案中,改善了认知。

[0192] 在一个实施方案中,将营养组合物用于改善儿科患者中细菌平衡的方法,其通过给可受益于此的个体施用有效量的营养组合物,其中减少了 TH1/TH2 不平衡,TH1/TH2 不平衡偏向于 TH2 亚集。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致过敏发生率减少。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致特异性皮炎的发生率减少。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致哮喘的发生率减少。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致食物过敏的发生率减少。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致中耳炎的发生率减少。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致病毒感染的发生率的减少。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致自身免疫疾病的发生率减少。在另外的实施方案中,减少的 TH1/TH2 不平衡导致过敏性鼻炎的发生率减少。

[0193] 在一个实施方案中,将营养组合物用于给患肾疾病的患者提供营养的方法。该方法包括给该患者施用有效量的营养组合物。在另外的实施方案中,患者是肾衰竭。在另外的实施方案中,患者经历透析处理。

[0194] 在一个实施方案中,将营养组合物用于处理至少一种炎症病症的方法,其通过给个体患者施用有效量的营养组合物。在另外的实施方案中,炎症病症是预防炎症疾病。在另外的实施方案中,炎症病症是胃肠炎症。在另外的实施方案中,炎症病症是炎性肠病(“IBD”)。

[0195] 在一个实施方案中,将营养组合物用于导致保健开支花费减少的方法。在另外的实施方案中,保健开支花费的减少归因于在医院停留时间的减少。在另外的实施方案中,保健开支花费的减少归因于在疗养院停留时间的减少。在另外的实施方案中,保健开支花费的减少归因于并发症减少。在另外的实施方案中,保健开支花费的减少归因于腹泻的发生率减少。在另外的实施方案中,保健开支花费的减少归因于便秘的发生率减少。在另外的实施方案中,保健开支花费的减少归因于憩室炎的发生率的减少。

[0196] 为说明和描述的目的,提供了对本公开多个方面的以上描述。其并非旨在穷举或将本公开限制于本文所公开的精确形式,并且显而易见地,可以进行许多修饰和变化。对本领域技术人员显而易见的此类修饰和变化包含在所附权利要求定义的本公开范围内。

实施例

[0197] 实施例 1:儿科重症监护病房(PICU)中含益生菌和益生元的肠内制剂:耐受性、安全用途和肠生态学

[0198] 背景

[0199] 该项目旨在用创新的营养理念革新补充剂,以增加在生长和保护(加强儿童抵抗力)益处领域中产品的价值主张。

[0200] 为此,使制剂富含两种益生菌副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*) NCC2467(ST11)和长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) NCC3001(Bb536)的掺和物,PREBIO1™:AG和DHA的独特组合。

[0201] 为证实耐受性/安全性和健康护理方面的益处,发起临床试验:

[0202] 临床试验

[0203] 在Nakhon Ratchasima,泰国,用在儿科重症监护病房(“PICU”)需要机械通气和肠道喂饲的94名住院儿童进行临床试验。该研究持续进行几乎3年。耐受性/安全性分析考虑了热量摄入的整体百分比和实现目标热量摄入的时间二者,而效益分析评价了粪便微生物区组合,包括菌株NCC2461(ST11)和NCC 3001(BB536)的存在。

[0204] 方法

[0205] 其是双盲、对照的随机临床试验。研究了两种产品,实验产品和对照产品。

[0206] 实验产品(New Nutren Junior)

[0207] 具有益生菌NCC2461/NCC3001+益生元(PREBIO1™+AG)+DHA的肠内制剂。

[0208] 对照产品(Nutren Junior)

[0209] 未添加益生菌和益生元或者DHA的等热量和等蛋白质制剂。

[0210] 结果

[0211] 94名患者随机进行治疗,全部患者都至少在一天摄入了一些研究产品。88名患者具有3天以上的肠内喂饲(PP数据集(data set))。

[0212] 耐受性/安全性分析

[0213] 热量摄入的整体百分比

[0214] 通过汇总可利用天中 24 小时施用的总量,除以天数,乘以重量,乘以 70kcal/kg/天,计算住院期间热量摄入的整体百分比。对每一受试者都进行计算。通过 Wilcoxon 秩-和检验分析热量摄入的整体百分比,根据 Hodges-Lehman 计算置信区间。统计学总结和处理差异显示在表 2 中。

[0215] 表 2 :热量摄入的整体百分比和处理差异的统计学总结。对于统计学总结,显示了中位数和四分位数,对于处理差异,显示了假中位数和双侧 95%置信区间。全部指 PP 数据集。

[0216]

数据集									
	New Nutren Junior			Nutren Junior			95% CI		
	中位数	25%	75%	中位数	25%	75%	Δ	下限	上限
PP	76.2	65.3	84.3	75.1	69.2	83.6	0.3	-7.1	7.9

[0217] 双侧 95%置信区间从 -7.1%至 7.9%整体热量摄入。置信区间的下边界 -7.1%大于定义为显著差异的 -15%。因此,证明两种产品之间不存在优劣性 (non inferiority)。

[0218] 实现目标热量摄入的时间

[0219] 实现目标每日热量摄入的时间是当每日能量摄入 (“DEI”) 通过 100%时的时间。因为不预计儿童会在一定日期达到精确的 100%,所以每一儿童的该时间通过 100%之前的日期和测量 100% DEI 之后的日期之间的线性内推法计算。检查在 7 天管饲期间没有达到每日热量目标的儿童。如在表 1 中显示的 Kaplan Meier 图所示,在 7 天期间,在测试和对照组中,分别有 36%和 29%的儿童没有达到热量目标。在测试和对照组中,实现热量目标的中位数时间分别为 5.10 天和 5.03 天。时间差异为 1 小时,95%置信区间为从 29 小时至 61 小时。这进一步显示,两种测试产品之间不存在优劣性。

[0220] 还通过对数秩检验分析了实现热量目标的时间。p 值为 0.67。表 3 通过处理组显示了实现目标的中位数时间。

[0221] 表 3 :对实现热量目标的时间的统计学总结。显示了中位数时间和双侧 95%置信区间。全部指 PP 数据集。

[0222]

95% CI					
	n	事件	中位数	下限	上限
New Nutren Junior	44	28	5.10	4.64	∞
Nutren Junior	44	30	5.03	4.46	6.14

[0223] 通过健康状态的一般改善和耐受性参数作为支持性证据 (腹胀、呕吐、粪便频率 / 腹泻等等),解决了安全性。鉴于如上所示的 4 种参数,发现含益生元和益生菌的肠内制剂的使用是安全的。

[0224] 根据临床记录,来自两组的患者都从病危中得到了恢复,并最终在常规临床实践的时间范围内允许从PICU离开(最多住院后+/-7天)。此外,在研究期间研究者没有报道与产品相关的副作用,支持了所测试产品的安全性。

[0225] 益生元效益分析

[0226] 选择粪便微生物区组成为反映该危及情况(在抗生素治疗下具有高感染风险的患者)中肠平衡的关键参数。测量了以下细菌:双歧杆菌属、乳杆菌属、拟杆菌属/卟啉单胞菌属(*Porphyromonas*)/普氏菌属(*Prevotella*)、肠杆菌科(family of *Enterobacteriaceae*)、产气荚膜梭菌和肠球菌属。表4中显示了平均值(log 10)。

[0227] 表4:细菌家族的统计学总结(log 10 标度),PP数据集。其中n为受试者数目,n > 具有超过检测限的测量的受试者的DL数目,p > 具有超过检测限的测量的受试者的DL百分比。

[0228]

		Nutren Junior						New Nutren Junior					
		n	n>DL	p>DL	最小值	平均值	最大值	n	n>DL	p>DL	最小值	平均值	最大值
双歧杆菌属	基线	40	32	80 %	5.00	7.72	9.95	43	35	81 %	3.00	7.01	10.11
	7天	39	28	71 %	3.00	7.03	10.00	41	27	65 %	3.00	7.36	9.60
	14天	36	25	69 %	5.00	7.20	9.52	37	30	81 %	5.00	7.76	9.78
乳杆菌属	基线	40	38	95 %	3.48	5.84	9.40	44	42	95 %	3.00	5.56	8.48
	7天	39	38	97 %	3.30	6.03	9.27	42	40	95 %	3.48	5.86	9.95
	14天	36	35	97 %	3.00	5.81	9.16	38	36	94 %	4.11	6.56	8.85
拟杆菌属	基线	40	37	92 %	6.20	8.75	10.43	44	42	95 %	5.00	8.57	10.28
	7天	39	38	97 %	5.00	8.56	10.30	42	39	92 %	5.60	8.62	10.36
	14天	36	34	94 %	5.00	8.47	10.23	38	35	92 %	5.00	8.86	10.11
肠杆菌属	基线	40	38	95 %	3.48	7.92	9.70	44	40	90 %	3.30	7.57	9.30
	7天	39	36	92 %	4.45	7.62	9.48	42	39	92 %	3.00	6.61	9.95
	14天	36	34	94 %	3.00	7.46	8.85	38	38	100 %	3.00	7.08	9.30
产气荚膜梭菌	基线	40	13	32 %	3.48	5.50	7.60	44	14	31 %	3.00	4.58	5.95
	7天	39	7	17 %	3.48	4.69	7.85	42	4	9 %	3.48	3.73	3.95
	14天	36	11	30 %	3.00	4.57	7.48	38	11	28 %	3.00	4.47	6.15
肠球菌属	基线	40	37	92 %	3.70	6.72	9.29	44	41	93 %	3.00	6.25	9.23
	7天	39	34	87 %	3.48	7.49	9.45	42	38	90 %	3.00	7.08	9.67
	14天	36	32	88 %	4.43	7.30	9.33	38	36	94 %	3.00	7.22	9.82

[0229] 在双歧杆菌属内,通过特异PCR鉴定了菌株长双歧杆菌NCC 3001,在乳杆菌属内,也通过特异PCR鉴定了菌株副干酪乳杆菌(副干酪乳杆菌)NCC 2461。在PICU停留期间,在18% 84%接受具有益生元和益生菌的肠内制剂的患者中鉴定到了NCC 3001和NCC 2461菌株。

[0230] 在第7天和第14天,以相对于基线的改变的分值表示的对照组和测试组之间双歧杆菌属的差异为0.17log₁₀ CFU/mg和1.43log₁₀ CFU/mg。第14天的差异是统计学显著的,p = 0.013。不应将双歧杆菌属的增加仅归因于测试产品中含有的双歧杆菌属菌株,而还可能反映了产品中添加的益生元混合物(PREBIO1™+AG)的另外的双歧杆菌促进因子作用。乳杆菌属的差异遵循相同的趋势(并不显著),在补充期的最后(第14天)具有这样

的水平,与对照相比,测试组中高 0.75log。在两处理组中,拟杆菌属和肠球菌属水平的平均值保持不变。

[0231] 随着住院时期 (PICU),在两组中都存在产气荚膜梭菌水平的持续降低。对肠杆菌属 (Enterobacteria) 也进行了相同的观察。尽管统计学上不显著,但用测试产品喂饲后,后者的作用更明显 (在第 7 天,大约 1log 降低)。

[0232] 结论

[0233] 结果显示,用包含 PREBIO1™ 和 AG 二者的补充剂的肠内喂饲比已经上市的仅包含 PREBIO1™ 的 Nutren Jr. 更好耐受。此外,与 Nutren Jr. 比较,New Nutren Jr. 更有效地不仅促进了尤其包含已知病原体 (肠杆菌属、梭菌属) 的细菌群体的降低,还增加了被认为是有益作用的微生物群体 (双歧杆菌属),因此在生病儿童中正向平衡了微生物群组成。

[0234] 实施例 2 :PICU 中含益生菌和益生元的肠内制剂 :耐受性、安全用途和肠生态学

[0235] 背景

[0236] 住院婴儿营养不良和肠微生物群整体混乱是造成腹泻的急性发作以及长期携带医院感染的肠病原体来源的条件。

[0237] 目标

[0238] 本研究旨在证实含益生菌和益生元的肠内制剂的耐受性,其在 PICU 中使用的安全性及其支持肠细菌生态学的的能力。

[0239] 设计 / 方法

[0240] 将需要机械通气和肠内喂饲的 94 名 1-3 岁之间的 PICU 患者随机分为接受含益生菌、益生元和 DHA 的测试制剂或者对照等热量和等蛋白质制剂。将患者在 PICU 保留 7 天并在第 14 天进一步检查。首要目标是评价耐受性,通过到热量目标的进程测量,第二目标是测定安全性用途和肠道微生物群的改善。

[0241] 结果

[0242] 两种制剂之间不存在整体热量摄入差异。在测试组中,达到热量目标的中位数时间为 5.1,在对照组中为 5.03 ($p = 0.67$)。对于安全性,来自两组的患者都在当前临床实践的时间框架内从病危中恢复并离开 PICU。作为安全使用肠内制剂的支持性证据,在两种测试产品之间没有观察到腹胀、呕吐、粪便频率 / 腹泻的差异。此外,在任何一组中都没有观察到副作用。

[0243] 在第 14 天,双歧杆菌属在对照组中消失,而它们在测试组中增加,达到了统计学显著差异 ($P = 0.013$)。对于乳杆菌属,观察到了类似的趋势,其水平在测试组中比对照 (NS) 高 0.75log。从 84% 的病例的粪便中回收到了研究中使用的益生菌副干酪乳杆菌 NCC2461。长双歧杆菌 NCC3001 菌株即第二益生菌仅在 18% 的病例中回收到。拟杆菌属和肠球菌属保持不变。在两组中都观察到住院期间产气荚膜梭菌的持续降低。而在 PICU 停留期间,肠杆菌属水平在对照组中保持不变,其水平在测试组中减少了 1log。

[0244] 结论

[0245] 益生菌和益生元补充制剂的使用并没有改变 PICU 中肠内营养的耐受性。此外,该制剂是安全的并促进垂危儿童微生物群组成的正向平衡。

[0246] 实施例 3 :使用人类肠微生物生态系统的模拟器 (Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem) (“SHIME”) 体外评价益生元掺和物

[0247] 进行了两种益生元掺和物的体外评价,其中使用人类胃肠道模拟器(TWI SHIME 型号)评价了本营养组合物的益生元掺和物(称为“掺和物¹⁺”)用作口服营养补充剂(“ONS”)或者管饲制剂(“TF”)的益生元活性。评价的焦点是评估在原始纤维掺和物(称为“掺和物¹”)中用 AG 部分替换 FOS 和菊粉对 ONS 策略中微生物发酵特性的影响。

[0248] 研究胃肠道和肠微生物过程的体外方法提供了研究选定食物成分的可能益生元性质的极好实验方法。良好设计的连续模型的应用允许在代表性环境条件下,深度研究选定分子在肠中的生物学活性。此外,体外模型的最新进展还允许用连续模型组合研究细菌-宿主相互作用如黏膜粘附和与免疫系统的相互作用,从而进一步增加科学产出和商业相关性二者。

[0249] 在该研究中使用的两种益生元掺和物包含 30%脂肪、20%蛋白质和 50%糖类。掺和物在糖类组成方面不同。掺和物¹(“SHIME1”)含 70%至 30%比率的 FOS 和菊粉。掺和物¹⁺(“SHIME2”)含 41% FOS、41%阿拉伯树胶、18%菊粉。可以利用的产品以份计,一份含 3.3g 纤维。将相当于每天两份掺和物的总量施用给各个 SHIME 模型。将掺和物作为液体营养介质的部分施用给模型,其每天进入胃室 3 次,导致每天施用 2.2g 纤维 3 次。

[0250] 人类肠微生物生态系统的模拟器

[0251] 为了使用体外方法详细研究选定产品的可能的益生元性质,使用了连续模型,其允许长期并在代表性条件下培养复杂的肠微生物生态系统。此外,如上在体外和体内研究中所示,益生元性质的评价可能仅在连续施用化合物 2 至 3 周后进行,该模型应当允许模拟益生元的重复摄入。因此,使用人类胃肠道的动态 SHIME 模拟器评价益生元处理的有效性。

[0252] 如 Molly 等人所述,反应器设定由 SHIME 改进,代表成年人胃肠道(“GIT”)。参见 Molly 等人,“Development of a 5-step multichamber reactor as a simulation of the human intestinal microbial ecosystem”, *Applied Microbiology and Biotechnology* 39:254-258(1993)。SHIME 由模拟人类胃肠道不同部分的 5 个反应器序列组成。参见例如图 2。

