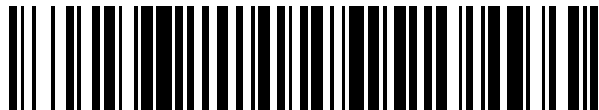


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 928 210**

51 Int. Cl.:

**A23L 29/30** (2006.01)

**A23L 33/125** (2006.01)

**A61K 31/702** (2006.01)

**C07H 3/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.11.2011 PCT/EP2011/070566**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2012 WO12069416**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2011 E 11784696 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2022 EP 2642876**

54 Título: **Producto alimentario que comprende una mezcla de oligosacáridos y proteínas hidrolizadas que se utiliza para reducir las alergias alimentarias**

30 Prioridad:

**23.11.2010 EP 10192231**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**16.11.2022**

73 Titular/es:

**SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (100.0%)  
Entre-deux-Villes  
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**SPRENGER, NORBERT y  
NEESER, JEAN-RICHARD**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 928 210 T3

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

Producto alimentario que comprende una mezcla de oligosacáridos y proteínas hidrolizadas que se utiliza para reducir las alergias alimentarias

5 Campo de la invención

10 La invención se refiere a un producto alimentario, especialmente un preparado para lactantes que comprende una mezcla de oligosacáridos combinada con proteínas hidrolizadas para la utilización en la prevención y la reducción del riesgo y/o la reducción de la gravedad y/o la reducción de la incidencia de efectos de alergia alimentaria sobre la salud, seleccionada de entre dermatitis atópica, erupción o enrojecimiento.

Antecedentes de la invención

15 El colon humano está colonizado por un amplio abanico de bacterias con efectos tanto positivos como negativos sobre la fisiología intestinal, así como otras influencias sistémicas. Entre los grupos predominantes de bacterias que se encuentran en el colon se incluyen especies de *Bacteroides*, en particular *Bifidobacteria*, *Eubacteria*, *Clostridia* y *Lactobacilli*. Estas bacterias presentan actividades fluctuantes en respuesta a la disponibilidad de sustratos, el potencial redox, el pH, la tensión de O<sub>2</sub> y su distribución en el colon. En general, las bacterias intestinales  
20 pueden clasificarse en especies que ejercen efectos potencialmente perjudiciales o potencialmente beneficiosos sobre su huésped. Entre los efectos patogénicos (que pueden estar causados por *Clostridia* o *Bacteroides*, por ejemplo) se incluyen diarrea, infecciones, daño hepático, carcinogénesis y putrefacción intestinal. Pueden inducirse efectos de estimulación de la salud mediante la inhibición del crecimiento de las bacterias perjudiciales, la estimulación de funciones inmunitarias, mejoras de la digestión y absorción de nutrientes esenciales y la síntesis de vitaminas. Resulta deseable un incremento del número y/o actividades de grupos bacterianos (tales como bifidobacterias y lactobacilos) que pueden presentar propiedades de estimulación de la salud.

30 En referencia al caso específico de los niños, inmediatamente antes del nacimiento, se cree que el tracto gastrointestinal de un bebé es estéril. Durante el proceso del nacimiento, se encuentran bacterias del tracto digestivo y piel de la madre y empieza a ser colonizado. Existen grandes diferencias con la composición de la microbiota intestinal como respuesta a la alimentación del niño. La flora fecal de los bebés con lactancia materna incluye poblaciones apreciables de bifidobacterias con algunas especies de *Lactobacillus*, mientras que los bebés alimentados con preparados para lactantes presentan microbiotas más complejas, con especies de bifidobacterias y especies de *Bacteroides*, con la presencia habitual de *Clostridia* y estreptococos. Tras el destete, se establece un patrón en la microbiota intestinal que se asemeja al patrón adulto.

35 La leche materna es la recomendada para todos los lactantes. Sin embargo, en algunos casos la lactancia materna resulta inadecuada o no tiene éxito por motivos médicos o porque la madre decide no lactar. Se han desarrollado preparados para lactantes para estas situaciones.

40 Un enfoque para fomentar el número y/o las actividades de las bacterias beneficiosas en el colon es la adición de prebióticos a los productos alimentarios. Un prebiótico es un ingrediente alimentario no digestible que afecta beneficiosamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una bacteria o un número limitado de bacterias en el colon, mejorando de esta manera la salud del huésped. Dichos ingredientes son no digeribles en el sentido de que no son descompuestos y absorbidos en el estómago o intestino delgado y, de esta  
45 manera, pasan intactos al colon, en donde son fermentados selectivamente por las bacterias beneficiosas. Entre los ejemplos de prebióticos se incluyen determinados oligosacáridos, tales como los fructooligosacáridos (FOS) y los galactooligosacáridos (GOS).

50 Es conocido que la leche humana contiene una mayor cantidad de oligosacáridos indigeribles que la mayoría de otras leches animales. De hecho, los oligosacáridos indigeribles representan el tercer componente sólido más grande (después de la lactosa y los lípidos) en leche materna, encontrándose presentes a una concentración de entre 12 y 15 g/l en calostro y de entre 5 y 8 g/l en leche madura. Los oligosacáridos en la leche humana son altamente resistentes a la hidrólisis enzimática, lo que indica que estos oligosacáridos pueden mostrar funciones esenciales no relacionadas directamente con su valor calórico.

55 A medida que mejora nuestra comprensión de la composición de la leche humana, también se ha propuesto añadir prebióticos a los preparados para lactantes. Se encuentran disponibles comercialmente diversos preparados para lactantes complementados con prebióticos, tales como mezclas de fructooligosacáridos y galactooligosacáridos, por ejemplo. Sin embargo, dichas mezclas proporcionan solo una aproximación a la mezcla de oligosacáridos presente en la leche humana. Se han detectado en leche humana más de 100 componentes oligosacáridos diferentes, algunos de los cuales no han sido detectados, o se han detectado solo en cantidades pequeñas, en leches animales como la leche bovina. Se encuentran presentes oligosacáridos sialilados y oligosacáridos fucosilados tanto en la leche bovina como en el calostro, aunque solo en cantidades muy pequeñas.

60 La patente nº EP 0 975 235 B1 de Abbott Laboratories describe una composición nutricional sintética que comprende

uno o más oligosacáridos de leche humana, en la que los HMO en la composición se seleccionan de un grupo de ocho HMO (3-fucosil-lactosa, lacto-N-fucopentosa III, lacto-N-fucopentosa II, difucosil-lactosa, 2'-fucosil-lactosa, lacto-N-fucopentosa I, lacto-N-neotetrosa y lacto-N-fucopentosa V), en la que dicha composición está destinada a casos de lactantes, niños, adultos normales y saludables, o sujetos con necesidades especializadas, tales como las que acompañan a determinadas condiciones patológicas. Dicha patente europea afirma que, en términos generales, los oligosacáridos protegen a los lactantes de infecciones víricas y bacterianas de los tractos respiratorio, gastrointestinal y urogenital.

