

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 960 750**

51 Int. Cl.:

A61K 31/702 (2006.01)
A61P 11/04 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A23L 29/00 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A23L 33/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.03.2016** **PCT/DK2016/050062**
87 Fecha y número de publicación internacional: **09.09.2016** **WO16138911**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2016** **E 16758501 (7)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2023** **EP 3265099**

54 Título: **Oligosacáridos de la leche humana para el tratamiento de infecciones agudas del aparato respiratorio**

30 Prioridad:

05.03.2015 DK 201570124
24.02.2016 DK 201670097

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.03.2024

73 Titular/es:

GLYCOM A/S (100.0%)
Kogle Allé 4
2970 Hørsholm, DK

72 Inventor/es:

MCCONNELL, BRUCE y
VIGSNÆS, LOUISE KRISTINE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 960 750 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

Oligosacáridos de la leche humana para el tratamiento de infecciones agudas del aparato respiratorio

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a una composición para uso en la prevención de una infección aguda del aparato respiratorio (IAR) y/o el alivio de los síntomas de una IAR en personas inmunocomprometidas, particularmente adultos.

10 **Antecedentes de la invención**

Las infecciones agudas del aparato respiratorio son muy comunes, especialmente en lactantes, niños y ancianos. En los EE. UU., para pacientes de cinco años o más, las IAR representaron el 8% de todas las visitas a atención primaria y el 58% de todos los antibióticos prescritos en atención primaria (Grijalva et al. JAMA 302, 758 (2009)). Estas infecciones producen afecciones tales como otitis, bronquitis, neumonía, sinusitis, faringitis y faringitis estreptocócica.

La bronquitis aguda, que resulta de una infección, es una inflamación de los bronquios. Es una de las infecciones respiratorias más prevalentes tratadas en atención primaria, y se presenta con mayor frecuencia durante el invierno. Es una enfermedad aguda que suele durar menos de tres semanas, con tos como síntoma principal y al menos otro síntoma del aparato respiratorio inferior, tales como sibilancias, producción de esputo o dolor en el pecho. Las personas mayores pueden presentar síntomas tales como confusión o respiración rápida. Alrededor del 90% de los casos de bronquitis aguda son causados por virus, tales como rinovirus, coronavirus, adenovirus, metaneumovirus, virus de la parainfluenza, virus sincitial respiratorio y virus de la gripe. Alrededor del 10% de los casos son provocados por bacterias tales como *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Bordetella pertussis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.

El tratamiento de la bronquitis aguda generalmente implica simplemente tratar los síntomas, por ejemplo con medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) para tratar la fiebre y el dolor de garganta. Como la mayoría de los casos de bronquitis aguda son causados por virus, no se recomiendan los antibióticos, pero se tiende a abusar de ellos. A aproximadamente el 60% de los pacientes con bronquitis se les recetan antibióticos, y esta es una de las principales causas del desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos. Esta prescripción excesiva se produce a pesar de que no existe ningún beneficio clínico para la mayoría de los pacientes.

Si bien la bronquitis aguda generalmente no es grave, como resultado pueden ocurrir complicaciones graves. La neumonía es la complicación más común de la bronquitis aguda, y ocurre cuando la infección se propaga más hacia los pulmones, lo que hace que los sacos de aire dentro de los pulmones se llenen de líquido. 1 de cada 20 casos de bronquitis aguda deriva en neumonía. Otra posible complicación es la insuficiencia respiratoria. También es posible que la bronquitis aguda pueda derivar en bronquitis crónica. Estas complicaciones son más comunes en personas inmunocomprometidas, tales como ancianos, diabéticos, etc. Por ejemplo, el número de hospitalizaciones por infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores en Inglaterra es alrededor de tres veces mayor en personas mayores de 75 años que en personas más jóvenes. Además, la duración media de la estancia hospitalaria por enfermedades respiratorias agudas aumenta progresivamente con la edad.

Aunque la mayoría de las IAR se resuelven razonablemente rápido, el sufrimiento y los costes financieros de las infecciones del aparato respiratorio son enormes. Actualmente, es poco posible realizar una prevención eficaz fuera de dos estrategias: intentar evitar el contacto con agentes infecciosos o su propagación; y vacunación contra la gripe y la neumonía neumocócica.