[0253] 前两个反应器基于充填-吸取原理(fill-and-draw principle),以模拟食物摄入和消化的不同步骤,用蠕动泵分别向胃(IV)和十二指肠(V2)区室添加定量的 SHIME 喂饲物(140mL3×/天)以及胰液和胆汁液(60mL3×/天),并在特定间隔后排空各个反应器。最后 3 个区室是具有恒定体积和 pH 控制的连续搅拌反应器。选择不同容器的停留时间和 pH,以模拟胃肠道不同部分的体内条件。模拟大肠的最后 3 个容器的整体停留时间为 72 小时。用粪便微生物丛接种后,这些反应器模拟升结肠(V3)、横结肠(V4)和降结肠(V5)。接种物制备、停留时间、pH、温度设定和反应器喂饲组合物由以前 Possemiers 等所述。参见 Possemiers 等人,“PCR-DGGE-based quantification of stability of the microbial community in a simulator of the human intestinal microbial ecosystem” *FEMS Microbiology Ecology* 49:495-507(2004)。

[0254] SHIME 已经供科学和工业项目使用了 15 年以上,并经体内参数验证。经结肠不同区域中微生物群落的稳定化,在 3 个结肠区室中建立了代表性微生物群落,所述微生物群落不同结肠区域中在组成和功能二者上均不同。

[0255] 对于这些实验,使用 TWINSHIME 装置,同时平行运行两个系统(SHIME1 = 掺和物¹; SHIME2 = 掺和物¹⁺)。通过相同的 pH 和温度控制并通过使用反应器之间液体转移的双头

泵,获得两个系统的相同环境条件。

[0256] SHIME 实验由 3 个阶段组成。第一个阶段是起始阶段。用合适的粪便样品(具有低浓度双歧杆菌属的老年供体)接种结肠反应器后,两周的起始期允许微生物群落基于局部环境条件在不同的反应器中分化。第二阶段是实际上开始实验的控制期,其中将标准 SHIME 喂饲物给药于模型达 14 天。基础培养基组成如下:阿拉伯半乳聚糖(1g/L)、果胶(2g/L)、木聚糖(1g/L)、淀粉(3g/L)、葡萄糖(0.4g/L)、酵母提取物(3g/L)、蛋白胨(1g/L)、粘蛋白(4g/L)、半胱氨酸(0.5g/L)。该时期中样品的分析允许测定不同反应器中基线微生物群落组成和活性,将其用作对照以与来自益生元处理的结果相比较。第三和最终阶段是处理期。在这三周期间,在额定条件(nominal condition)下运行 SHIME 反应器,但用修改的膳食,与基础时期相比在培养基中含有较低量的淀粉(1g/L)。这允许确定两种产品在老年人典型饮食(含低营养物的膳食)基础上的作用。同时,用益生元补充 SHIME 的膳食(相当于每天两份掺和物)。

[0257] 结果

[0258] 在整个实验期间监控了许多微生物参数,包括例如短链脂肪酸、铵、乳酸分析、气体分析、肠 pH 和样品收集。

[0259] 短链脂肪酸(“SCFA”)

[0260] SCFA 是肠细菌主要糖分解发酵的典型终产物,SCFA 谱主要由乙酸、丙酸和丁酸以及少量的其它酸如异丁酸、戊酸、异戊酸和己酸组成。尽管宿主可以从肠中吸收乙酸并用作能量底物,但丁酸作为肠上皮的主要能量底物并已经证实对炎症和结肠癌具有保护作用。最后,丙酸与丁酸相比,在肠中具有类似的局部活性,同时其还被运输到肝,在那儿显示出积极的降胆固醇作用和血糖控制作用。为此,与乙酸相比,认为丁酸和丙酸对宿主更有健康益处,并认为针对增加的丁酸和 / 或丙酸生成调节肠中微生物发酵谱是有益的。

[0261] 关于 SCFA,每周 3 次从所有结肠区室中收集样品,以分析乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸、异己酸和己酸的浓度。在图 3A-F 中,数据表示为 TWI SHIME 实验的每实验周的总 SCFA、乙酸、丙酸和丁酸。如上所述,通过在总 SCFA 生成中丙酸和 / 或丁酸的相对增加,评价益生元性质。在表 5 和 6 中还总结了每一实验期和每一结肠区室的数据。

[0262] 因为乙酸(“A”)、丙酸(“P”)和丁酸(“B”)是由肠细菌产生的主要 SCFA,因此数据还可以表示为 A/P/B 比率。为此,每一脂肪酸的生成都表示为每一单独脂肪酸的浓度与三种脂肪酸的浓度总和的比率。在该实验中,通过丙酸和 / 或丁酸的相对增加来测定的处理的益生元作用,通过 A/P/B 比率中 P 和 / 或 B 的增加和 A 的减少来评价。在图 4A-F 中显示了每一实验周的 A/P/B 比率。

[0263] 基于以上考虑,两种产物都给出了益生元活性的明确指征。两种处理都在全部结肠容器中诱导了总 SCFA 浓度的增加,其表示两种产物都在 GIT 中良好发酵。此外,两种产品都诱导了更高浓度的丙酸和丁酸,并能将乙酸-丁酸-丙酸比率推动至更健康的组成。当评价对照和处理之间 SCFA 生成的统计学差异时,通常仅从处理的第二周开始具有明显的改变。这也在该实验中观察到,这涉及适应期,细菌需要适应新的营养环境。这导致在处理的第一周期间 SCFA 谱的逐渐改变(高标准偏差),当将第一处理周的平均 SCFA 浓度与对照期比较时,常常导致缺少统计学显著性。在适应纤维掺和物后(从处理期的第二周开始),在 SCFA 谱中观察到明显的显著性差异。

[0264] 在图 5A-E 中,显示了两种 SHIME 系统之间的比较,其允许比较原始的和修饰的纤维掺和物的益生元潜能。在实验的每周单独地进行比较。每周内,通过单因素方差分析(one-way ANOVA)比较每一结肠区室中总 SCFA、乙酸、丙酸和丁酸的浓度,并使用 Tukey's 检验比较单个平均值(individual mean)。

[0265] 基于两次 SHIME 运行,发现对照期(“ctr”)期间,在任一结肠区室中没有观察到 SCFA 生成的统计学差异,表示两种不同处理的起始点是类似的。还发现,在处理期(“tr”)的第一周期间,没有发现两种产品作用的统计学显著差异。认为这与肠道微生物群的适应期相关,以使其代谢与所施用的测试化合物相适应。此外,从处理的第二周开始出现了统计学差异。这表明两种产品都具有不同的发酵谱,导致特定的 SCFA 产生谱。

[0266] 本实验也显示,用阿拉伯树胶部分替换 FOS 和菊粉,诱导了细菌发酵谱的差异。首先,掺和物¹的丁酸生成效应(butyrogenic effect)比掺和物¹⁺高,而掺和物¹⁺显示出更高的丙酸浓度(虽然并非总受统计学支持)。第二,这些发现显示,就 SCFA 生成而言,尽管两种掺和物都具有非常积极的作用,但具体的发酵谱取决于掺和物的特定组成。

[0267] 铵

[0268] 因为铵产生主要是蛋白质降解的结果,并与直接和间接的健康不利作用相关,因而认为铵生成的降低是有益的。在该实验期间,每周 3 次从全部结肠区室中收集样品。在图 6A 和 6B 中显示了整个实验期间不同结肠区室中铵浓度的分析。如所明确指出,两种产品都在处理期期间诱导了铵生成的减少。

[0269] 额外地,还可以将 SHIME 中的铵浓度视为处理期期间细菌有限底物可利用度的标志物。如果某些细菌不能像它们使用淀粉那样有效地将所施用的产品作为能量来源,那么这些细菌可能转向更多的蛋白水解代谢,导致铵浓度的增加。因此,观察到铵浓度的减少也是两种掺和物高度可发酵性的标志。

[0270] 最后,两次 SHIME 运行之间没有观察到统计学差异,表示用阿拉伯树胶部分替换 FOS 和菊粉没有影响铵生成的减少,并且掺和物¹⁺也是良好发酵的,导致结肠中增加了糖分解发酵。

[0271] 乳酸分析

[0272] 人类肠荷有产乳酸细菌和乳酸利用细菌二者。乳酸通过乳酸菌产生,降低环境的 pH,还作为抗微生物剂起作用。其还可以通过其它微生物迅速转变成乙酸、丁酸和丙酸。对于本研究的目的,每周 3 次从全部结肠区室中收集样品。图 7A 和 7B 中显示了整个实验期间不同结肠区域中乳酸浓度的分析。

[0273] 两种掺和物的施用均显著增加了升结肠中保留的乳酸浓度。两次 SHIME 运行的比较显示,菊粉和 FOS 的部分替换减少了保留的乳酸浓度。这可能与菊粉和 FOS 在升结肠中与阿拉伯树胶相比更快速和强烈的发酵有关。SHIME 1 中更高的乳酸浓度还与更高的丁酸浓度一致,因为乳酸是丁酸的重要前体。

[0274] TWTNSHIME 中在线 pH 变化

[0275] 为了确保维持最佳的环境条件,通过 pH 控制器以以下范围控制 SHIME 系统中的 pH:(i)5.6-5.8(升结肠,“AC”),(ii)6.2-6.4(横结肠,“TC”)和(iii)6.6-6.8(降结肠,“DC”)。然而,在微生物群落在不同反应器中稳定后(从接种后 2 周开始),微生物群落可以自身自动调节,且酸-碱消耗通常较低。然而,在处理期间,当细菌适应了测试产品并产

生了例如增加量的 SCFA 时,反应器中的环境可能酸化,导致通过施用更多的碱到各个反应器来进行额外的 pH 控制。就此而言,可以将实验期间酸化的程度作为益生元掺和物的细菌代谢强度的量度。

[0276] 图 8 显示了整个实验期间不同结肠区域中酸和碱消耗的分析。如图 8 所示,两种掺和物的施用都诱导了模拟结肠反应器的酸化,表明 SCFA 生成增加和更健康的肠环境。然而,尽管对于掺和物¹,酸化限于升结肠,但在掺和物¹⁺施用后,在整个模拟结肠中都发生了酸化。这显示,用阿拉伯树胶部分替换 FOS 和菊粉将肠发酵谱从近侧结肠中加速发酵改变为全部结肠中更渐进的发酵。

[0277] 关于 TCI 和 DCI 中的 pH 谱,期望获得类似的 pH 谱。对于观察到的差异,没有直接的解释。然而,认为差异可能与两种结肠区室的缓冲能力的差异相关。

[0278] 分批实验中的气体生成和 pH 变化

[0279] 总气体生成的评价是与该研究的两种掺和物的潜在耐受问题相关的重要方面。然而,因为气体连续的流入和流出,在肠的连续模型中很难进行在线总气体生成测量。为此,在分批装置中进行总气体生成的评价和 CO₂ 浓度改变的测量。关于气体分析,进行了另外的分批测试,以测量在模拟结肠条件下测量估计的总气体产生和气相组成。

[0280] 一般的短期筛查测定(图 9)由模拟条件下典型剂量的选定化合物的顺次温育(一式三份)组成,用于(i)胃(pH2,胃蛋白酶),(ii)小肠:添加胰酶和胆汁盐,以及(iii)大肠,在基础培养基中具有典型细菌接种物。这种细菌接种物来源于来自 SHIME 系统中升结肠区室的已“体外适应的”微生物群落。

[0281] 如此设计实验,以使得维持胃肠道中食物产品的一般停留时间。图 10 报道了取样方案。图 11A 和 11B 中显示了根据图 10 中报道的方案进行的总气体生成和组成的分析。

[0282] 气体生成一般遵循高斯模式。即使在 6 小时至 24 小时之间发生了与该模式不符的较大跳跃,但这仅仅是由于在 6 至 24 小时之间没有样品可以收集的事实。因为大部分施用的纤维都在 6 至 24 小时之间发酵,所以在第 24 小时观察到气体生成的一个明显的大峰。两种 SHIME 模式的比较显示,与原始的掺和物¹比较,掺和物¹⁺发酵诱导了较低的气体生成,即使 24 小时后两种产品之间的这种差异并不是统计学显著的。

[0283] CO₂ 产生(根据 Babb, RR, “Intestinal Gas(Medical Information)” West J. Med. 127 :362-363 (1977) 通常为肠中总气体的 5 至 30%)证实,掺和物¹⁺以较慢的方式发酵(发酵仍发生在 24 至 48 小时之间)。这进一步证实了先前的发现:用阿拉伯树胶部分替换 FOS 和菊粉将肠发酵谱改变成了更渐进的发酵。

[0284] 如上已经说明,实验结束时酸化的程度是潜在益生元的细菌代谢强度的量度。因此,在实验开始和结束时测定分批温育中培养基的 pH,以确认用在线测量获得的数据(图 12)。分批实验中的 ΔpH 再次证实掺和物¹比掺和物¹⁺更快发酵。

[0285] 微生物群落组成的分析

[0286] 每周一次从 TWINSHIME 的每一结肠区室中收集样品,以通过定量聚合酶链式反应(“qPCR”)评价所述处理对腔(luminal)微生物群落组成的影响,并通过平板计数分析黏膜相关的微生物群落。

[0287] 腔微生物群落组成

[0288] 使用 qPCR 监测总细菌,双歧杆菌属、乳杆菌属、硬壁菌门和拟杆菌门

(bacteroidetes)。qPCR 是基于扩增特定的细菌序列 (16S rRNA 基因) 以及定量在不同时间点这些特定序列在微生物生态系统中的数目的分子技术。由于这种技术不依赖于 (缺少) 细菌的可培养性, 因此用该方法产生的数据对于由于益生元处理对微生物群落的定量作用提供了更可靠观察。

[0289] 两种掺和物的施用在全部结肠区室中均导致了乳杆菌属的明显增加, 以及双歧杆菌属在升结肠和横结肠中显著的增加。掺和物 1^+ 还诱导了双歧杆菌属在降结肠中较小但显著的增加。除此之外, 两种掺和物的施用均增加了主要细菌群体 (总细菌和硬壁菌门) 的计数。掺和物 1^+ 还诱导了降结肠中拟杆菌门的增加。

[0290] 在肠中, 硬壁菌门和拟杆菌门是两种最主要的细菌门。认为拟杆菌门是非常重要的糖分解发酵细菌, 因为由拟杆菌门编码的很大一部分蛋白质都可以分解多糖并代谢它们的糖类。属于该群体的一些物种还与丙酸产生相关。因此, 经掺和物 1^+ 施用而在降结肠中增加的拟杆菌门浓度进一步证实了阿拉伯树胶的更渐进发酵, 导致远端结肠中增加的糖分解发酵。

[0291] 硬壁菌门是由拟杆菌门产生的代谢中间产物的使用者。它们包括乳杆菌属和梭菌属。通常认为后者不利于健康, 因为特定的梭菌属是熟知的病原体。但是, 在梭菌属中还有几种是最重要的丁酸产生者, 丁酸是一种被视为关键健康益处化合物的细菌代谢物。

[0292] 图 13A-B 至图 17A-B 显示了来自每一结肠区室中每一实验周存在的每一细菌群体的 qPCR 数据。全部图 A 涉及掺和物 1 , 而全部图 B 涉及掺和物 1^+ 。

[0293] 为了比较两种产品对不同细菌群体的作用, 我们应用了允许评价由处理诱导的不同趋势的纵向统计学方法。将线性样条模型 (linear spline model)——在第二或第三周改变结点的位置 (取决于处理作用中延迟的程度——在图 18A、18B、19A 和 20 中用红色箭头指示)——用于拟合数据并分析对照期相比处理期。该方法基于创建复杂模型, 并随后逐步去除不同的预测值。两等式的最大可能值与各个卡方 (Chi Square) 比较的差异提供了关于去除的预测值是否具有统计学显著性的信息。在图 18-20 中, 以散点图显示了两种产品的每一结肠容器的数据的比较。AC1、TC1 和 DC1 通常指掺和物 1 ; AC2、TC2 和 DC2 指掺和物 1^+ 。第 1-2 周表示对照期, 而第 3-5 周表示处理期。在每一附图下讨论了趋势的统计学解释。