El documento nº US 2009/305996 se refiere a una composición para la estimulación de la salud de un bebé mediante la administración de la composición en una mujer embarazada, en particular a un método de mejora del desarrollo de la flora intestinal de un bebé después del nacimiento; el fortalecimiento del sistema inmunitario de un bebé antes o después del nacimiento, y/o la prevención de trastornos relacionados con el sistema inmunitario de un bebé antes del nacimiento, mediante la administración en una mujer embarazada con el bebé, de una composición que comprende un primer sacárido no digerible y soluble en agua.

El documento nº US 6 146 670 se refiere de manera general a la composición de productos nutricionales sintéticos que contienen oligosacáridos de la leche humana. Más específicamente, el producto nutricional sintético contiene por lo menos uno de los oligosacáridos siguientes: 3-fucosil-lactosa, lacto-N-fucopentosa III, lacto-N-fucopentosa II, difucosil-lactosa, 2' fucosil-lactosa, lacto-N-fucopentosa I, lacto-N-neotetrosa, lacto-N-fucopentosa V o lacto-N-tetrosa.

El documento nº JP 2003 292444 se refiere a un estimulante de la secreción de insulina, un inhibidor de la elevación de la glucosa en sangre, un agente de mejora de la diabetes, un estimulante del crecimiento y un agente para incrementar la insulina en la leche materna.

El documento nº US 2009/197806 se refiere a métodos para tratar diversos trastornos mediante la administración oral de adiponectina o un fragmento biológicamente activo de la misma.

El documento nº US 2003/181401 se refiere a un método para estimular la secreción de la insulina, a un método para suprimir la elevación del nivel de glucosa en sangre, a un método para la mejora de la diabetes mellitus, a un método para estimular el crecimiento de un animal y a un método para incrementar el nivel de insulina en la leche materna.

El documento nº US 2007/275881 se refiere a oligosacáridos y a oligosacáridos unidos a esqueletos, tales como proteínas, a métodos para preparar dichos oligosacáridos y a métodos para utilizarlos en el tratamiento y/o prevención de diversos trastornos.

Thurl et al. (1996), Analytical Biochemistry vol. nº 235 (2); páginas 202 a 206 se refieren a la cuantificación de compuestos oligosacáridos individuales en leche humana mediante la utilización de cromatografía de intercambio aniónico a pH elevado.

Thurl et. Al (1993), Zeitschrift Fuer Ernaehrungswissenschaft, vol. nº 32 (41), páginas 262 a 269 se refieren a variaciones en los oligosacáridos neutros y lactosa en la leche humana durante la alimentación.

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un producto alimentario que resulte eficaz como prebiótico, particularmente en el intestino humano.

Existe una necesidad de un producto alimentario, especialmente dirigido a bebés, niños y/o bebés neonatos que ayude a garantizar un estado inmunitario o inflamatorio normal o que mitigue o reduzca el efecto de las alergias alimentarias.

Existe una necesidad de un producto alimentario que proporcione los beneficios anteriormente indicados, conservando simultáneamente un metabolismo normal y equilibrado en el individuo.

Existe una necesidad de mejora de las condiciones intestinales humanas mediante una intervención de base no farmacológica que resulte compatible con individuos frágiles como niños o bebés.

Existe una necesidad de un producto alimentario que proporcione tolerancia oral a alérgenos.

#### Descripción resumida de la invención

La presente invención proporciona un producto alimentario para la utilización según se define en la reivindicación 1 en la prevención y reducción del riesgo y/o en la reducción de la gravedad y/o en la reducción de la incidencia de efectos de alergia alimentaria sobre la salud, seleccionada de entre dermatitis atópica, erupción o enrojecimiento. El producto alimentario es una composición nutricional sintética seleccionada del grupo que consiste en: un preparado para lactantes de inicio y un preparado para lactantes. Comprende una mezcla de oligosacáridos combinada con proteínas hidrolizadas, en la que la mezcla de oligosacáridos comprende por lo menos una N-acetil-lactosamina, por lo menos un oligosacárido sialilado y por lo menos un oligosacárido fucosilado. Dichas acetil-N-lactosaminas son lacto-N-

neotetrosa y lacto-N-tetrosa; dichos oligosacáridos sialilados son 6'-sialil-lactosa y 3'-sialil-lactosa, y dicho oligosacárido fucosilado es 2'-fucosil-lactosa.

5 La mezcla anteriormente indicada de ingredientes es una nueva composición protectora e inmunomoduladora que resulta particularmente eficaz como prebiótico en un producto alimentario. La mezcla es estructuralmente más similar a los oligosacáridos de la leche materna humana que los ingredientes prebióticos disponibles comercialmente, tales como FOS y GOS, debido al hecho de que comprende, por ejemplo, una mezcla de oligosacáridos ácidos (sialilados) y neutros (fucosilados o N-acetil-lactosamina) específicos.

10 En una realización, la mezcla de oligosacáridos puede obtenerse a partir de leche animal, tal como una o más de entre leche de vaca, cabra o búfala.

15 El consumo de un producto alimentario que contiene dicha mezcla de oligosacáridos como prebiótico estimulará selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una bacteria beneficiosa, o un número limitado de ellas, en el colon, y de esta manera mejorará la salud del huésped.

Descripción detallada de la invención

20 Tal como se utilizan en la presente memoria, los términos siguientes presentan los significados siguientes.

El término "lactante" se refiere a un niño de menos de 12 meses.

La expresión "niño de corta edad" se refiere a un niño de entre uno y tres años.

25 La expresión "preparado para lactantes" se refiere a un producto alimentario destinado para una utilización nutricional particular por lactantes durante los primeros cuatro a seis meses de vida y que satisface por sí mismo los requisitos nutricionales de esta categoría de persona (artículo 1.2 de la Directiva de la Comisión Europea nº 91/321/EEC de 14 de mayo de 1991 relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación).

30 La expresión "preparado para lactantes de inicio" se refiere a un producto alimentario destinado para la utilización nutricional particular por lactantes durante los primeros cuatro meses de vida.

35 La expresión "mejora de la tolerancia oral a alérgenos" se refiere a la reducción de la sensibilidad a alérgenos al ingerirlos por vía oral.

La expresión "composición nutricional" se refiere a una composición que nutre al sujeto. La composición nutricional habitualmente se administra por vía oral o intravenosa y habitualmente incluye una fuente de lípidos o grasas y una fuente de proteínas.

40 La expresión "composición sintética" se refiere a una composición obtenida por medios químicos y/o biológicos (p. ej., enzimas), que puede ser químicamente idéntica a la mezcla que se encuentra naturalmente en las leches de los mamíferos. Se dice que una composición es sintética a partir del momento en que por lo menos uno de sus componentes se obtiene por medios químicos y/o biológicos (p. ej., enzimáticos).

45 La expresión "composición hipoalérgica" se refiere a una composición que es improbable que cause reacciones alérgicas.

La expresión "oligosacárido sialilado" se refiere a un oligosacárido que presenta un residuo ácido siálico.

50 La expresión "oligosacárido fucosilado" se refiere a un oligosacárido que presenta un residuo de fucosa.

55 El término "prebiótico" se refiere a carbohidratos no digeribles que afectan beneficiosamente al huésped al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de bacterias saludables, tales como las bifidobacterias en el colon del ser humano (Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr. 125:1401-12, 1995).