Los oligosacáridos de la leche humana (HMO) se han propuesto como un posible medio para prevenir o tratar las IAR. En el documento WO 2012/076323, se describe un método para prevenir o tratar las IAR en niños de hasta tres años usando los HMO. Los niños se tratan usando composiciones nutricionales que contienen una N-acetil lactosamina, un oligosacárido sialilado y un oligosacárido fucosilado. El método es particularmente adecuado para el tratamiento de otitis o bronquiolitis. En el documento WO 2014/100696, se describe una composición nutricional para modular la inflamación, tal como una inflamación inducida por un virus respiratorio, en adultos y ancianos. En el documento US 2015/0031645, se describe un método para mejorar la respuesta del sistema inmunológico a una infección viral, tal como una infección viral respiratoria, en niños de hasta doce años. Se describe como preferida una composición nutricional que contiene 2'-fucosil-lactosa y lacto-N-neotetraosa. El documento WO 2011/008087 describe el uso de 2'-fucosil-lactosa en el tratamiento o prevención de infecciones virales, por ejemplo infecciones virales respiratorias, en pacientes inmunocomprometidos tales como ancianos, y que la 2'-fucosil-lactosa así como la lacto-N-neotetraosa aumentaron significativamente el porcentaje y/o actividad de las células NK.

Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de un método eficaz, además de conveniente y seguro, para prevenir las infecciones IAR y/o aliviar sus síntomas en personas inmunocomprometidas, particularmente adultos.

Sumario de la invención

Esta invención proporciona una composición para uso en la prevención y/o en el alivio de los síntomas de una infección aguda del aparato respiratorio (IAR) en una persona adulta inmunocomprometida seleccionada del grupo que consiste en pacientes con VIH y SIDA, pacientes sometidos a quimioterapia o radioterapia para el cáncer, pacientes que tienen ciertos cánceres y trastornos genéticos, mujeres embarazadas y los ancianos, comprendiendo la composición 2'-fucosil-lactosa (2'-FL), y lacto-N-neotetraosa (LNnT) y/o lacto-N-tetraosa (LNT), en la que dicha infección del aparato respiratorio es bronquitis.

Esta invención proporciona además una combinación de 2'-FL, y LNnT y/o lacto-N-tetraosa (LNT) para uso en la prevención una infección aguda del aparato respiratorio y/o en el alivio de los síntomas de una infección aguda del aparato respiratorio en una persona adulta inmunocomprometida seleccionada del grupo que consiste en pacientes con VIH y SIDA, pacientes sometidos a quimioterapia o radioterapia para el cáncer, pacientes que tienen ciertos cánceres y trastornos genéticos, mujeres embarazadas y los ancianos, en la que dicha infección del aparato respiratorio es bronquitis.

Ventajosamente, la combinación o composición consiste esencialmente en 2'-FL, y LNnT y/o LNT. Más ventajosamente, la combinación o composición contiene más 2'-FL que LNnT y/o LNT. Aún más ventajosamente, la relación molar de 2'-FL a LNnT y/o LNT en la composición es alrededor de 1,5 a alrededor de 4,5. En una realización, la relación molar de 2'-FL a LNnT y/o LNT en la composición es alrededor de 1,5 a alrededor de 2,5, por ejemplo alrededor de 2:1. En otra realización, la relación molar de 2'-FL a LNnT y/o LNT en la composición es alrededor de 3,5 a alrededor de 4,5, por ejemplo alrededor de 4:1.

También ventajosamente, la combinación o composición comprende al menos 0,5 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT, más ventajosamente al menos 1 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT, por ejemplo alrededor de 1,5 g o más de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.

También ventajosamente, la composición es una formulación de una vez al día que proporciona al menos alrededor de 2 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT por día, más ventajosamente al menos 3 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.

Ventajosamente, la dosis de 2'-FL, y LNnT y/o LNT se administra de forma profiláctica a la persona diariamente a la persona inmunocomprometida. Más ventajosamente, la dosis se administra de forma profiláctica en períodos de mayor riesgo, por ejemplo durante el invierno.

También ventajosamente, a la persona se le administra una dosis diaria de al menos 0,5 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT, más ventajosamente al menos 1 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT, por ejemplo alrededor de 1,5 g o más de 2'-FL, y LNnT y/o LNT. Más ventajosamente, a la persona se le administra 2'-FL, y LNnT y/o LNT en una única dosis diaria de al menos alrededor de 2 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT por día, incluso más ventajosamente al menos 3 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.

También ventajosamente, la dosis de 2'-FL, y LNnT y/o LNT aumenta la abundancia de bifidobacterias en el intestino de la persona, más ventajosamente una bifidobacteria del grupo filogenético *B. adolescentis*, especialmente *B. adolescentis* y/o *B. pseudocatenulatum*.

Sorprendentemente, 2'-FL, y LNnT y/o LNT son particularmente eficaces para prevenir IAR y/o aliviar los síntomas de IAR, y en particular prevenir y/o aliviar los síntomas de bronquitis en personas inmunocomprometidas.