[0294] 如图 18A 和 18B 所示, 两种掺和物都显示出双歧杆菌促进因子性质。图 18A 证明, 由掺和物 1 诱导的双歧杆菌属的增加比掺和物 1^+ 在统计学上更高。从文献中已知, FOS 和菊粉二者都可以增强人肠中双歧杆菌属的浓度, 但是用阿拉伯树胶部分替换仍增加了双歧杆菌属, 这证实了该替换对其益生元活性并没有负面结果。此外, 如图 18B 所示, 与掺和物 1 相比, 掺和物 1^+ 在升结肠中诱导了更高的乳杆菌属增加。

[0295] 图 19A 和 19B 显示, 基于总细菌谱, 在处理的第一周期间, 在升结肠中, 对于掺和物 1^+ 观察到 16S rRNA 基因拷贝数减少。这种减少主要与相同结肠区室中占优势的硬壁菌门和拟杆菌门的减少有关。这可以由这样的事实解释: 与 FOS 和菊粉相比, 阿拉伯树胶对于醇素 (ferment) 更具选择性和特异性, 且细菌需要更长的时间来适应掺和物 1^+ 。在统计学上, 掺和物 1 在横结肠中也诱导了更高的硬壁菌门浓度。

[0296] 如图 20 所示, 如以上已解释, 在处理的第一周期间, 用掺和物 1^+ 处理的 SHIME 的升结肠中拟杆菌门的量在统计学上低于掺和物 1 。在结肠的剩余部分中, 两种产品产生的作用

没有差异。

[0297] 黏膜相关的微生物群落

[0298] 目前,将特定的细菌-宿主相互作用和由给定处理所致的该过程的改变视为测定益生元纤维健康作用的最重要的因素之一。人类肠道荷有大量的和复杂的微生物群体,其通过例如防止病原体集群和通过产生重要的营养物而参与维持人类健康。微生物并非在肠中随机分布,那些粘附于肠壁的微生物起着重要的作用,因为它们指导黏膜免疫应答并占据关键点,从而损害潜在有害的集群者(colonizer)(病原体)。因为具有可及性和复杂性问题,非常难以在体内研究这种相互作用,ProDigest 和 LabMET(UGent)最近研发了革新的体外工具箱,以评价益生元是否具有增强促进健康细菌与肠壁粘附的能力。该测定法包括使用在不同时间点取自 SHIME 反应器的样品,研究肠微生物群落与特定结肠区域的粘附,并定量附着群体内不同的细菌群体(总厌氧菌、梭菌属、双歧杆菌属、乳杆菌属和粪便大肠菌(coliforms))。然后处理数据,以根据以下通式计算所谓的粘附相关益生元指数(Adhesion Related Prebiotic Index)(AR-PI)(参见 Van den Abbeele 等人,“In vitro model to study the modulation of the mucin-adhered bacterial community”, Appl. Microbiol. Biotechnol. (2009)):

$$[0299] \quad AR-PI = \frac{bif_{80}/bif_{80,c} + lac_{80}/lab_{80,c} - col_{80}/col_{80,c} - clos_{80}/clos_{80,c}}{Tot_{80}/Tot_{80,c}}$$

[0300] 表 7 显示考虑了对照和处理期的平均值计算的 AR-PI。

[0301]

AR-PI-TREAT				
		AC	TC	DC
SHIME 1		8.7	-0.4	-0.7
SHIME 2		-2.7	-7.5	-2.1

[0302] 在该特定的情况下,不可能应用特定的统计学,因为测试是单一测量,并且这些值是在相同的通式内比较。认为指数 ± 1 的变化是生物学上不显著的。就表 7 而言,掺和物¹(其是快速发酵的)在 AC 中对 AR-PI 具有立即的作用,在后两个结肠区室中没有作用。相反,掺和物¹⁺沿全部结肠发挥作用。

[0303] 在表 8 中,通过将单周的处理值与对照期的平均值比较,单独表示了每周处理的 AR-PI。对于每一数值,还提供了额外的信息,以解释 AR-PI 的改变与所研究细菌群体中所观察到的变化相关。

[0304]

AR-PI-TREAT									
	AC			TC			DC		
	处理 1 周	处理 2 周	处理 3 周	处理 1 周	处理 2 周	处理 3 周	处理 1 周	处理 2 周	处理 3 周
SHIME 1	28.19	8.67	1.96	-4.99	-0.68	11.08	-0.46	0.38	-1.07
SHIME 2	-2.43	-0.02	-0.22	-27.49	-7.35	-6.06	-2.12	0.21	-1.40

[0305] 通常考虑:在通式内,认为梭菌属的某些种是不利细菌。然而,如上所讨论,在梭菌

属中,有几种细菌参与 SCFA 代谢。因此,建议是:解释 AR-PI 的值也考虑增强了哪些细菌群体,而不仅仅为数值是阳性还是阴性。

[0306] 从表 8 中显示的信息可以得出几个结论。首先,明确的是,掺和物¹主要在近侧结肠中发酵,并在升结肠中对 AR-PI 发挥作用。在第二周和第三周期间,细菌开始适应产品。此外,在横结肠中,细菌受到掺和物¹的积极影响,但需要全部处理期来观察该作用。掺和物¹在远端结肠中不诱导任何改变。掺和物¹⁺可能是更均衡的且更不容易发酵的制剂。为此,其在全部结肠中发挥作用。数字通常是负性的,其主要与梭菌属的增加和双歧杆菌属的平行减少相关。

[0307] 对于特定群体使用平板计数进行全部这些分析。我们还通过平板计数分析了腔内含物作为粘附实验的一部分,这些数据也是可利用的。因此,分析的第二成果也是定量梭菌属和大肠菌的腔内含物。这些数据在表 9 中报道。

[0308] 表 9:5 周 SHIME 实验中使用掺和物¹(SHIME 1) 和掺和物¹⁺(SHIME 2) 进行的测试中梭菌属和大肠菌的浓度。将数值与对照第二周的数据比较:以红色表示的那些较高,白色是在相同的范围内,绿色是较低。

[0309]

SHIME 1						
		对照 1 周	对照 2 周	处理 1 周	处理 2 周	处理 3 周
梭菌属	AC	2.17E+07	1.14E+07	8.84E+07	3.35E+07	1.16E+07
大肠菌		1.11E+08	2.42E+08	8.11E+07	7.77E+07	2.90E+07
梭菌属	TC	5.49E+06	1.27E+07	8.97E+07	1.80E+07	1.02E+07
大肠菌		3.17E+07	1.20E+08	1.04E+08	2.30E+07	5.59E+06
梭菌属	DC	1.55E+07	1.60E+07	3.84E+07	7.42E+06	8.54E+06
大肠菌		2.07E+07	4.87E+07	2.91E+07	1.30E+07	1.77E+07
SHIME 2						
		对照 1 周	对照 2 周	处理 1 周	处理 2 周	处理 3 周
梭菌属	AC	1.59E+07	6.45E+06	6.25E+07	2.17E+07	4.01E+07
大肠菌		9.92E+07	8.65E+07	6.72E+07	4.11E+07	3.91E+07
梭菌属	TC	8.13E+06	3.70E+08	5.52E+07	1.79E+08	1.15E+07
大肠菌		4.03E+07	7.81E+07	5.56E+07	4.23E+08	1.50E+07
梭菌属	DC	1.57E+07	4.43E+07	9.15E+07	3.63E+07	1.53E+07
大肠菌		5.75E+07	1.41E+08	6.98E+07	4.09E+07	1.98E+07

[0310] 总体而言,在处理的第一周期间,掺和物¹诱导了近侧结肠中梭菌属和大肠菌二者的增加(除 AC 中的大肠菌外),但在处理期的最后,数值与对照期相当或者更低。降结肠没有受到影响(这符合掺和物¹主要在结肠的第一部分中发酵的事实)。除升结肠中的梭菌属外,掺和物¹⁺在处理结束时诱导了梭菌属和大肠菌的普遍减少。

[0311] 结论

[0312] 两种掺和物都是良好发酵的,导致了毒性铵的产生减少。用 AG 部分替换 FOS 和菊粉(掺和物¹⁺)将肠发酵从近侧结肠中的加速发酵改变成全部结肠中的渐进发酵,如全部结肠部分的酸化和更渐进的气体产生所示。用 AG 替换 FOS 和菊粉诱导了 SCFA 产生的差异。掺和物¹的丁酸生成作用更高。掺和物¹⁺诱导了更高的丙酸浓度。两种掺和物都显示出双歧杆菌促进因子性质。用阿拉伯树胶部分替换 FOS 和菊粉对其益生元活性不产生负面结

果。此外,掺和物¹⁺与掺和物¹相比,在升结肠中诱导了更高的乳杆菌属增加。与 FOS 和菊粉相比,AG 对酵素更具选择性和特异性。

[0313] 根据科学文献,包含 FOS、OF 和菊粉的菊粉型益生元在上胃肠道中耐酶消化,结果它们可以实际上完好无损地到达结肠并经历细菌发酵。根这些产品主要是双歧杆菌促进性的,但是根据一些报道,也可以刺激乳杆菌属生长。它们对其它肠道生物的作用较不一致。按生理学的观点而言,这些膳食纤维在很大程度上在近侧结肠中通过多种厌氧菌(主要是双歧杆菌属和拟杆菌门)发酵,其导致细菌生物量的增加、粪便量的增加、结肠内 pH 的改变和 SCFA(主要是乙酸、丁酸和丙酸)的产生。另一方面,AG 也完好无损地到达结肠,并主要与双歧杆菌属和乳杆菌属的增加数量以及与更高的丙酸产生相关。

[0314] 微生物群落活性

[0315] 本研究有关微生物群落活性的几个结论总结如下。

[0316] 两种产品都良好地发酵并给出了益生元活性的明确指征。

[0317] 施用两种掺和物诱导了模拟结肠反应器的酸化,表明增加的 SCFA 产生和更健康的肠环境。

[0318] 用阿拉伯树胶部分替换 FOS 和菊粉将肠发酵谱从近侧结肠中的加速发酵改变成全部结肠中的更渐进发酵,如通过如下显示:(i) 在掺和物¹⁺施用的情况下全部结肠区室的酸化,其还在分批实验中得到证实,(ii) 在掺和物¹⁺施用(分批实验)的情况下,更低和更渐进的气体产生,以及(iii) 掺和物¹施用后,在升结肠中更高的乳酸浓度。

[0319] 用阿拉伯树胶部分替换 FOS 和菊粉诱导了细菌 SCFA 产生的差异。掺和物¹的丁酸生成效应比掺和物¹⁺更高,而掺和物¹⁺显示出更高的丙酸浓度(虽然并非总受统计学支持)。这显示,尽管就 SCFA(认为丁酸和丙酸是有益健康的)产生而言,两种掺和物都具有非常积极的作用,但特定的发酵谱取决于掺和物的特定组成。

[0320] 还通过处理期期间减少的铵产生证实了两种产品的较好发酵以及更高的糖分解代谢,产品间没有统计学差异。

[0321] 微生物群落组成

[0322] 本研究有关微生物群落组成的几个结论总结如下。将 qPCR 用作不依赖培养的技术来监测总细菌、双歧杆菌属、乳杆菌属、硬壁菌门和拟杆菌门。

[0323] 两种掺和物都显示双歧杆菌促进因子性质。由掺和物¹诱导的双歧杆菌属的增加在统计学上高于掺和物¹⁺,然而,用阿拉伯树胶的部分替换仍增加了双歧杆菌属,证明了该替换对其益生元活性不产生负面结果。此外,与掺和物¹相比,掺和物¹⁺在升结肠中诱导了乳杆菌属更高的增加。

[0324] 在处理的第一周期间,对于掺和物¹⁺,在升结肠中可观察到总细菌的减少。该减少主要与相同结肠区室中占优势的硬壁菌门和拟杆菌门的减少有关。这可以由如下事实解释:与 FOS 和菊粉相比,阿拉伯树胶对于酵素更具选择性和特异性,且细菌需要更长的时间来适应掺和物¹⁺。

[0325] 此外,用两种掺和物延长的处理在处理结束时诱导了梭菌属和大肠菌的减少(掺和物¹⁺ > 掺和物¹)。

[0326] 黏膜相关的微生物群落

[0327] 掺和物¹主要在近侧结肠中发酵,并在升结肠中对 AR-PI 发挥即时作用。在第二

周和第三周期间,细菌开始适应产品。在横结肠中,细菌也受到影响,但需要全部处理时间来观察该作用。在降结肠中没有发现作用。因此,掺和物¹⁺可能是更均衡的且更不容易发酵的制剂。为此,其在全部结肠中发挥作用。

[0328] 总而言之,可见,两种掺和物都表现出益生元活性。用 AG 部分替换 FOS 和菊粉并没有减少掺和物¹⁺的潜能,如有益健康的 SCFA 丙酸和丁酸的产生增加、肠酸化和乳杆菌属和双歧杆菌属二者的刺激所示。相反,掺和物¹⁺酸化更渐进,并遍及全部模拟的结肠。

[0329] 应当理解,对本文所述的当前优选实施方案的多种变化和修改对于本领域技术人员是显而易见的。可以在不背离本主题的精神和范围的情况下和在不减少预期优点的情况下进行此类变化和修改。因此,所附权利要求意图涵盖此类变化和修改。