60 El término "probiótico" se refiere a preparaciones de células microbianas o de componentes de células microbianas con un efecto beneficioso sobre la salud o bienestar del huésped. (Salminen S, Ouwehand A, Benno Y. et al. "Probiotics: how should they be defined" Trends Food Sci. Technol. 10 107-10, 1999).

Una "alergia" es una alergia que ha sido detectada por un médico y que puede tratarse ocasionalmente o de una forma más duradera. Una "alergia alimentaria" es una alergia a una composición nutricional.

65 Todos los porcentajes son en peso, a menos que se indique lo contrario.

La mezcla de oligosacáridos es preferentemente una composición hipoalérgica.

Un producto alimentario comprende una mezcla de oligosacáridos que comprende como N-acetil-lactosamina, lacto-N-tetrosa y lacto-N-neotetrosa; como oligosacárido sialilado, 3'-sialil-lactosa y 6'-sialil-lactosa, y como por lo menos un oligosacárido fucosilado, 2'-fucosil-lactosa.

Los inventores han encontrado que, inesperadamente, la mezcla de oligosacáridos, en el caso de que esté comprendida en un producto alimentario, resulta particularmente ventajosa para prevenir y reducir el riesgo y/o reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de efectos alérgicos alimentarios sobre la salud. Dichos efectos son la dermatitis atópica, erupciones o enrojecimiento.

La mezcla de oligosacáridos puede obtenerse a partir de leches animales. La leche puede obtenerse de cualquier mamífero, en particular, de vacas, cabras, búfalas, yeguas, elefantes, camellos u ovejas.

Dicha mezcla de oligosacáridos contiene como N-acetil-lactosaminas, lacto-N-tetrosa (LNT) y lacto-N-neotetrosa (LNnT).

LNT y LNnT pueden sintetizarse químicamente mediante transferencia enzimática de unidades sacáridas a partir de fracciones donantes a fraccionesceptoras mediante la utilización de glucosiltransferasas, tal como se indica en, por ejemplo, la patente US nº 5.288.637 y en el documento nº WO 96/10086. Alternativamente, LNT y LNnT pueden prepararse mediante conversión química de ceto-hexosas (p. ej., fructosa), libre o unida a un oligosacárido (p. ej., lactulosa) en N-acetilhexosamina o un oligosacárido que contiene N-acetilhexosamina, tal como se indica en Wrodnigg, T.M.; Stutz, A.E. *Angew. Chem. Int. Ed.* 38:827-828. La N acetil-lactosamina producida de esta manera seguidamente puede transferirse a la lactosa como fracción aceptora.

Preferentemente, la mezcla de oligosacáridos contiene entre 0,1 y 3 g de lactosa(s) N-acetil-lactosamina/100 g de mezcla de oligosacáridos en peso seco.

Los oligosacáridos sialilados 3'-sialil-lactosa y 6'-sialil-lactosa pueden aislarse mediante cromatografía o filtración a partir de una fuente natural, tal como leches animales. Alternativamente, también pueden producirse por medios biotecnológicos mediante la utilización de sialiltransferasas o sialidasas específicas, neuraminidasas, mediante una tecnología de fermentación basada en enzimas (enzimas recombinantes o naturales), mediante síntesis química o mediante tecnología de fermentación microbiana. En este último caso, los microbios pueden expresar sus enzimas y sustratos naturales o pueden manipularse para producir los sustratos y enzimas respectivos. Pueden utilizarse cultivos microbianos individuales o cultivos mixtos. La formación de sialil-oligosacáridos puede ser iniciada por sustratos aceptores partiendo de cualquier grado de polimerización (GP), de GP=1 en adelante.

Preferentemente, la mezcla de oligosacáridos contiene entre 0,05 y 2 g, más preferentemente entre 0,1 y 2 g de uno o más oligosacáridos sialilados por cada 100 g de mezcla de oligosacáridos en peso seco.

El oligosacárido fucosilado es la 2'-fucosil-lactosa.

El oligosacárido fucosilado puede aislarse mediante una tecnología de cromatografía o filtración a partir de una fuente natural, tal como leches animales. Alternativamente, puede producirse por medios biotecnológicos mediante la utilización de fucosiltransferasas y/o fucosidasa específicas mediante la utilización de una tecnología de fermentación basada en enzimas (enzimas recombinantes o naturales) o tecnología de fermentación microbiana. En este último caso, los microbios pueden expresar sus enzimas y sustratos naturales o pueden manipularse para producir los sustratos y enzimas respectivos. Pueden utilizarse cultivos microbianos individuales y/o cultivos mixtos. La formación de oligosacáridos fucosilados puede ser iniciada por sustratos aceptores partiendo de cualquier grado de polimerización (GP), de GP=1 en adelante. Alternativamente, pueden producirse oligosacáridos fucosilados mediante síntesis química a partir de lactosa y fucosa libre. Los oligosacáridos fucosilados también se encuentran disponibles de, por ejemplo, Kyowa, Hakko, Kogyo de Japón.

Preferentemente, la mezcla de oligosacáridos contiene entre 0,1 y 3 g de uno o más oligosacáridos fucosilados por cada 100 g de mezcla de oligosacáridos en peso seco.

En una realización preferente, la mezcla de oligosacáridos comprende entre 0,05 y 3 g de la cantidad total de uno o más N-acetil-lactosaminas, uno o más oligosacáridos sialilados y uno o más oligosacáridos fucosilados por cada 100 g de mezcla de oligosacáridos.

La mezcla de oligosacáridos indicada anteriormente se incorpora en un producto alimentario. En el contexto de la presente invención, la expresión "producto alimentario" pretende comprender cualquier sustancia consumible.

De esta manera, la invención también incluye un producto alimentario que comprende la mezcla de oligosacáridos. Dicho producto alimentario preferentemente comprende una fuente de proteínas, una fuente de grasas y una fuente de carbohidratos.

El producto alimentario según la invención es preferentemente una composición hipoalergénica.

5 El producto alimentario según la invención contiene, además, una fuente de proteínas. El tipo de proteína no se considera crucial para la presente invención con la condición de que se alcancen los requerimientos mínimos de contenido de aminoácidos esenciales y se garantice un crecimiento satisfactorio. De esta manera, las fuentes de proteínas basadas en suero, caseína y mezclas de los mismos pueden utilizarse también como fuentes de proteínas basadas en la soja. Sin embargo, la fuente de proteínas preferentemente comprende entre 20 % y 95 % de proteínas del suero y/o proteínas derivadas a partir de suero. En lo que se refiere a las proteínas del suero, la fuente de proteínas puede estar basada en suero ácido o suero dulce o mezclas de los mismos, y puede incluir alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina en cualesquiera proporciones deseadas.

15 El producto alimentario según la presente invención generalmente contiene una fuente de carbohidratos. Lo anterior resulta particularmente preferente en el caso de que el producto alimentario de la invención sea un preparado para lactantes. En este caso, puede utilizarse cualquier fuente de carbohidratos convencionalmente presente en los preparados para lactantes, tal como lactosa, sacarosa, maltodextrina, almidón y mezclas de los mismos, aunque la fuente preferente de carbohidratos es la lactosa.