Descripción detallada de la invención

Los siguientes términos tienen preferiblemente los siguientes significados:

"Inmunocomprometido" significa que el sistema inmunológico de una persona, especialmente de un adulto, está significativamente debilitado o ausente. Ejemplos de personas inmunocomprometidas son los pacientes con VIH y SIDA, los pacientes que reciben quimioterapia o radioterapia para el cáncer, los pacientes que padecen ciertos cánceres y trastornos genéticos, las mujeres embarazadas, y los ancianos. Las personas inmunocomprometidas también pueden ser aquellas que no pueden o no deben tomar medicamentos farmacéuticos contra las infecciones, tales como las mujeres embarazadas.

"Anciano" significa una persona de 60 años o más.

"Adulto" significa una persona mayor de 13 años.

"Prevención de IAR" significa la prevención y reducción de la frecuencia y/o aparición y/o gravedad y/o duración de la IAR. La aparición está relacionada con el número de cualquier IAR. La frecuencia está relacionada con el número de la misma IAR.

"Aliviar los síntomas de la IAR" significa reducir los síntomas de la IAR, y en particular, reducir la fiebre, facilitar el proceso respiratorio y/o disminuir el dolor y/o facilitar el sueño.

"Composición nutricional" significa una composición que nutre a una persona. Una composición nutricional normalmente se toma por vía oral o enteral, y normalmente incluye uno o más macronutrientes, tales como lípidos, grasas, y proteínas, y uno o más micronutrientes.

"Probiótico" significa una preparación de células microbianas o componentes de células microbianas con un efecto beneficioso sobre la salud o el bienestar del hospedante (Salminen et al. Trends Food Sci. Technol. 10, 107 (1999)).

"Bifidobacterias del grupo filogenético *B. adolescentis*" significa una bacteria seleccionada de un grupo que consiste en *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium kashiwanohense*, *Bifidobacterium dentum* y *Bifidobacterium stercoris* (Duranti et al. Appl. Environ. Microbiol. 79, 336 (2013), Bottacini et al. Microbial Cell Fact. 13:S4 (2014)).

La invención se basa en el hallazgo sorprendente de que una combinación de 2'-fucosil-lactosa (2'-FL), y lacto-N-neotetraosa (LNnT) y/o lacto-N-tetraosa (LNT) es eficaz para proteger a las personas inmunocomprometidas, particularmente adultos, contra la IAR y/o aliviar los síntomas de la IAR. 2'-FL, y LNnT y/o LNT son oligosacáridos que se encuentran en la leche materna humana y son seguros para el consumo a largo plazo. Por tanto, la combinación es especialmente adecuada para proteger a las mujeres embarazadas y a los ancianos en los que se recomienda una ingesta reducida del fármaco.

Los 2'-FL, y LNnT y/o LNT se pueden producir mediante procedimientos bien conocidos que usan fermentación microbiana, procedimientos enzimáticos, síntesis química, o combinaciones de estas tecnologías. Como ejemplos, usando química, LNnT se puede obtener como se describe en los documentos WO 2011/100980 y WO 2013/044928, LNT se puede sintetizar como se describe en los documentos WO 2012/155916 y WO 2013/044928, una mezcla de LNT y LNnT se puede obtener como se describe en el documento WO 2013/091660, y 2'-FL se puede obtener como se describe en los documentos WO 2010/115934 y WO 2010/115935.

Para obtener los beneficios de prevenir las IAR y/o aliviar los síntomas de las IAR, a la persona inmunocomprometida se le administra una composición que contiene, preferiblemente que consiste esencialmente en, 2'-FL, y LNnT y/o LNT. La composición puede estar en cualquier forma adecuada, tal como, por ejemplo, una composición nutricional, un suplemento nutricional, una bebida, un alimento, un dispositivo médico o un producto farmacéutico. El suplemento, dispositivo médico o producto farmacéutico puede estar en forma galénica, tal como un comprimido, una cápsula, una pastilla, un polvo en una bolsita o un líquido.