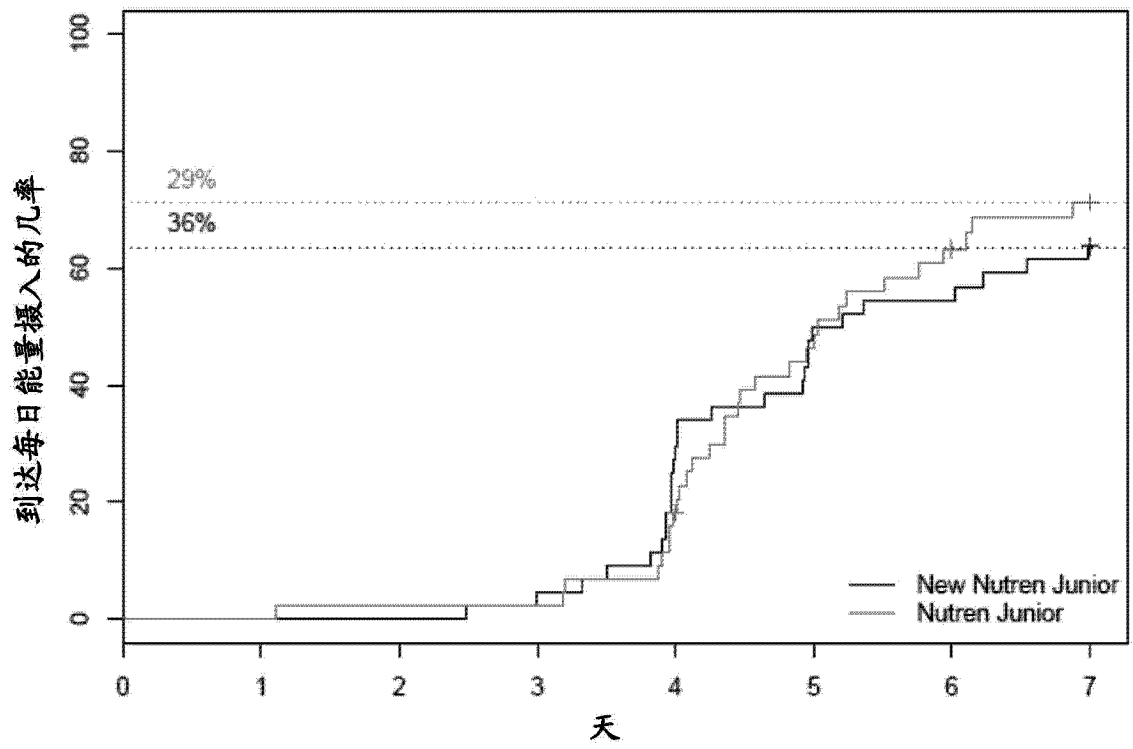


图 1

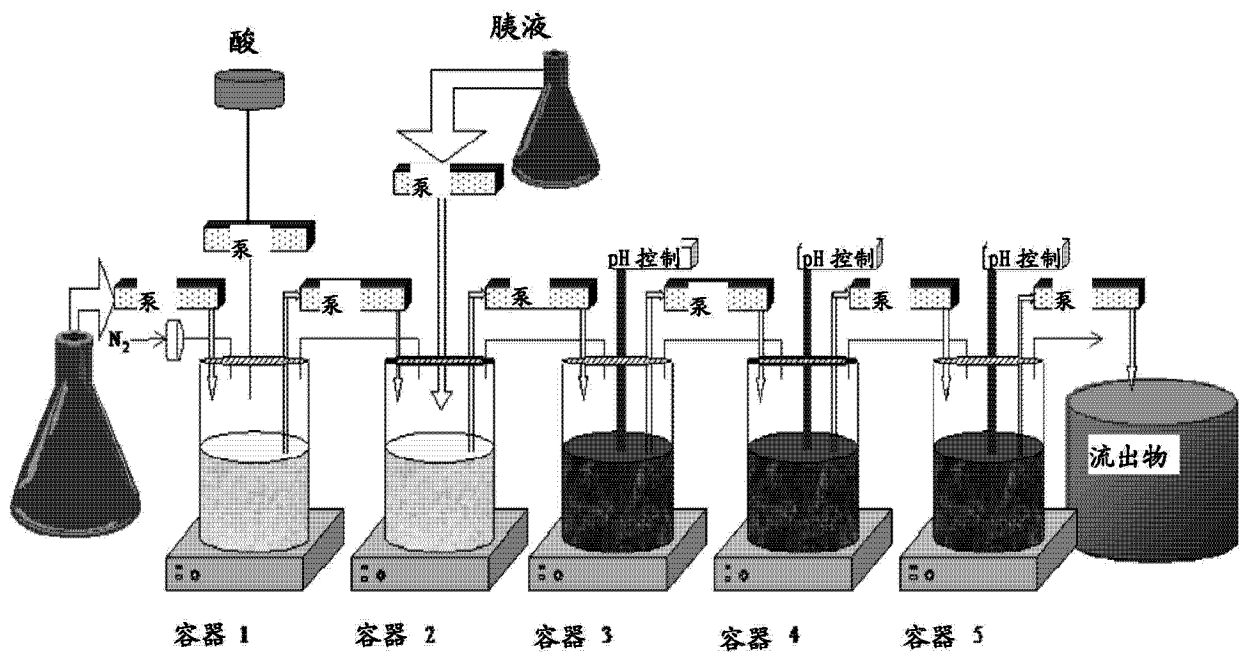


图 2

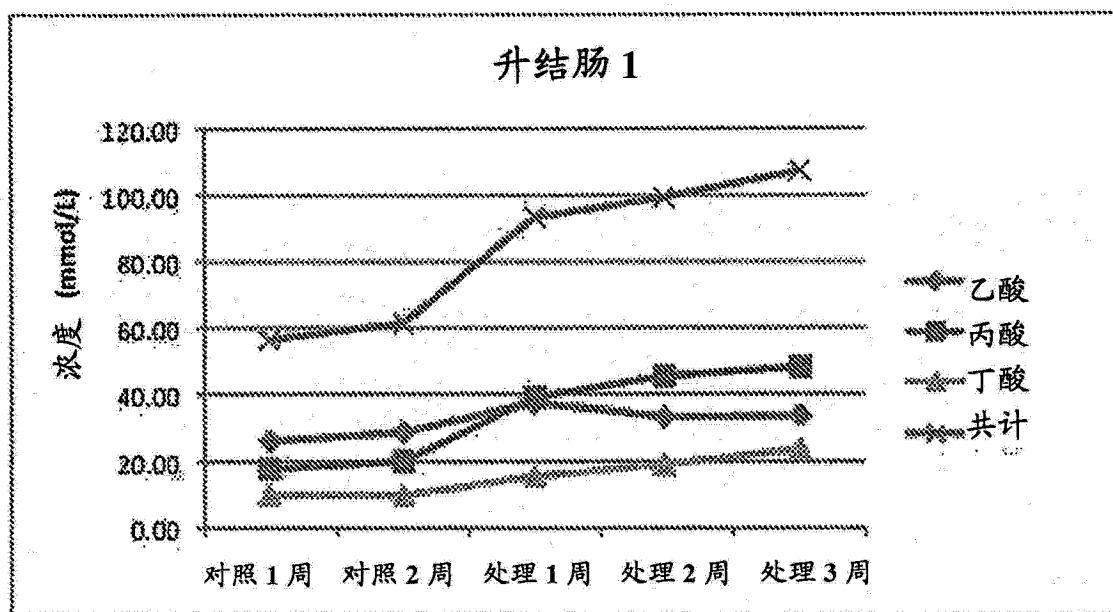


图 3A

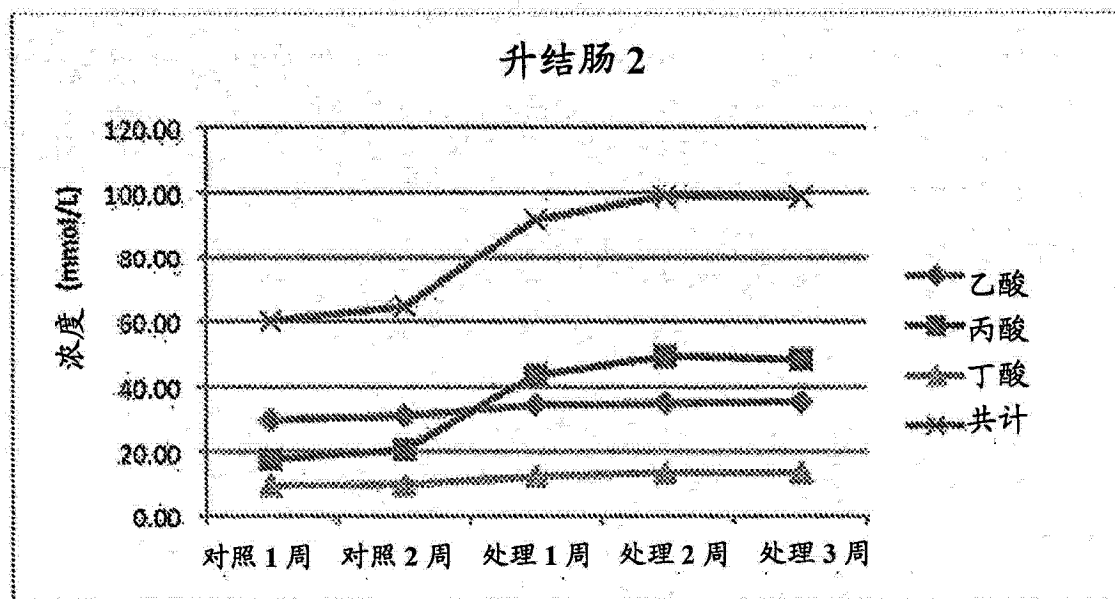


图 3B

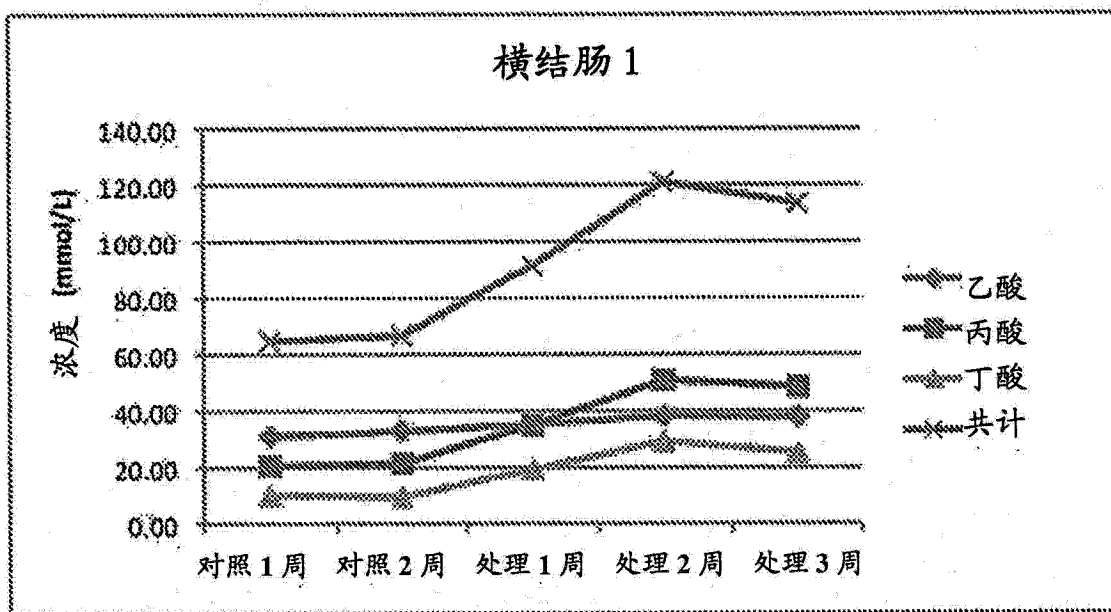


图 3C

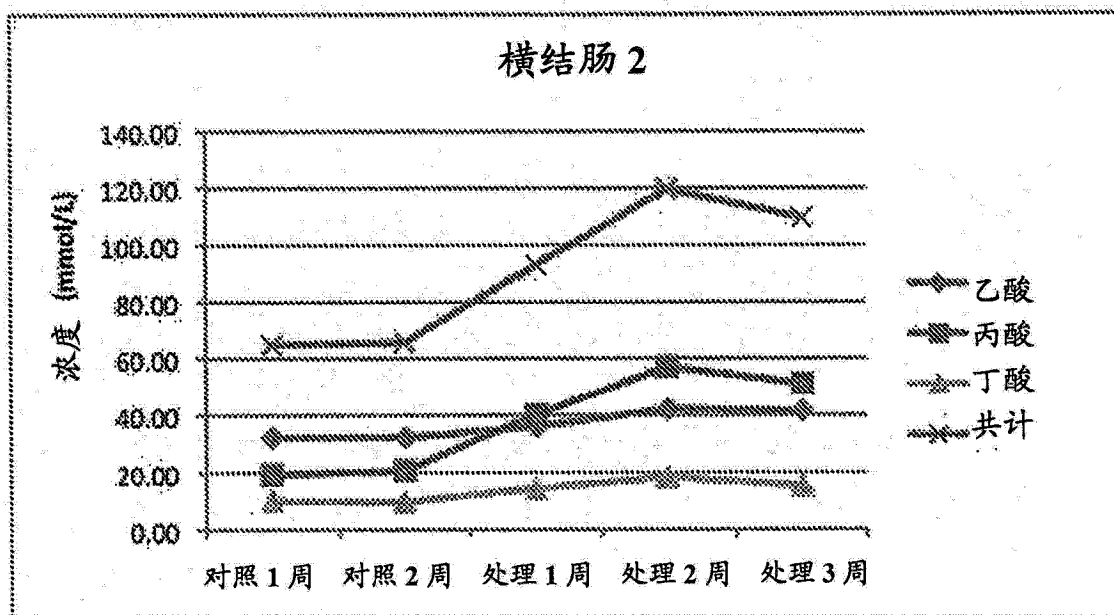


图 3D

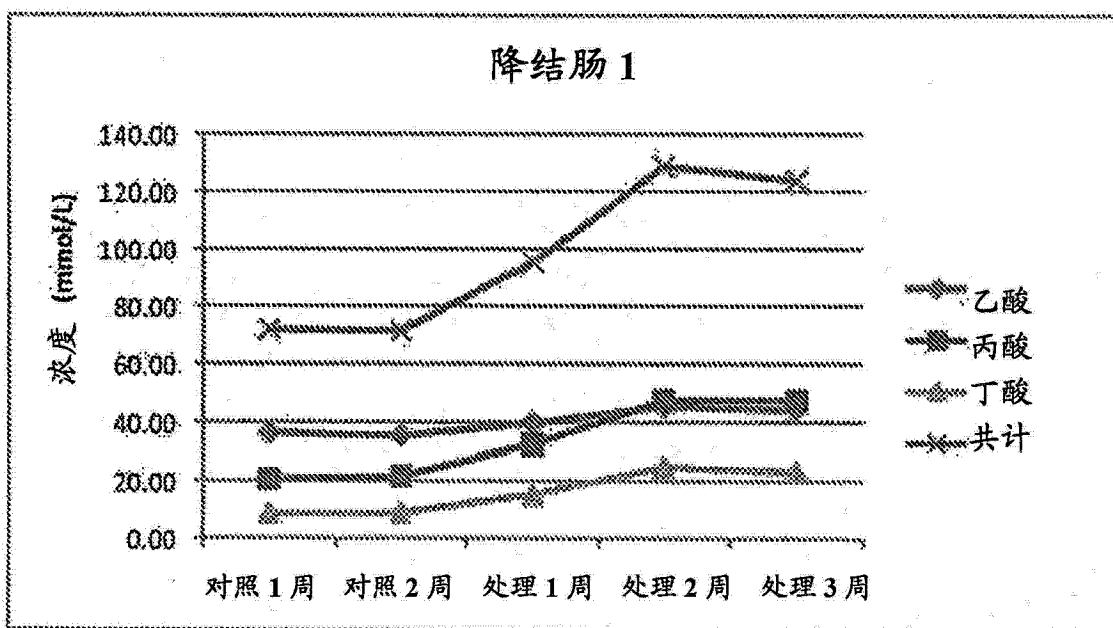


图 3E

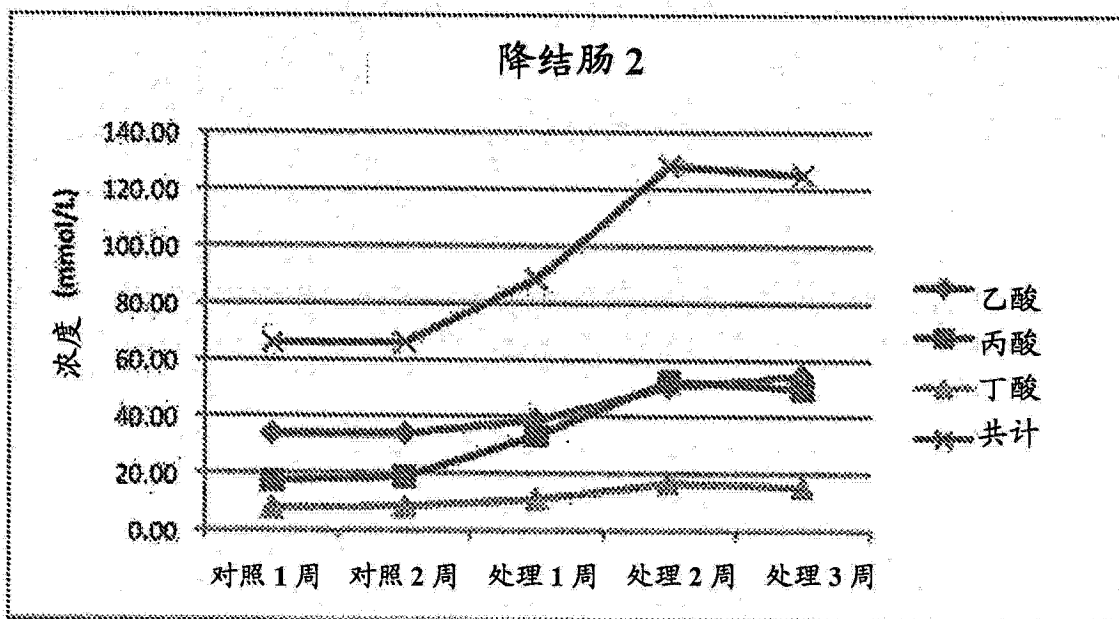


图 3F

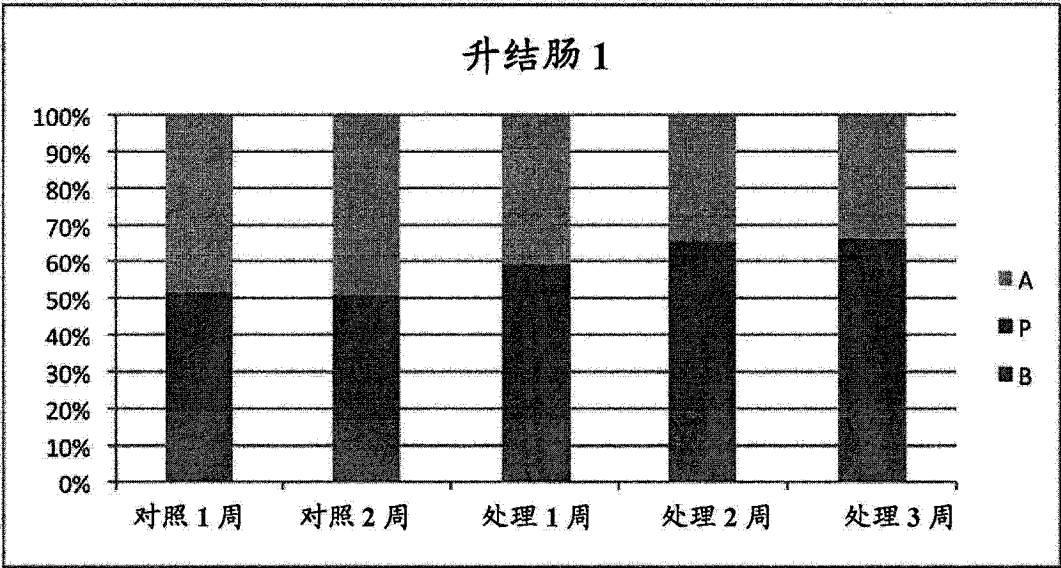


图 4A

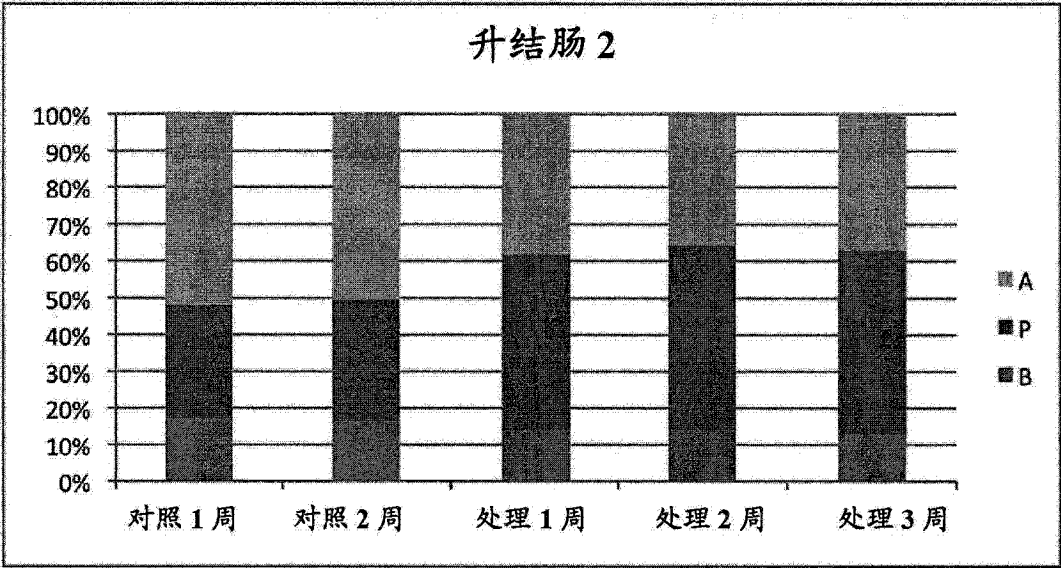


图 4B

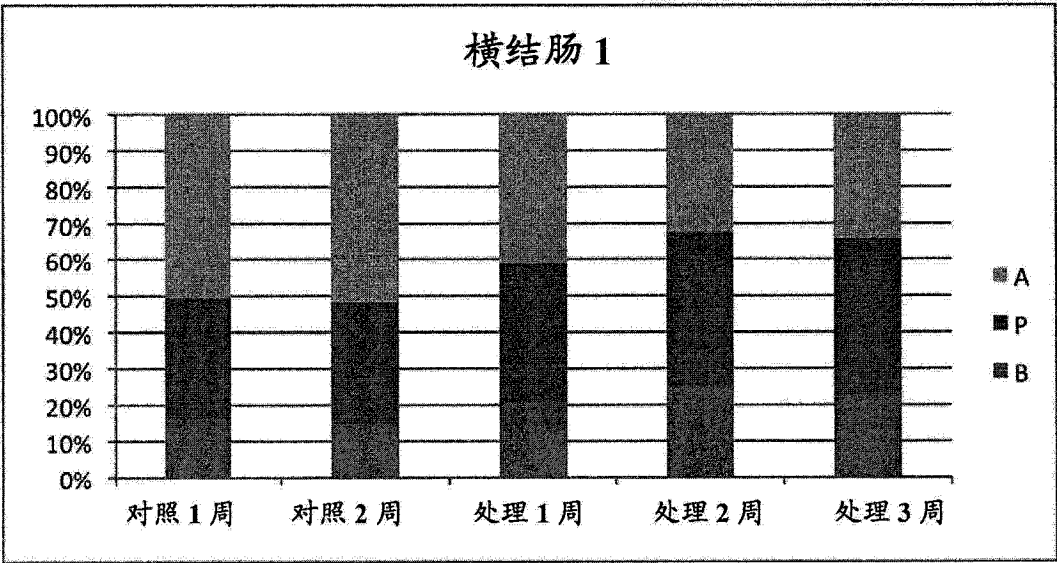


图 4C

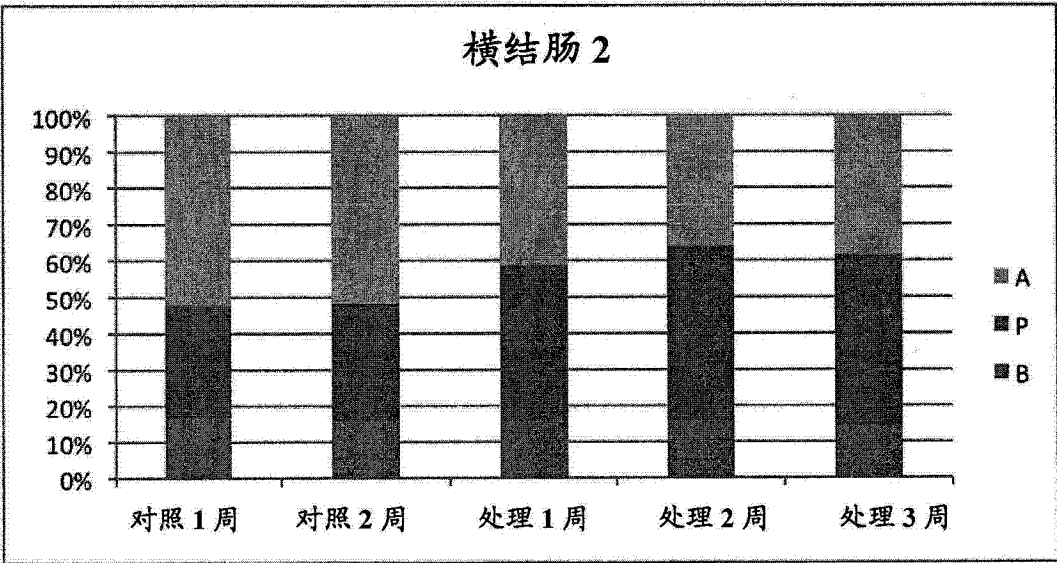


图 4D

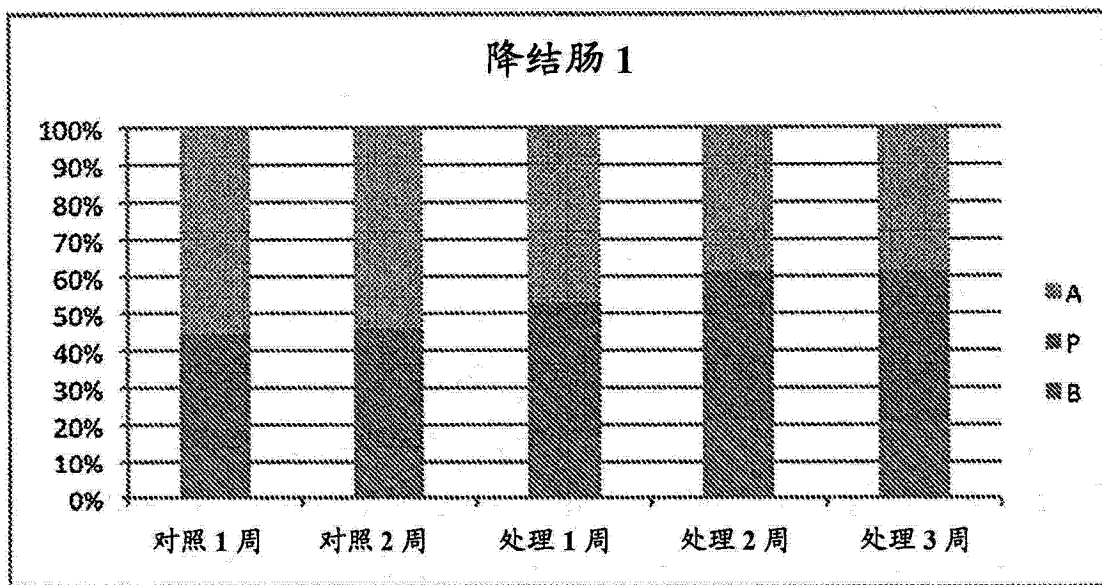


图 4E

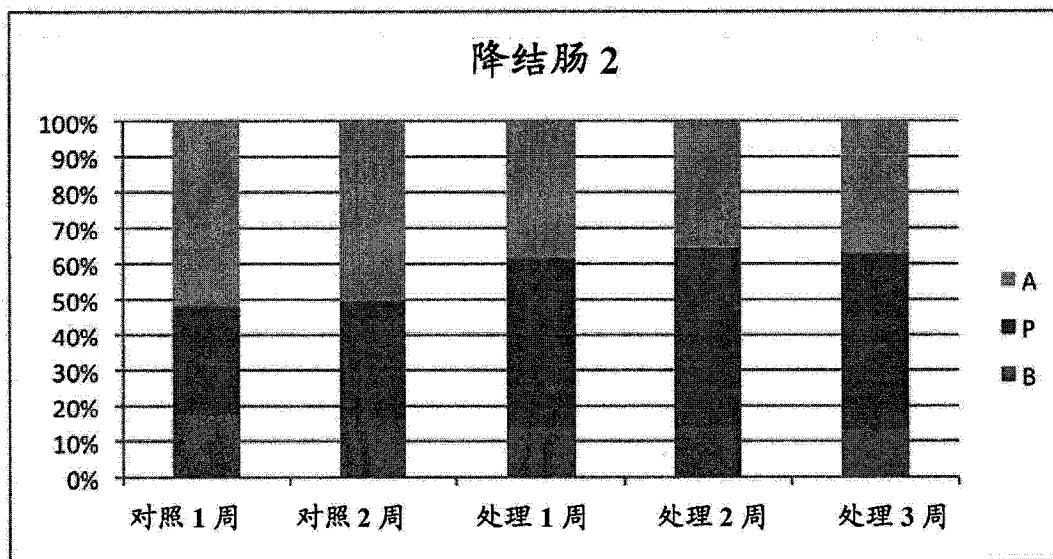


图 4F

	SHIME 1 对照 1 周			SHIME 2 对照 1 周		
升结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	26.0	2.1	a	29.6	1.8	a
丙酸	17.7	1.1	a	17.7	1.5	a
丁酸	10.0	0.8	a	9.8	0.7	a
共计	56.5	2.9	a	60.0	2.3	a
横结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	31.0	0.6	a	32.1	0.8	a
丙酸	20.5	1.0	a	19.3	0.6	a
丁酸	10.0	0.5	a	10.2	0.5	a
共计	64.6	1.5	a	64.7	1.5	a
降结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	36.2	1.0	a	33.7	4.5	a
丙酸	20.4	1.1	a	17.3	2.6	a
丁酸	8.6	0.8	a	7.8	1.3	a
共计	71.8	2.0	a	65.7	9.8	a

图 5A

	SHIME 1 对照 2 周			SHIME 2 对照 2 周		
升结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	28.8	1.7	a	30.9	1.3	a
丙酸	20.0	1.9	a	20.6	2.5	a
丁酸	9.8	1.0	a	9.9	1.0	a
共计	61.6	1.4	a	64.4	5.0	a
横结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	32.7	0.9	a	32.1	3.9	a
丙酸	21.3	2.0	a	20.6	3.8	a
丁酸	9.4	0.4	a	9.7	1.3	a
共计	66.5	3.3	a	65.5	9.4	a
降结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	35.2	2.9	a	33.7	1.2	a