20 El producto alimentario según la presente invención generalmente contiene una fuente de lípidos. Lo anterior resulta particularmente relevante en el caso de que el producto alimentario de la invención sea un preparado para lactantes. En este caso, la fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa, que resulte adecuada para la utilización en preparados para lactantes. Entre las fuentes de grasas preferentes se incluyen aceite de palma oleico, aceite de girasol alto oleico y aceite de cártamo alto oleico. Los ácidos grasos esenciales linoleico y  $\alpha$ -linoléico también pueden añadirse como cantidades pequeñas de aceites que contienen cantidades elevadas de ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico preformado, tal como aceites de pescado o aceites microbianos. La fuente de grasa preferentemente presenta una proporción de ácidos grasos n-6 a n-3 de entre aproximadamente 5:1 y aproximadamente 15:1, por ejemplo, de entre aproximadamente 8:1 y aproximadamente 10:1.

30 El producto alimentario de la invención contiene, además, preferentemente todas las vitaminas y minerales que se entiende que resultan esenciales en la dieta diaria y en cantidades nutricionalmente significativas. Los requisitos mínimos han sido establecidos para determinadas vitaminas y minerales. Entre los ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes presentes opcionalmente en el producto alimentario de la invención se incluyen vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantoténico, colina, calcio, fósforo, yodo, hierro, magnesio, cobre, cinc, manganeso, cloro, potasio, sodio, selenio, cromo, molibdeno, taurina y L-carnitina. Los minerales habitualmente se añaden en forma de sal. La presencia y cantidades de minerales específicos y otras vitaminas variarán según la población objetivo.

40 En caso necesario, el producto alimentario de la invención puede contener, además, emulsionantes y estabilizantes, tales como soja, lecitina, ésteres de ácido cítrico de monoglicéridos y diglicéridos, y similares.

El producto alimentario de la invención puede contener, además, otras sustancias, que pueden presentar un efecto beneficioso, tales como lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos y similares.

45 El producto alimentario según la invención es una composición nutricional sintética. En este caso, puede ser un preparado para lactantes de inicio o un preparado para lactantes.

50 El producto alimentario de la invención puede comprender, además, por lo menos una cepa bacteriana probiótica, en el que dicha cepa bacteriana probiótica preferentemente es de bifidobacterias y/o lactobacilos. Dicho producto alimentario resulta particularmente ventajoso para la mejora de la tolerancia oral a alérgenos.

55 Entre las cebras bacterianas probióticas adecuadas se incluyen *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 disponibles de Valio Oy de Finlandia bajo la marca comercial LGG, *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116, *Lactobacillus reuteri* comercializado por BioGaia A.B bajo la marca comercial Reuteri, *Lactobacillus johnsonii* CNCM I-1225, *Streptococcus salivarius* DSM 13084 comercializado por BLIS Technologies Limited de Nueva Zelanda bajo la denominación K12, *Bifidobacterium lactis* CNCM 1-3446 comercializado, entre otros, por la compañía Christian Hansen de Dinamarca bajo la marca comercial Bb 12, *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999 comercializado por Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón bajo la marca comercial BB536, *Bifidobacterium breve* comercializado por Danisco bajo la marca comercial Bb-03, *Bifidobacterium breve* comercializado por Morinaga bajo la marca comercial M-16V, *Bifidobacterium infantis* comercializado por Procter & Gamble Co. bajo la marca comercial Bifantis y *Bifidobacterium breve* comercializado por Institut Rosell (Lallemand) bajo la marca comercial R0070.

65 El producto alimentario de la invención puede comprender, además, por lo menos un prebiótico, habitualmente en una cantidad de entre 0,3 % y 10 % en peso de producto alimentario.

Por ejemplo, el producto alimentario puede comprender, además, prebióticos diferentes de N-acetil-lactosamina, del

oligosacárido sialilado y del oligosacárido fucosilado según la invención. Los prebióticos habitualmente son no digeribles en el sentido de que no resultan descompuestos y absorbidos en el estómago o intestino delgado y, de esta manera, se mantienen intactos al pasar hacia el colon, en donde son fermentados selectivamente por las bacterias beneficiosas. Entre los ejemplos de prebióticos se incluyen determinados oligosacáridos, tales como los fructooligosacáridos (FOS) y los galactooligosacáridos (GOS). Puede utilizarse una combinación de prebióticos, tal como 90 % GOS con 10 % de fructooligosacáridos de cadena corta, tal como en el producto de BENE-O-Orafti comercializado bajo la marca comercial de oligofruktosa Orafti® (anteriormente Raftilose®) o 10 % de inulina, tal como en el producto comercializado por BENE-O-Orafti bajo la marca comercial de inulina Orafti® (anteriormente Raftiline®). Una combinación particularmente preferente de prebióticos es 70 % de fructooligosacáridos de cadena corta y 30 % de inulina, que es un producto comercializado por BENE-O-Orafti bajo la marca comercial "Prebio 1".

Según la invención, el producto alimentario según la invención es para la utilización en la prevención y reducción del riesgo y/o la reducción de la gravedad y/o la reducción de la incidencia de efectos de alergia alimentaria sobre la salud, seleccionados de entre dermatitis atópica, erupciones o enrojecimiento.

La composición según la invención comprende proteínas hidrolizadas. La composición según la invención puede comprender, además, otros compuestos nutricionales que actúan sinérgicamente con los oligosacáridos reivindicados para proporcionar los beneficios reivindicados sobre la piel, tales como las alergias cutáneas o la dermatitis atópica. Dichos compuestos adicionales pueden ser, por ejemplo, proteínas no hidrolizadas específicas, proteínas de baja alergenicidad (es decir, proteínas hidrolizadas o parcialmente hidrolizadas), ingredientes bajos en lactosa, sacáridos bajos en lactosa o sacáridos hidrolizados. Se plantea que la sinergia de los ingredientes puede establecerse a partir del hecho de que los ingredientes todos juntos ayudan a mantener un nivel fisiológico bajo de un efecto que se mantiene bajo el umbral a partir del cual empezarían a manifestarse efectos cutáneos (tales como la dermatitis atópica).

Los usos comprenden el hecho de que el producto alimentario es un complemento, preferentemente proporcionado en la forma de dosis unitarias.

El producto alimentario según la invención está destinado a la utilización en bebés. Las composiciones y usos según la presente invención resultan particularmente adecuados para bebés en riesgo de alergias, con una historia familiar de alergias o que ya han experimentado algunos episodios de alergias (especialmente alergias respiratorias o alergias cutáneas).

El producto alimentario puede prepararse de cualquier manera adecuada que sea conocida de la técnica según el tipo de producto, y la mezcla de oligosacáridos puede añadirse al producto en una etapa apropiada del procedimiento de fabricación. Por ejemplo, puede prepararse un preparado para lactantes mediante la mezcla de la fuente de proteínas, junto con cualesquiera carbohidratos diferentes de la lactosa, y la fuente de grasas en proporciones apropiadas. Si se desea pueden añadirse emulsionantes. Pueden añadirse vitaminas y minerales en este punto, pero habitualmente se añaden posteriormente para evitar la degradación térmica. Pueden disolverse vitaminas lipofílicas, emulsionantes y similares en la fuente de grasas antes de la mezcla. A continuación, puede mezclarse agua, preferentemente agua que ha sido sometida a ósmosis inversa, para formar una mezcla líquida.