丙酸	21.5	2.5	a	18.7	1.7	a
丁酸	8.8	0.8	a	8.4	0.3	a
共计	71.3	6.6	a	65.9	4.0	a

图 5B

	SHIME 1处理 1 周			SHIME 2处理 1 周		
升结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	37.4	2.7	a	34.2	2.4	a
丙酸	39.1	4.1	a	43.5	10.3	a
丁酸	15.6	3.4	a	12.4	1.2	a
共计	93.3	5.5	a	91.7	11.8	a
横结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	35.0	1.2	a	36.0	4.5	a
丙酸	34.8	11.6	a	40.1	17.2	a
丁酸	19.0	10.2	a	14.4	4.4	a
共计	91.4	22.4	a	92.9	26.0	a
降结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	39.5	5.7	a	38.7	12.3	a
丙酸	32.4	12.8	a	33.1	18.9	a
丁酸	15.3	9.0	a	11.0	4.2	a
共计	95.1	29.5	a	88.5	37.3	a

图 5C

	SHIME 1处理 2 周			SHIME 2处理 2 周		
升结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	33.3	4.5	a	34.8	2.2	a
丙酸	45.3	2.3	a	49.3	2.4	a
丁酸	19.0	7.2	a	13.7	1.5	a
共计	99.2	5.5	a	98.9	5.6	a
横结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	38.1	1.5	a	42.1	2.8	a
丙酸	50.7	0.8	a	56.9	1.4	b
丁酸	29.2	3.3	a	18.3	2.0	b
共计	121.0	4.9	a	119.6	1.4	a
降结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	45.3	2.1	a	50.4	4.8	a
丙酸	47.3	1.2	a	52.4	2.8	a
丁酸	24.8	2.9	a	16.7	1.5	b
共计	128.7	0.8	a	128.1	6.9	a

图 5D

	SHIME 1 处理 3 周			SHIME 2 处理 3 周		
升结肠	浓度	标准偏差	Anova	Conc.	stdev	Anova
乙酸	33.8	2.5	a	35.2	4.3	a
丙酸	48.1	7.7	a	48.3	6.4	a
丁酸	23.7	5.2	a	13.7	3.7	b
共计	107.3	15.7	a	98.6	14.6	a
横结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	37.7	0.9	a	41.3	3.0	a
丙酸	48.3	2.2	a	51.0	2.5	a
丁酸	25.0	1.7	a	15.3	2.3	b
共计	113.5	4.1	a	109.6	7.6	a
降结肠	浓度	标准偏差	Anova	浓度	标准偏差	Anova
乙酸	44.1	2.8	a	54.4	4.9	a
丙酸	47.3	1.1	a	49.6	1.6	a
丁酸	23.1	1.8	a	15.5	2.2	a
共计	122.1	1.6	a	125.0	8.2	a

图 5E

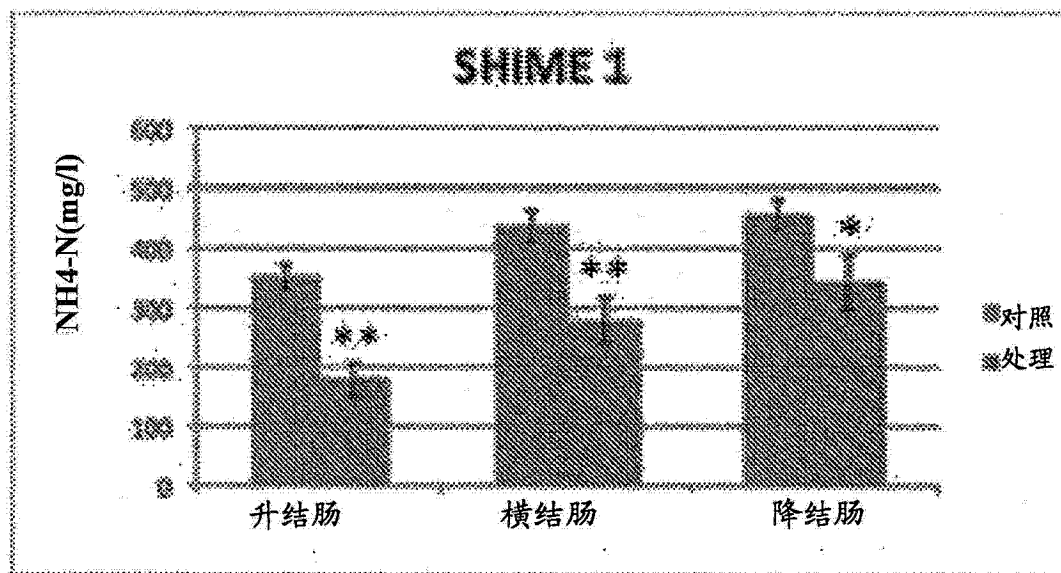


图 6A

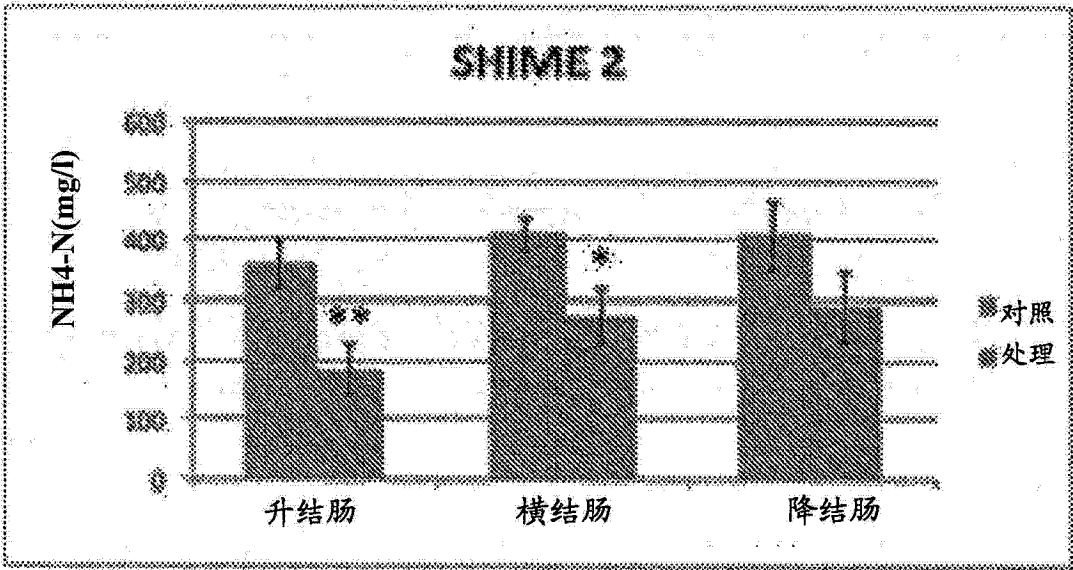


图 6B

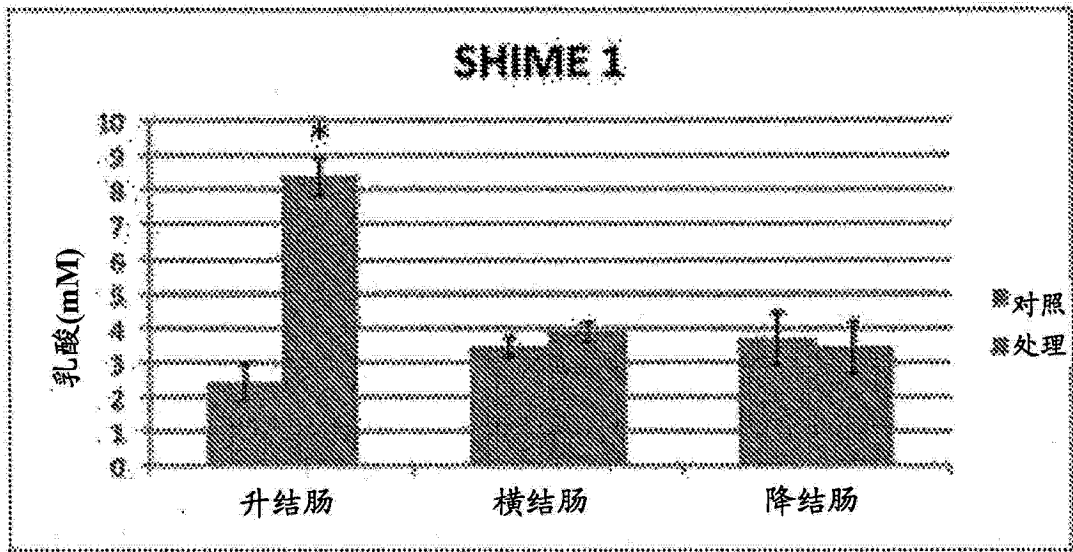


图 7A

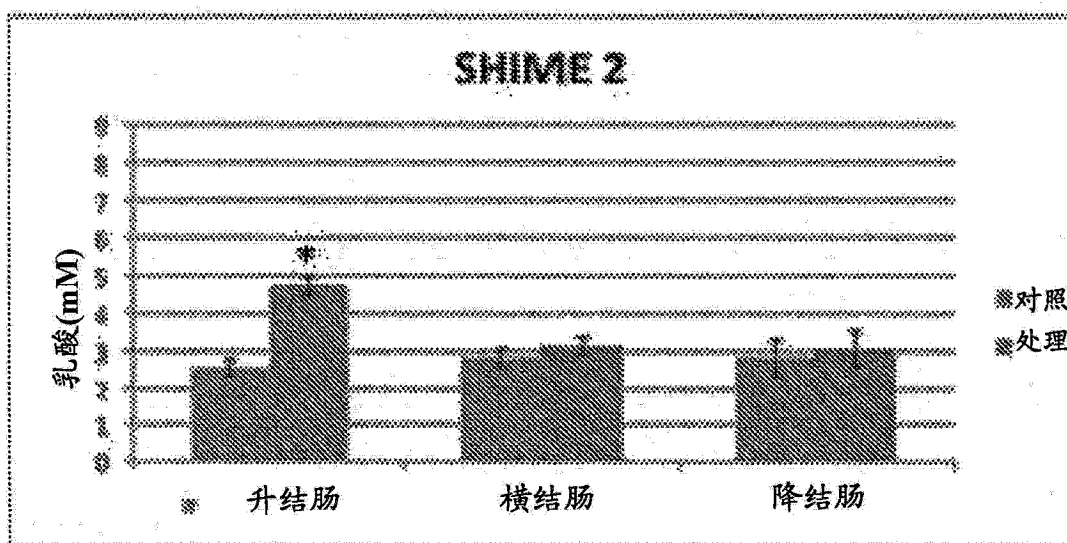


图 7B

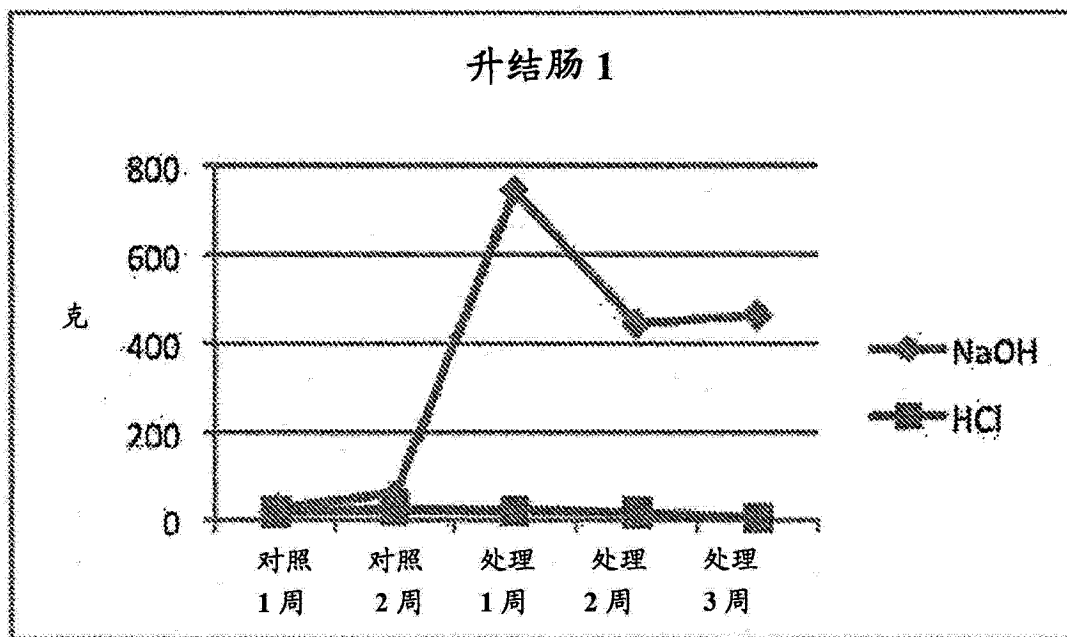


图 8A

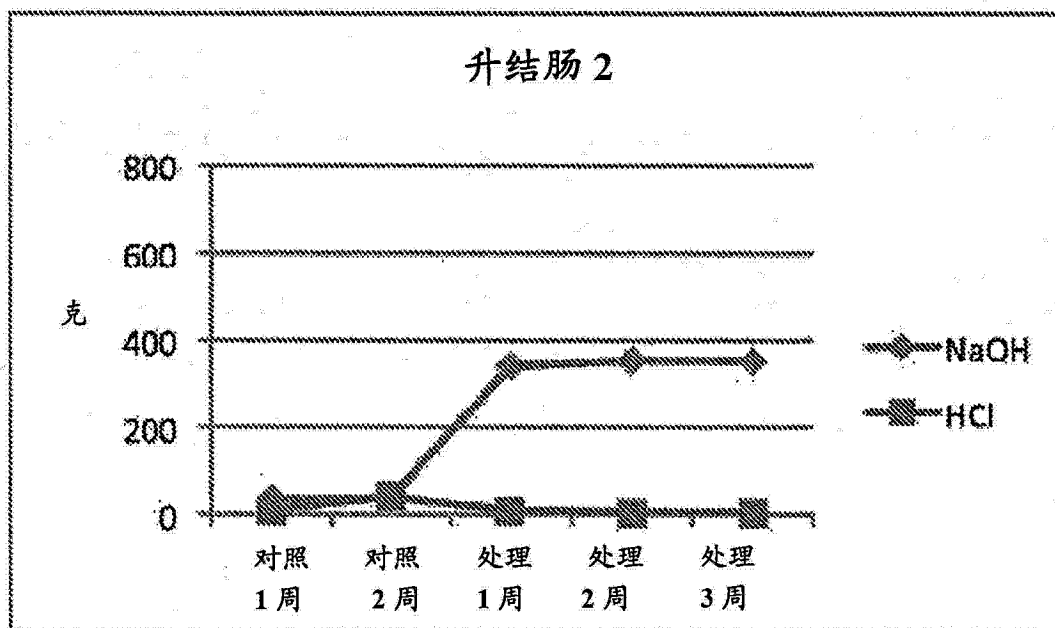


图 8B

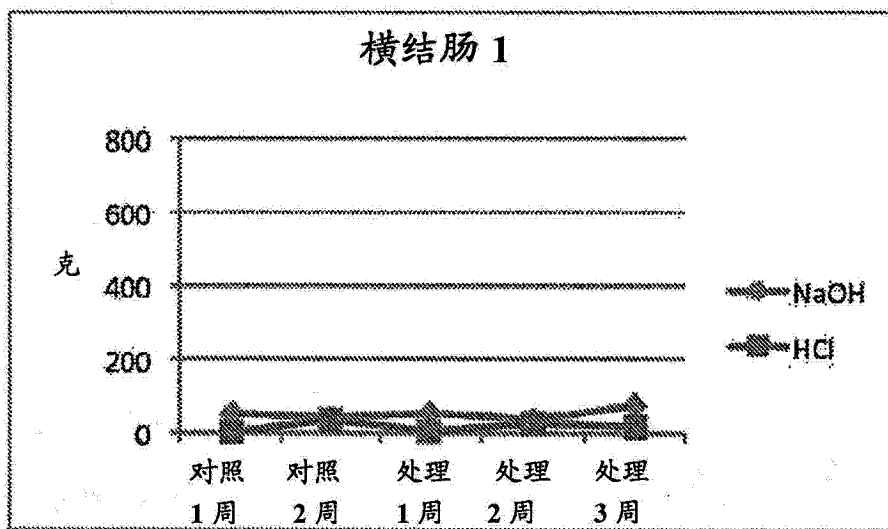


图 8C

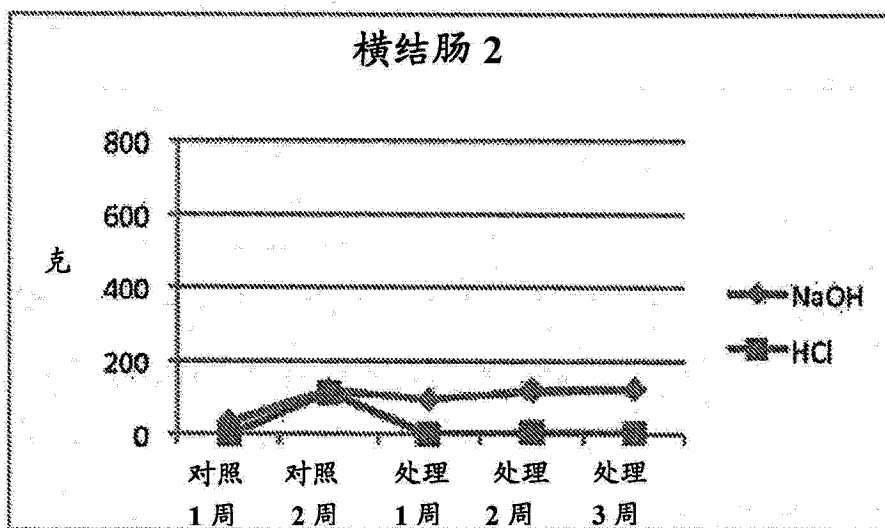


图 8D

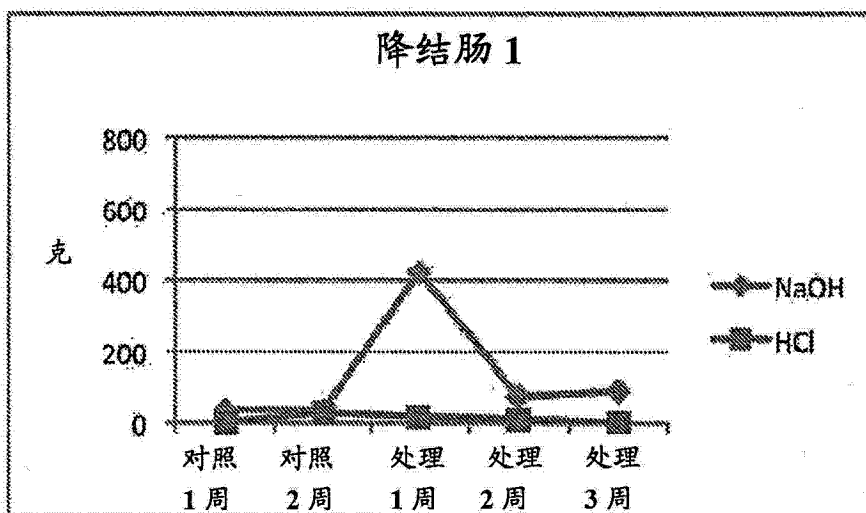


图 8E

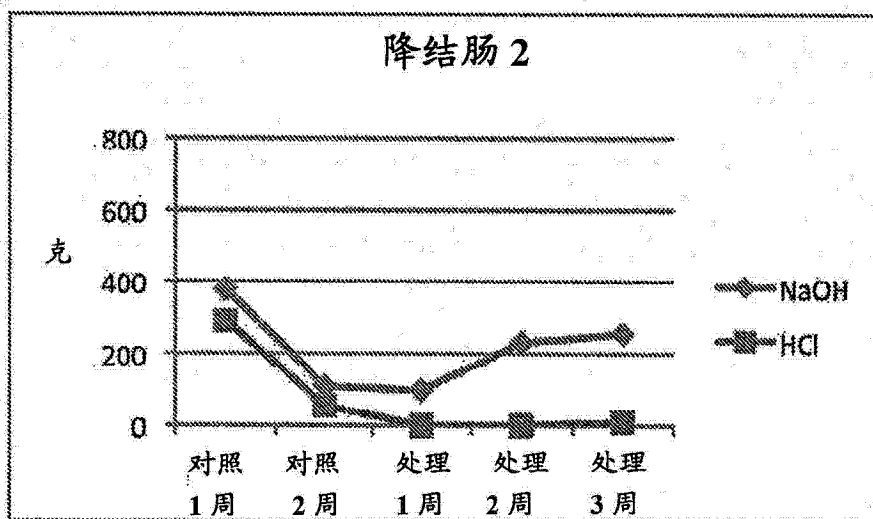


图 8F