La mezcla líquida a continuación puede tratarse térmicamente para reducir las cargas bacterianas, por el calentamiento rápido de la mezcla líquida a una temperatura comprendida en el intervalo entre aproximadamente 80°C y aproximadamente 150°C durante un periodo de entre aproximadamente 5 segundos y aproximadamente 5 minutos, por ejemplo. Lo anterior puede llevarse a cabo por medio de la inyección de vapor, una autoclave o un intercambiador de calor, por ejemplo, una placa intercambiadora de calor.

A continuación, la mezcla líquida puede enfriarse hasta una temperatura de entre aproximadamente 60°C y aproximadamente 85°C, por ejemplo, mediante enfriamiento ultrarrápido. La mezcla líquida a continuación puede homogeneizarse nuevamente, por ejemplo, en dos etapas entre aproximadamente 10 MPa y aproximadamente 30 MPa en la primera etapa y entre aproximadamente 2 MPa y aproximadamente 10 MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada seguidamente puede enfriarse adicionalmente para añadirse cualesquiera componentes sensibles al calor, tales como vitaminas y minerales. El pH y contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada se ajustan convenientemente en este punto.

La mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado adecuado, tal como un secador por pulverización o liofilizador y se convierte en polvos. Los polvos deben presentar un contenido de humedad inferior a aproximadamente 5% en peso. La N-acetil-lactosamina, el oligosacárido u oligosacáridos sialilados y el oligosacárido u oligosacáridos fucosilados pueden añadirse en esta etapa mediante mezcla en seco junto con la cepa o cepas bacterias probióticas en caso de utilizarlas, o mediante la combinación de las mismas en una forma de jarabe de cristales, junto con la cepa o cepas bacterianas probióticas, en caso de utilizarse, y secarse por pulverización (o liofilizarse).

La mezcla de oligosacáridos preferentemente se añade directamente al preparado para lactantes mediante mezcla en seco. Sin embargo, en el caso de que se haya preparado a partir de una leche animal, por ejemplo, tal como se indica posteriormente, puede resultar conveniente añadir la mezcla de oligosacáridos sin eliminar en primer lugar toda la

lactosa. Debido a que un preparado para lactantes contiene un componente carbohidrato que con frecuencia está total o parcialmente constituido por lactosa, resultará evidente para el experto en la materia que necesitará ajustarse la cantidad de carbohidratos en el preparado para lactantes a fin de considerar el carbohidrato adicional que será proporcionado por la mezcla de oligosacáridos añadida. La concentración final de la mezcla de oligosacáridos en el preparado para lactantes es preferentemente de entre 0,3 % y 4 %, preferentemente de entre 0,75 % y 1,54 % en peso de materia seca. Lo anterior corresponde a una concentración de entre 0,2 y 5 gramos por litro de fórmula reconstituida, preferentemente de entre 1 y 2 g/l. Sin embargo, dichas cantidades no deben interpretarse como limitativas y deberían adaptarse a la población diana, por ejemplo basándose en el peso y la edad o la salud del bebé. Preferentemente, la fórmula o alimento que contiene la mezcla de oligosacáridos se proporciona al bebé en cada toma.

Alternativamente, las mezclas de oligosacáridos pueden añadirse a productos alimentarios infantiles húmedos mediante mezcla en húmedo. La mezcla puede añadirse al preparado para lactantes a concentraciones de entre aproximadamente 0,2 y aproximadamente 5 gramos de oligosacáridos por cada litro de producto. Sin embargo, dichas cantidades no deberían interpretarse como limitativas y deberían adaptarse a la población diana, por ejemplo basándose en el peso y la edad del niño de corta edad o bebé, o la salud de la población específica. En el caso de que se utilice la mezcla en húmedo, la combinación de oligosacáridos preferentemente se añade en la forma de jarabe. El jarabe puede contener hasta 80 % de sólidos totales, aunque sin limitación.

Además de la mezcla de oligosacáridos, un producto alimentario tal como un preparado para lactantes puede comprender uno o más oligosacáridos adicionales que se añaden por separado.

A continuación, se ilustra la invención mediante la referencia a los ejemplos siguientes.

#### Ejemplo 1

Se proporciona a continuación un ejemplo de un preparado para lactantes que contiene una mezcla de oligosacáridos según la presente invención. Otro ejemplo se basa en los preparados para lactantes comerciales NAN y/o Lactogen (de Nestle, Suiza) a los que se añaden los oligosacáridos específicos de la invención tal como en las cantidades indicadas posteriormente.

Nutriente	por cada 100 kcal	por litro
Energía (kcal)	100	670
Proteínas (g)	1,83	12,3
Grasas (g)	5,3	35,7
Ácido linoleico (g)	0,79	5,3
Ácido $\alpha$ -linoléico (mg)	101	675
Lactosa (g)	11,2	74,7
Minerales (g)	0,37	2,5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn ( $\mu$ g)	8	50
Se ( $\mu$ g)	2	13
Vitamina A ( $\mu$ g de ER)	105	700
Vitamina D ( $\mu$ g)	1,5	10
Vitamina E (mg de ET)	0,8	5,4
Vitamina K1 ( $\mu$ g)	8	54
Vitamina C (mg)	10	67
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)	0,15	1,0
Niacina (mg)	1	6,7
Vitamina B6 (mg)	0,075	0,50
Ácido fólico ( $\mu$ g)	9	60
Ácido pantoténico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 ( $\mu$ g)	0,3	2
Biotina ( $\mu$ g)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I ( $\mu$ g)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5

(continuación)

Nutriente	por cada 100 kcal	por litro
3'-sialil-lactosa (mg)	30	200
6'-sialil-lactosa (mg)	6	40
LNnT (mg)	30	200
	0,3	2,0

Datos experimentales:

5

resumen de los resultados

Los resultados descritos de manera general posteriormente muestran que una combinación específica de oligosacáridos estimula la actividad metabólica y crecimiento de las bacterias del ácido láctico, tales como *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*. Sin deseo de restringirse a ninguna teoría en particular, dicho efecto podría explicar en parte la observación de que cantidades relativamente reducidas de dichas combinaciones de oligosacáridos específicos se observan en la leche temprana de madres, cuyos hijos nacidos por cesárea desarrollaron alergias atópicas y especialmente eccema atópico hasta la edad de 2 años. Ello indica que, según la invención, proporcionar una composición nutricional con un nivel garantizado de la combinación de oligosacáridos específicos junto con proteínas hidrolizadas (total, ampliamente o parcialmente) podría ayudar a reestablecer el equilibrio natural de bacterias en el tracto intestinal de los bebés y/o de esta manera, influir positivamente en el estado de salud con respecto a la prevención y/o el tratamiento de condiciones cutáneas y enfermedades cutáneas, preferentemente la dermatitis atópica. Adicionalmente, mediante la provisión de un ejemplo de un efecto nuevo y real sobre la salud de la composición nutricional de la invención, especialmente en forma de un preparado para lactantes, los resultados demuestran la utilidad de la invención.