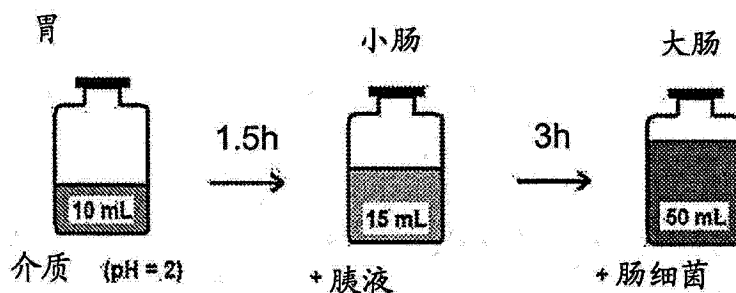


图 9

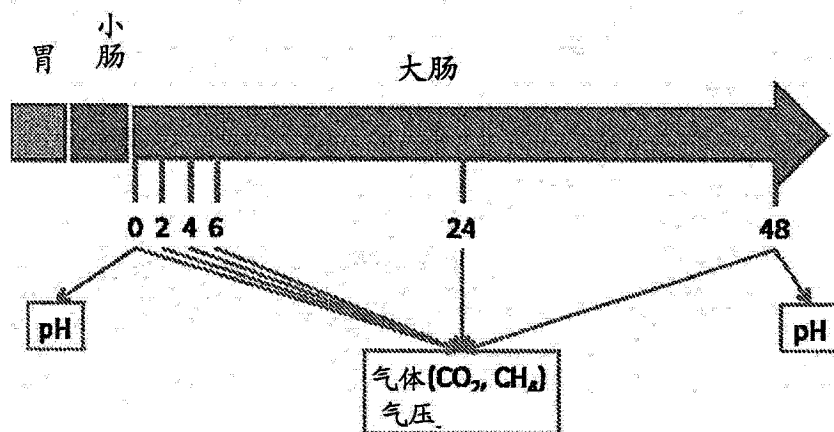


图 10

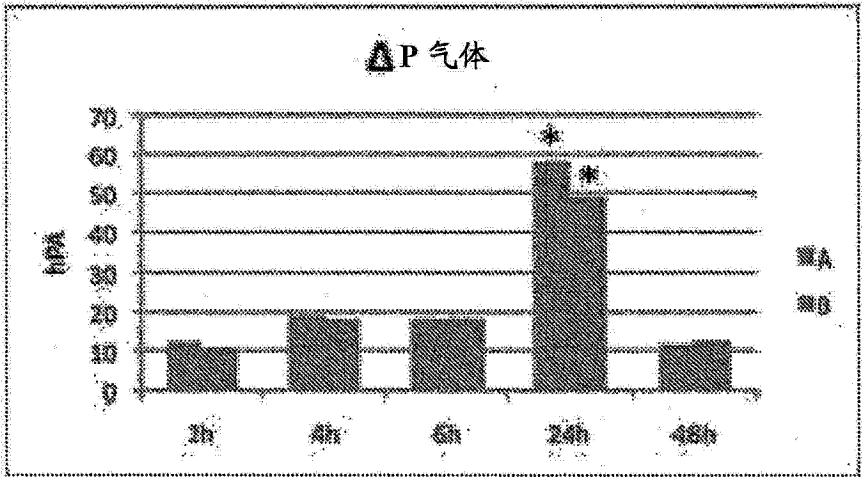


图 11A

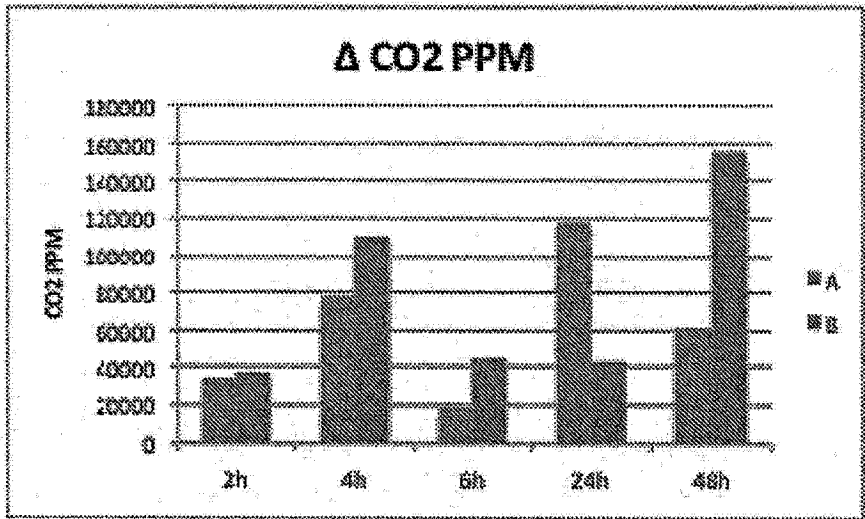


图 11B

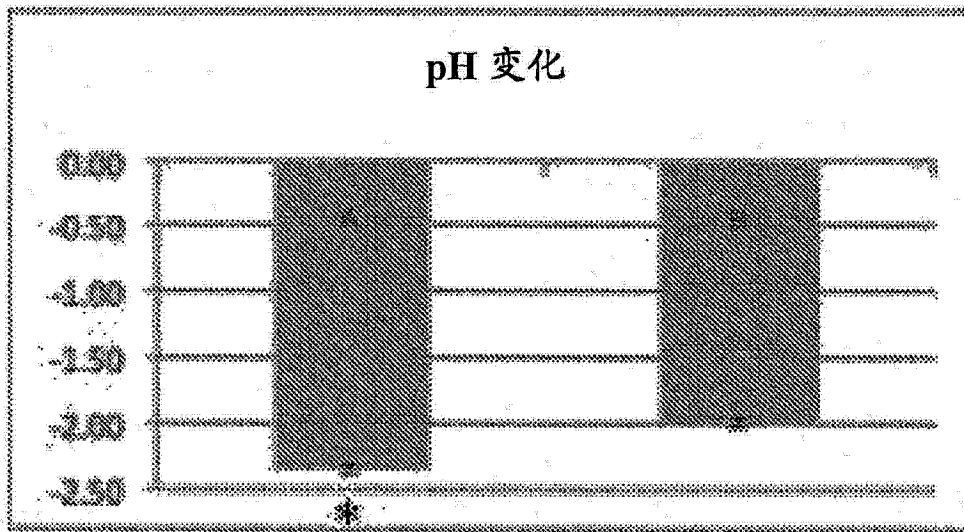


图 12

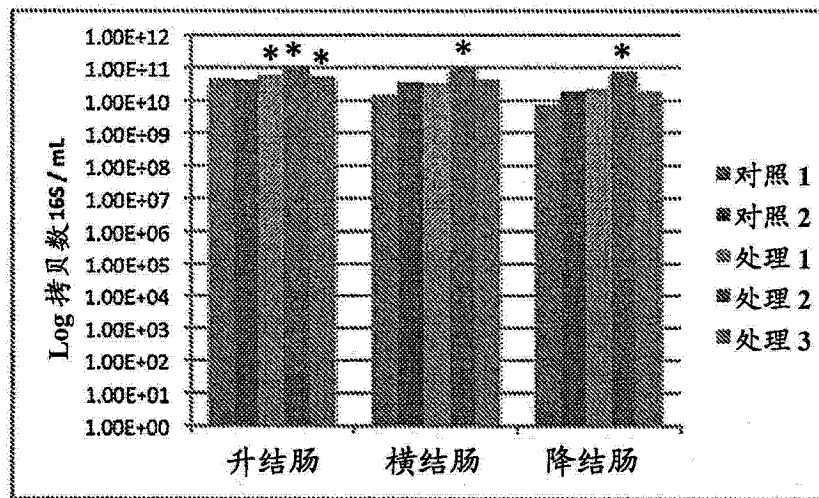


图 13A

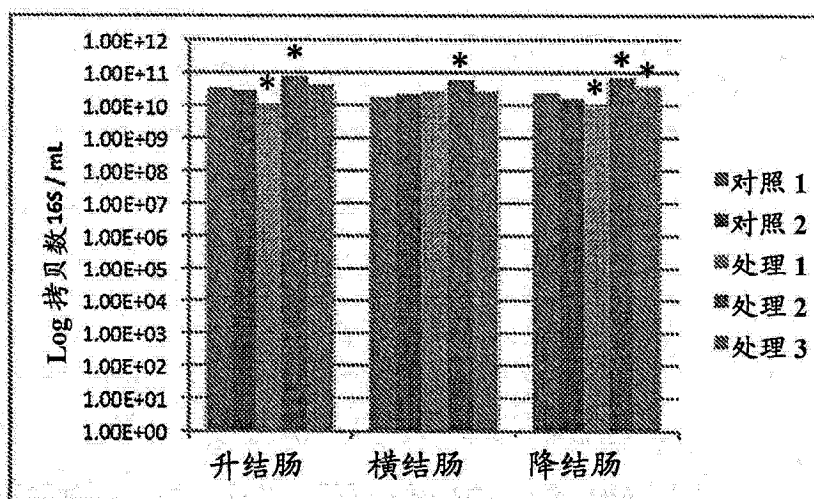


图 13B

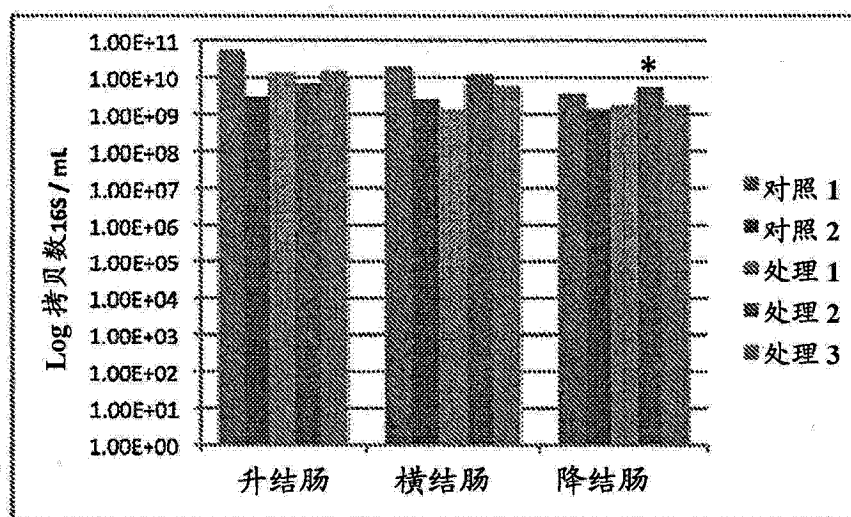


图 14A

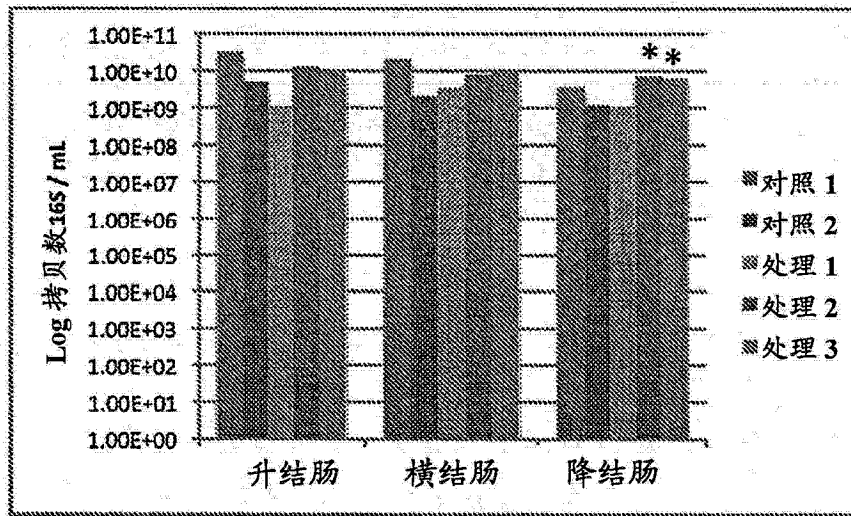


图 14B

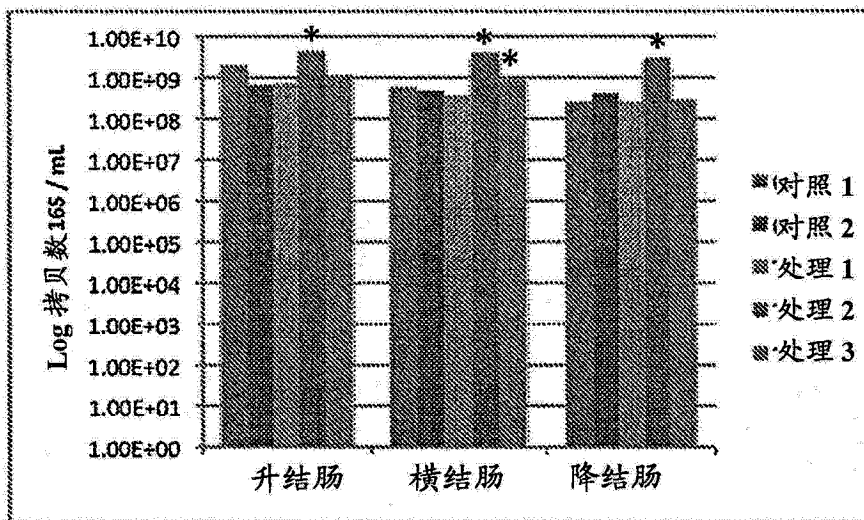


图 15A

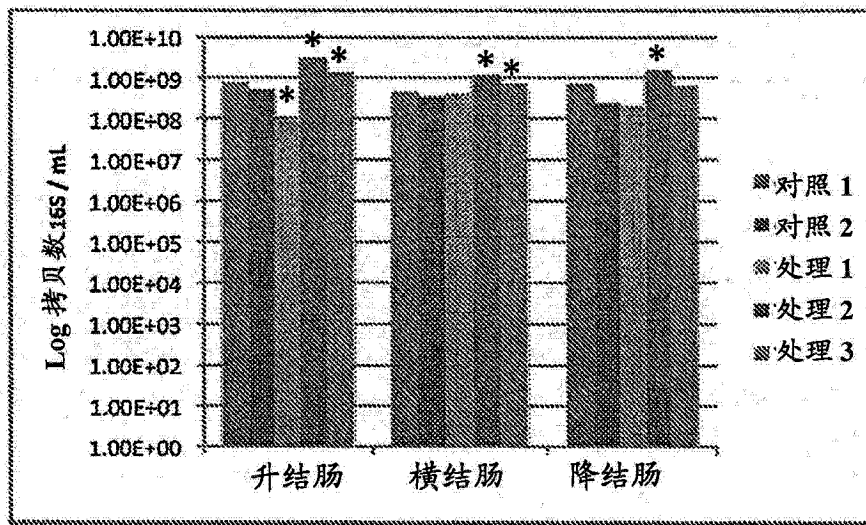


图 15B

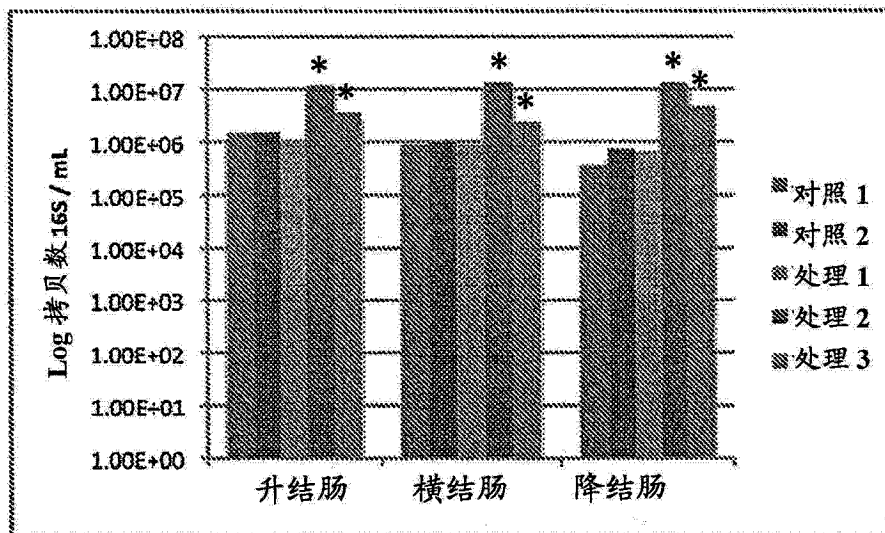


图 16A

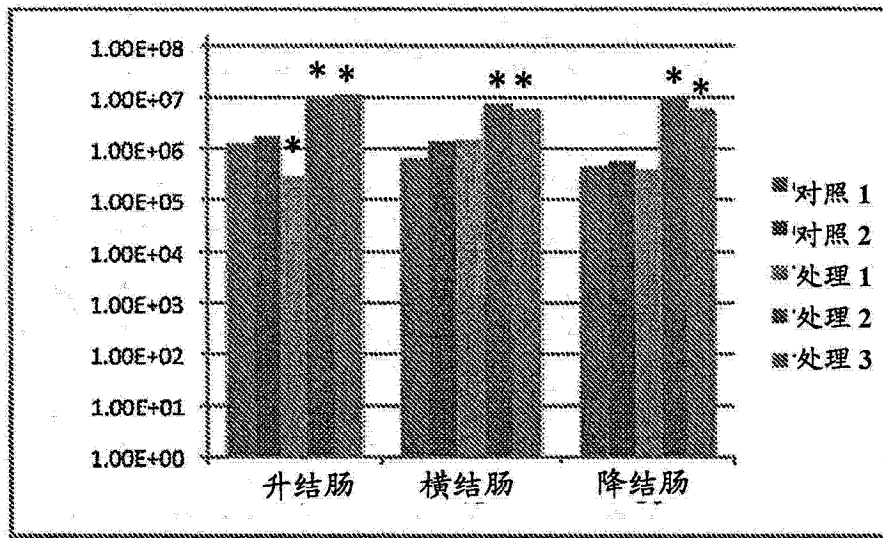


图 16B

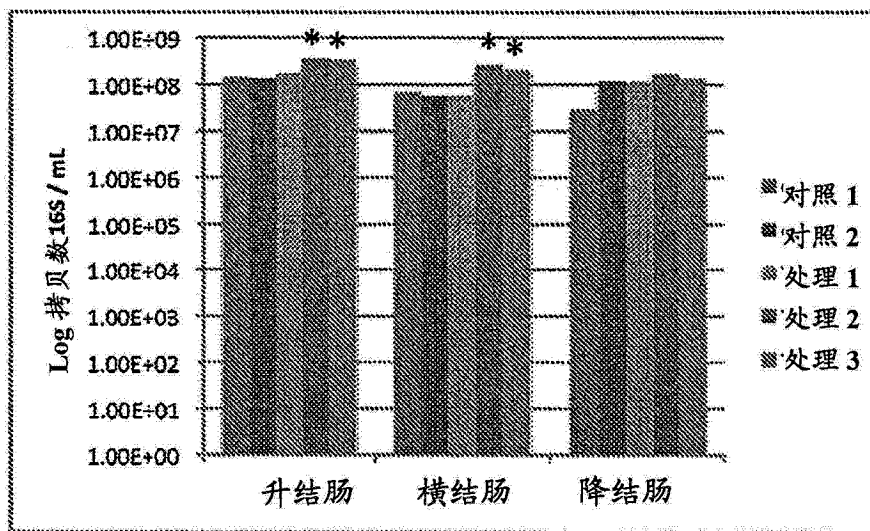


图 17A

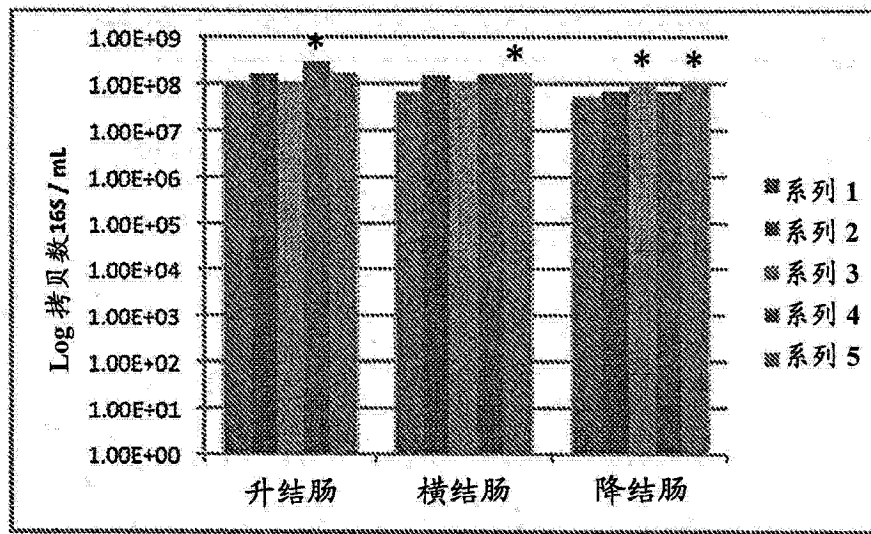


图 17B

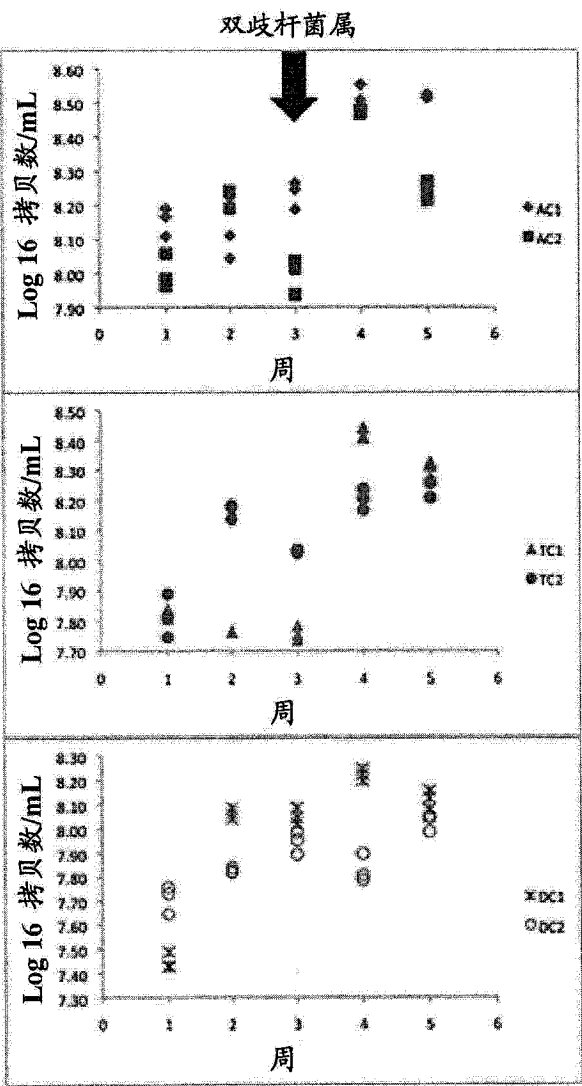


图 18A

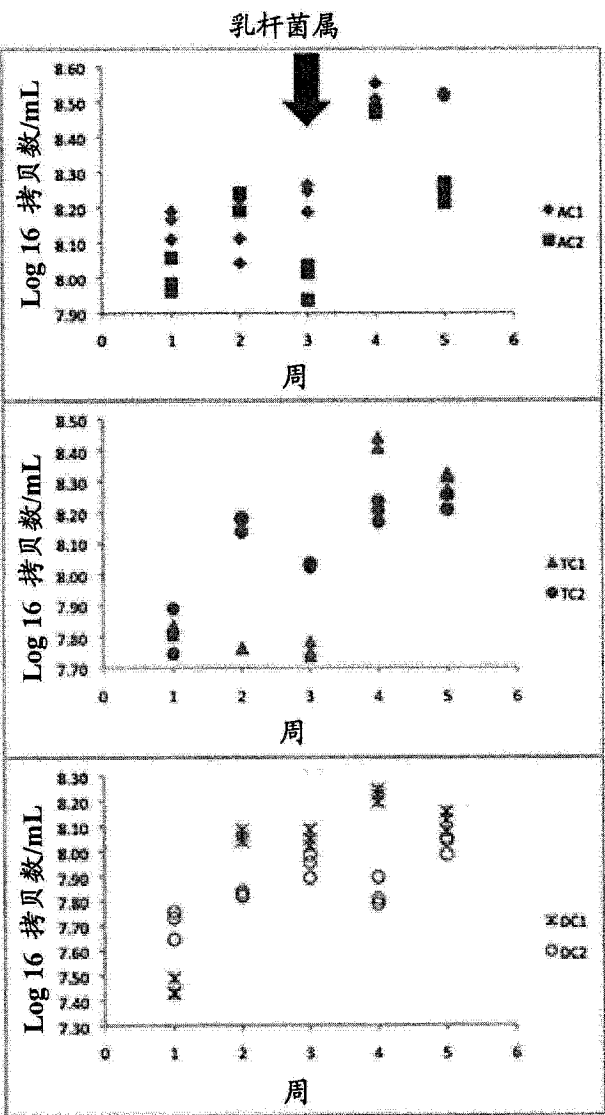


图 18B

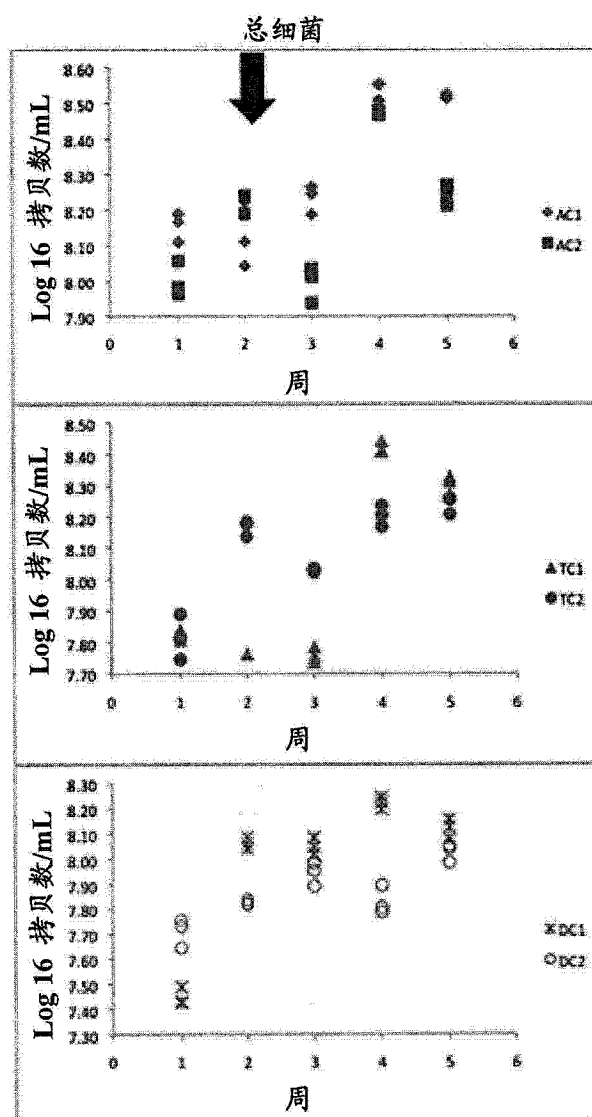


图 19A

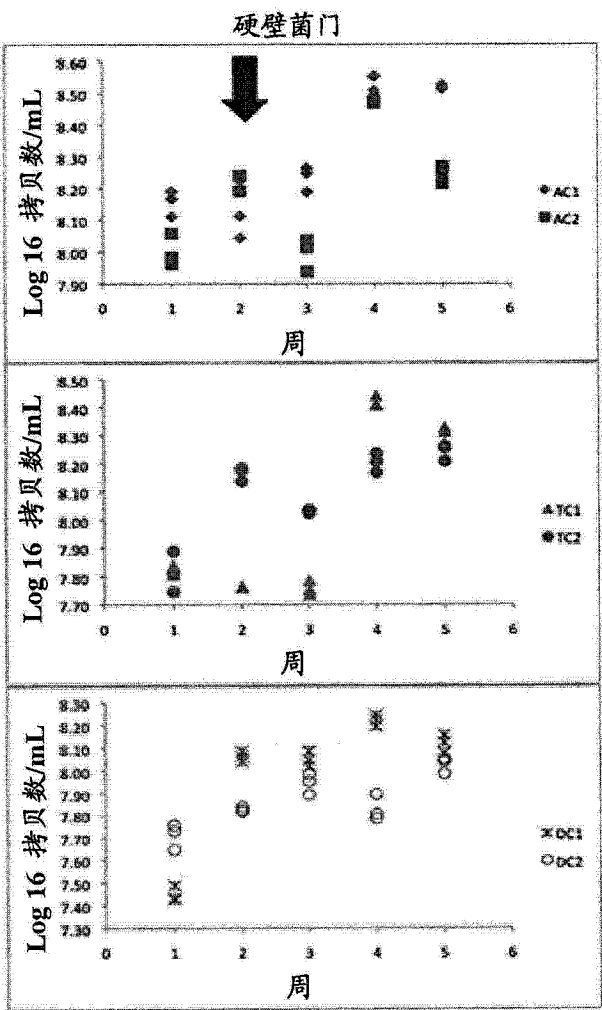


图 19B

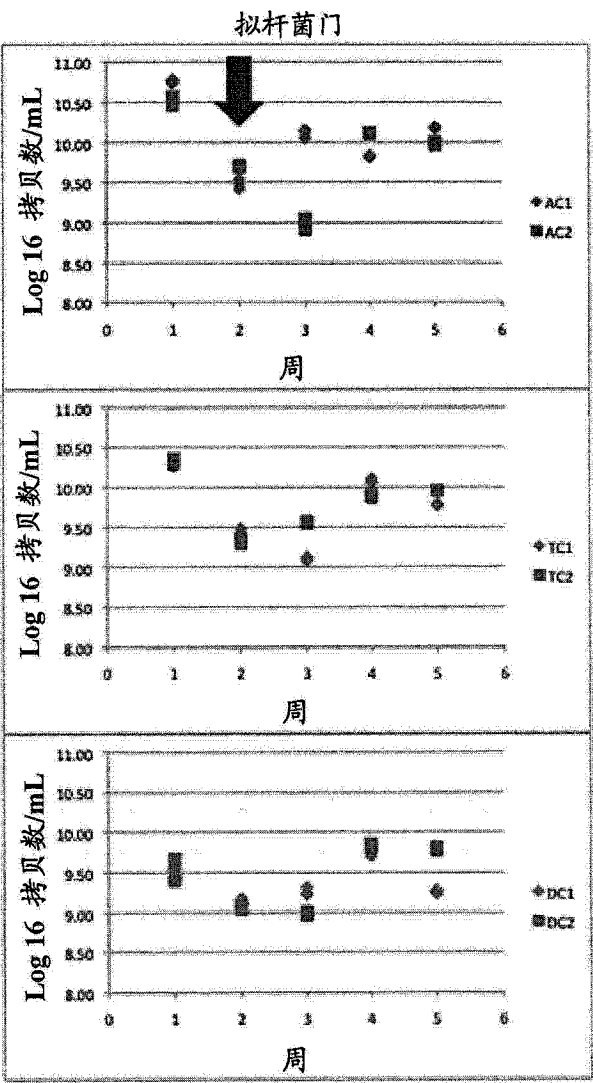


图 20