15

20

Modelo de estudio nº 1: estimulación de *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*

Enfoque:

25

30

*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* (ATCC15697) se cultivó bajo condiciones anaeróbicas en medio de cultivo API complementado con 1 % (p/v) de glucosa, o 1 % (p/v) de 2'-fucosil-lactosa (2FL) o 1 % (p/v) de lacto-N-neotetrasa (LNnT) o 1 % (p/v) de 6'-sialil-lactosa (6SL) o 1 % (p/v) de una combinación de cantidades iguales de 2FL, LNnT y 6SL. Se diluyó cada cultivo de durante la noche hasta una DO<sub>600</sub> inicial de 0,1 en DMEM (medio de Eagle modificado por Dulbecco) que contenía como fuente de carbono 0,1 % de glucosa. Se utilizó dicho medio sin ningún complemento adicional de carbohidrato o con la adición de 1 % (p/v) de glucosa o 1 % (p/v) de 2'-fucosil-lactosa (2FL) o 1 % (p/v) de lacto-N-neotetrasa (LNnT) o 1 % (p/v) de 6'-sialil-lactosa (6SL) o 1 % (p/v) de una combinación de cantidades iguales de 2FL, LNnT y 6SL. De esta manera, el acondicionamiento del medio DMEM se llevó a cabo a 37°C bajo condiciones anaeróbicas.

35

40

Tras otra incubación durante la noche, se realizó un seguimiento del crecimiento de las bacterias mediante la medición de la DO a 600 nm. A continuación, se centrifugó el medio acondicionado y se filtraron los sobrenadantes a través de un filtro de 0,22 micrómetros para eliminar las bacterias. Se cuantificó el acetato en el medio acondicionado, mediante HPLC con una columna Hi-Plex H y un detector de UV.

Resultados:

45

Inesperadamente, los presentes inventores encontraron que una combinación de oligosacáridos compuesta de partes iguales de un oligosacárido fucosilado (p. ej., 2'-FL), un oligosacárido N-acetilado (p. ej., LNnT) y un oligosacárido sialilado (p. ej., 6SL) incrementó significativamente la actividad metabólica de una bacteria del ácido láctico (p. ej., una bifidobacteria), según se observó con la formación de acetato (figura 1).

La combinación de oligosacáridos también estimuló el crecimiento de la bacteria (figura 2).

50

La figura 1 ilustra los resultados experimentales que indican una estimulación metabólica de una bifidobacteria (*B. longum* subsp. *infantis*) en medio de cultivo DMEM sin carbohidratos adicionales o con glucosa adicional (Glc) o lacto-N-neotetrasa (LNnT) o 2'-fucosil-lactosa (2FL) o 6'-sialil-lactosa (6SL) o una combinación de LNnT, 6SL y 2FL. (n=6; se muestra la media con error estándar de la media; se indica la significancia en ANOVA (p<0,01). Observación: únicamente la combinación de LNnT, 6SL y 2FL estimuló significativamente la producción de acetato.

55

60

La figura 2 ilustra los resultados experimentales, que muestran el crecimiento *in vitro* de una bifidobacteria (*B. longum* subsp. *infantis*) en medio de cultivo sin carbohidratos adicionales o con adición de glucosa (Glc) o lacto-N-neotetrasa (LNnT) o 2'-fucosil-lactosa (2FL) o 6'-sialil-lactosa (6SL) o una combinación de LNnT, 6SL y 2FL. (n=4; se muestra la media con error estándar de la media; se indica la significancia en ANOVA (p<0,02), indicada mediante letras minúsculas).

Modelo de estudio nº 2: análisis epidemiológico retrospectivo de muestras de leche materna e incidencia de enfermedades alérgicas hasta la edad de 2 años.

5 Enfoque:

10 A partir de una cohorte de aproximadamente 52 pares de madres de bebés nacidos por cesárea, los presentes inventores analizaron muestras de leche temprana para las cantidades presentes de oligosacáridos específicos. Con este fin, se diluyeron 10 a 100 veces en agua, muestras de leche desnatada, y se analizaron mediante HPAEC (Dionex) dotada de una columna aCarboPac PA1 (Dionex) y un detector electroquímico. La identificación y cuantificación de oligosacáridos se llevó a cabo con estándares de oligosacáridos auténticos. Los presentes inventores representaron gráficamente la ausencia o presencia de (A) enfermedades alérgicas, (B) alergias atópicas, (C) eccema atópico en bebés frente a las cantidades de una combinación de oligosacáridos compuesta de 2FL, LNnT y 6SL (figura 3) o compuesta de 2FL, LNnT, LNT (lacto-N-tetrosa), 6SL y 3SL (3'-sialil-lactosa) (figura 4).

15 La figura 3 ilustra los resultados experimentales obtenidos en bebés nacidos por cesárea, de ausencia (no) y presencia (sí) de (A) enfermedades alérgicas, (B) alergias atópicas, (C) eccema atópico, hasta los 2 años de edad. Se representan gráficamente las cantidades de una combinación de oligosacáridos específicos medidas en leche materna. En esta, la combinación representada de oligosacáridos es la suma de 2'-fucosil-lactosa (2FL), lacto-N-neotetrosa (LNnT) y 6'-sialil-lactosa (6SL). (se indica la significancia estadística) La figura 4 ilustra los resultados experimentales obtenidos en bebés nacidos por cesárea, de ausencia (no) y presencia (sí) de (A) enfermedades alérgicas, (B) alergias atópicas, (C) eccema atópico, hasta los 2 años de edad. Se representan gráficamente las cantidades de una combinación de oligosacáridos específicos medidas en leche materna. En esta, la combinación representada de oligosacáridos es la suma de 2'-fucosil-lactosa (2FL), lacto-N-neotetrosa (LNnT), lacto-N-tetrosa (LNT), 6'-sialil-lactosa (6SL) y 3'-sialil-lactosa (3SL).

25 (se indica la significancia estadística)

30 Resultados:

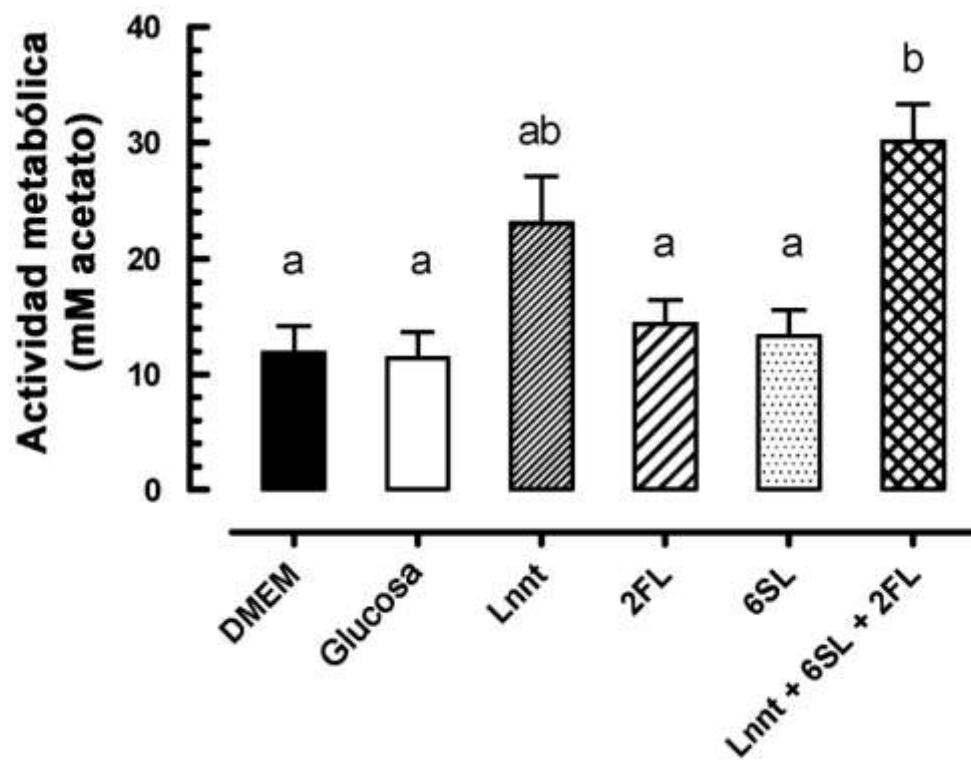
Inesperadamente, los presentes inventores encontraron una tendencia a niveles relativamente bajos de combinaciones de oligosacáridos específicos en leche temprana al desarrollar los bebés una enfermedad alérgica (figuras 3A y 4A). Para las enfermedades atópicas, y especialmente el eccema atópico, los presentes inventores midieron niveles significativamente más bajos de las combinaciones de oligosacáridos en la leche temprana de madres cuyos niños desarrollaron dichas alergias hasta la edad de 2 años.

35

**REIVINDICACIONES**

- 1 .Producto alimentario para la utilización en la prevención y reducción del riesgo y/o la reducción de la gravedad y/o la reducción de la incidencia de los efectos de alergia alimentaria sobre la salud seleccionados de entre dermatitis atópica, erupciones o enrojecimiento,  
5 en el que dicho producto alimentario es una composición nutricional sintética seleccionada del grupo que consiste en: un preparado para lactantes de inicio y un preparado para lactantes, y dicho producto alimentario comprende una mezcla de oligosacáridos combinada con proteínas hidrolizadas, en el que la mezcla de oligosacáridos que comprende acetil-N-lactosaminas, oligosacáridos sialilados y por lo menos un  
10 oligosacárido fucosilado y en el que dichas acetil-N-lactosaminas son lacto-N-neotetrosa y lacto-N-tetrosa; dichos oligosacáridos sialilados son 6'-sialil-lactosa y 3'-sialil-lactosa, y dicho oligosacárido fucosilado es 2'-fucosil-lactosa.
2. Producto alimentario para la utilización según la reivindicación 1, en el que dicha mezcla de oligosacáridos es  
15 sintética o derivada a partir de leche animal.
3. Producto alimentario para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende una fuente de proteínas, una fuente de grasas y una fuente de carbohidratos.
- 20 4. Producto alimentario para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende, además, por lo menos una cepa bacteriana probiótica, en el que dicha cepa bacteriana probiótica preferentemente es de bifidobacterias y/o lactobacilos.
- 25 5. Producto alimentario para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho producto alimentario comprende, además, probióticos que presentan un efecto de salud sobre la reducción de las alergias alimentarias, el mantenimiento de un equilibrio bacteriano intestinal o el impacto positivo sobre la protección frente a alergias, y preferentemente en una cantidad eficaz para conseguir dicho efecto sobre la salud.

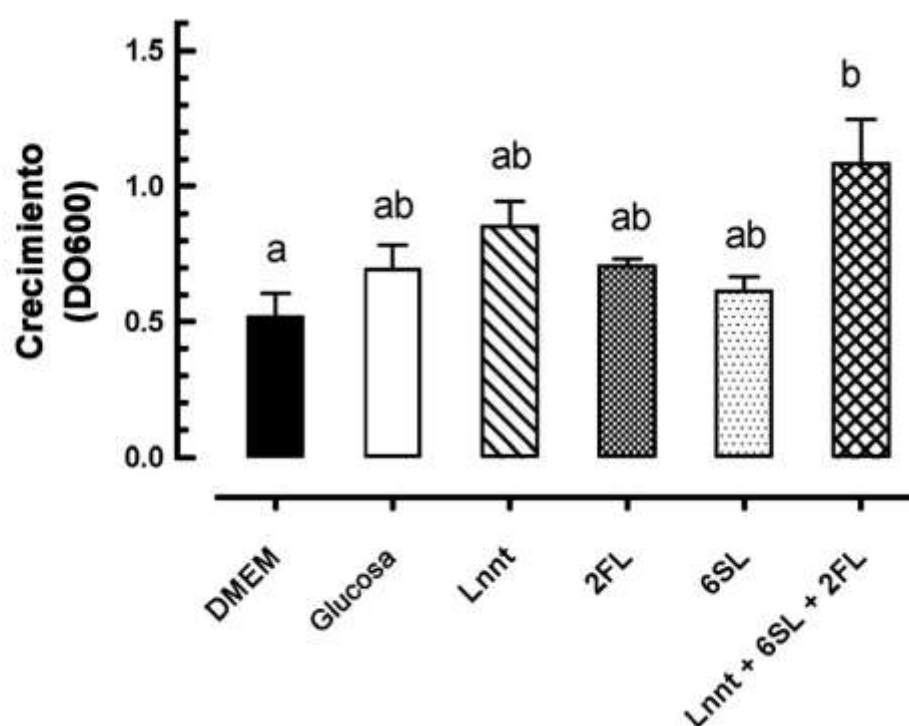
FIGURA 1



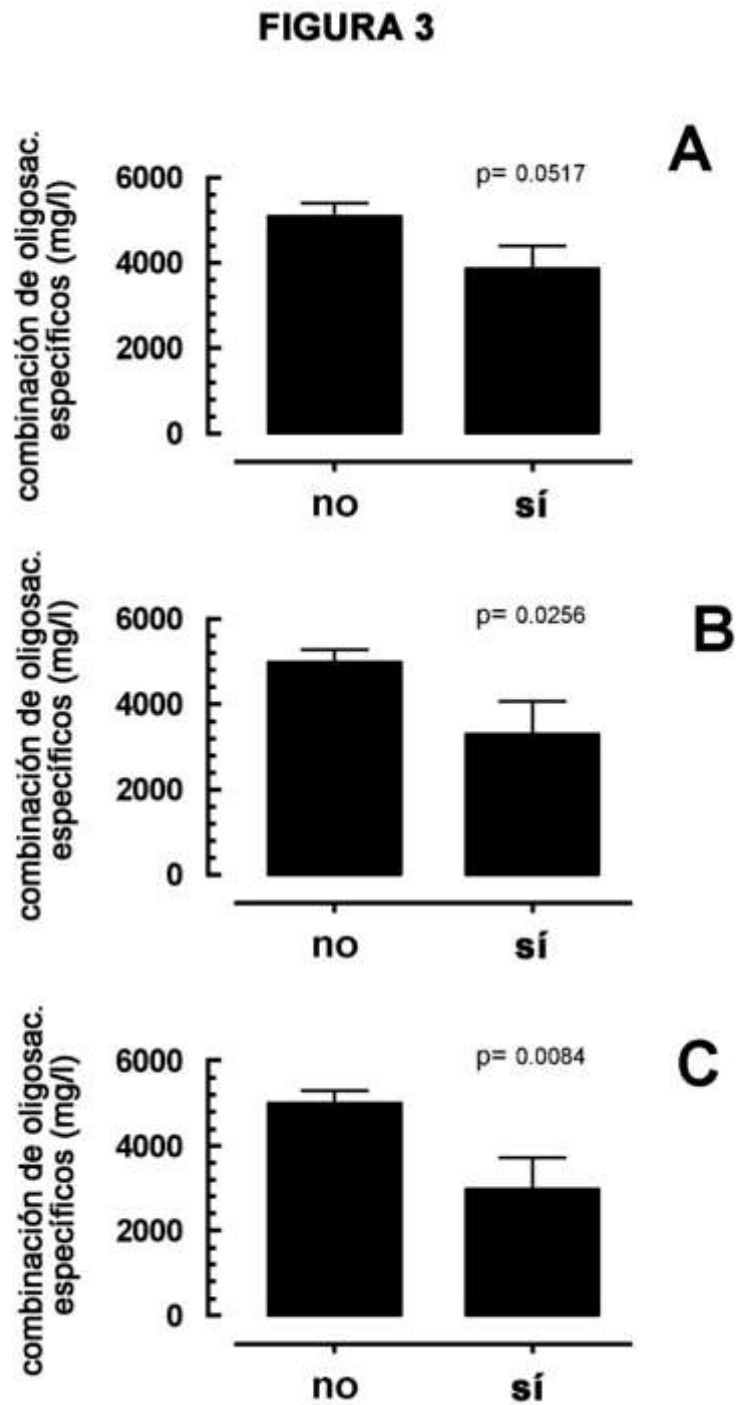
**Figura 1.** Resultados experimentales que muestran la estimulación metabólica de una bifidobacteria (*B. longum* subsp. *Infantis*) en medio de cultivo de DMEM sin carbohidratos adicionales o con adición de glucosa (Glc), lacto-N-tetrosa (LNnT), 2'-fucosil-lactosa (2FL) o 6'-sialil-lactosa (6SL), o una combinación de LNnT, 6SL y 2FL. (n=6; se muestran medias y errores estándares de la media; se indica la significancia en ANOVA ( $p < 0,01$ )).

Observación: solo la combinación de LNnT, 6SL y 2FL estimuló significativamente la producción de acetato.

FIGURA 2

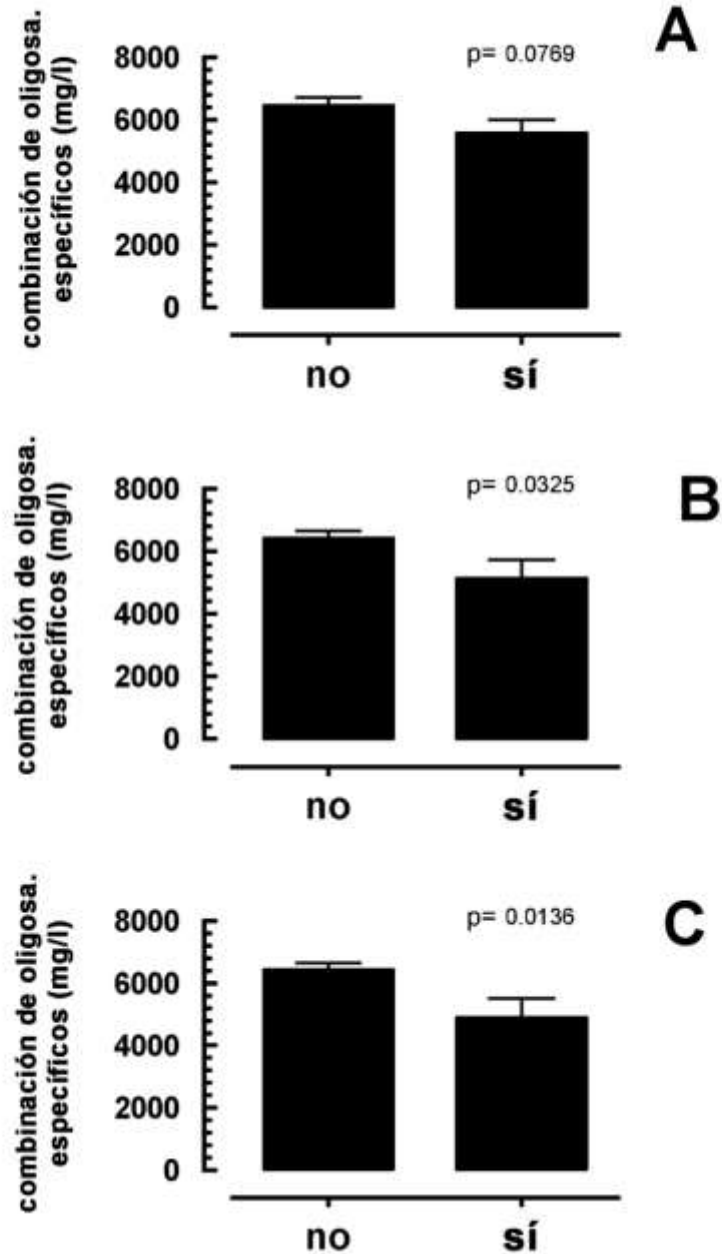


**Figura 2.** Resultados experimentales que muestran el crecimiento *in vitro* de una bifidobacteria (*B. longum* subsp. *infantis*) en medio de cultivo sin carbohidratos adicionales o con adición de glucosa (Glc), lacto-N-neotetrosa (LNnT), 2'-fucosil-lactosa (2FL) o 6'-sialil-lactosa (6SL), o una combinación de LNnT, 6SL y 2FL. (n=4; se muestran medias y errores estándares de la media; se indica la significancia en ANOVA ( $p < 0,02$ ) mediante letras minúsculas).



**Figura 3.** Resultados experimentales que muestran en bebés nacidos por cesárea, la ausencia (no) y la presencia (sí) de: (A) enfermedades alérgicas, (B) alergias atópicas, (C) eccema atópico, hasta 2 años de edad. Se representan gráficamente las cantidades de una combinación de oligosacáridos específicos medida en leche materna. La combinación de oligosacáridos representada es la suma de 2'-fucosil-lactosa (2FL), lacto-N-neotetrosa (LNnT) y 6'-sialil-lactosa (6SL). (Se indica la significancia estadística)

FIGURA 4



**Figura 4.** Resultados experimentales que muestran en bebés nacidos por cesárea, la ausencia (no) y la presencia (sí) de: (A) enfermedades alérgicas, (B) alergias atópicas, (C) eccema atópico, hasta 2 años de edad. Se representan gráficamente las cantidades de una combinación de oligosacáridos específica medida en leche materna. La combinación de oligosacáridos representada es la suma de 2'-fucosil-lactosa (2FL), lacto-N-neotetraosa (LNnT), 6'-sialil-lactosa (6SL) y 3'-sialil-lactosa (3SL). (Se indica la significancia estadística)