La composición de la invención es preferiblemente una composición sintética. La expresión "composición sintética" designa una composición que se prepara artificialmente, y preferiblemente significa una composición que contiene al menos un compuesto que se produce *ex vivo* química y/o biológicamente, por ejemplo mediante reacción química, reacción enzimática, o de forma recombinante. En algunas realizaciones, una composición sintética de la invención puede ser, pero preferiblemente no lo es, idéntica a una composición de origen natural. La composición sintética de la invención comprende típicamente 2'-FL, y LNnT y/o LNT, y en algunas realizaciones puede comprender uno o más compuestos o componentes distintos de 2'-FL, y LNnT y/o LNT que pueden tener un efecto sobre bifidobacterias de la microbiota de un sujeto humano *in vivo*, por ejemplo oligosacáridos o prebióticos no digeribles. También en algunas realizaciones, las composiciones sintéticas pueden comprender uno o más componentes nutricional o farmacéuticamente activos que no afectan negativamente a la eficacia de los compuestos mencionados anteriormente. Según una realización, la composición de la invención se puede coadministrar a una persona junto con una vacuna, preferiblemente una vacuna contra la gripe. A continuación se describen también algunas realizaciones no limitativas de una composición sintética de la invención.

Composiciones nutricionales

Una composición nutricional adecuada puede contener una fuente de proteínas, lípidos y/o hidratos de carbono digeribles, y puede estar en forma de polvo, líquida o sólida. La composición se puede formular para que sea la única fuente de nutrición o como un suplemento nutricional.

Las fuentes de proteína adecuadas incluyen proteínas de leche, proteína de soja, proteína de arroz, proteína de guisante y proteína de avena, o mezclas de las mismas. Las proteínas de leche pueden estar en forma de concentrados de proteína de leche, aislados de proteína de leche, proteína de suero, o caseína, o mezclas de estos. La proteína puede ser una proteína entera o una proteína hidrolizada, ya sea parcialmente hidrolizada o extensamente hidrolizada. La proteína también se puede presentar en forma de aminoácidos libres. La proteína puede comprender alrededor de 5% a alrededor de 30% de la energía de la composición nutricional; normalmente alrededor de 10% a 20%.

La fuente de proteína puede ser una fuente de glutamina y/o cisteína. La fuente de glutamina puede ser un dipéptido de glutamina y/o una proteína enriquecida con glutamina. Se puede incluir glutamina debido a su uso por los

enterocitos como fuente de energía. La cisteína es un importante precursor de la glutatona, que es clave para las defensas antioxidantes del cuerpo.

Los hidratos de carbono digeribles adecuados incluyen maltodextrina, almidón hidrolizado o modificado o almidón de maíz, polímeros de glucosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, hidratos de carbono derivados del arroz, hidratos de carbono derivados de guisantes, hidratos de carbono derivados de patata, tapioca, sacarosa, glucosa, fructosa, lactosa, sacarosa, lactosa, miel, alcoholes de azúcar (por ejemplo, maltitol, eritritol, sorbitol), o mezclas de estos. Generalmente, los hidratos de carbono digeribles proporcionan alrededor de 35% a alrededor de 55% de la energía de la composición nutricional. Preferiblemente, la composición nutricional es baja en o está libre de lactosa. Un hidratos de carbono digerible particularmente adecuado es una maltodextrina con bajo equivalente de dextrosa (DE).

Los lípidos adecuados incluyen triglicéridos de cadena media (MCT) y triglicéridos de cadena larga (LCT). Las fuentes adecuadas de triglicéridos de cadena larga son aceite de colza, aceite de semilla de girasol, aceite de palma, aceite de soja, grasa de leche, aceite de maíz, aceites oleicos superiores, y lecitina de soja. Los aceites de coco fraccionados son una fuente adecuada de triglicéridos de cadena media. Generalmente, los lípidos proporcionan alrededor de 35% a alrededor de 50% de la energía de la composición nutricional. Los lípidos pueden incluir ácidos grasos poliinsaturados tales como ácidos grasos omega-6 y omega-3. Preferiblemente, los ácidos grasos poliinsaturados proporcionan menos de alrededor del 30% de la energía total de la fuente lipídica. Se cree que la disminución de los niveles de ácidos grasos poliinsaturados disminuye la sensibilidad a la peroxidación, lo que puede ser beneficioso para personas que padecen afecciones inflamatorias.

La composición nutricional también incluye preferiblemente vitaminas y minerales. Si se pretende que la composición nutricional sea una fuente única de nutrición, preferiblemente incluye un perfil completo de vitaminas y minerales. Los ejemplos de vitaminas incluyen vitaminas A, complejo B (tal como B1, B2, B6 y B12), C, D, E y K, niacina, y vitaminas ácidas tales como ácido pantoténico y ácido fólico y biotina. Los ejemplos de minerales incluyen calcio, hierro, zinc, magnesio, yodo, cobre, fósforo, manganeso, potasio, cromo, molibdeno, selenio, níquel, estaño, silicio, vanadio y boro. Por ejemplo, la composición puede contener por dosis diaria uno o más de los siguientes micronutrientes en los intervalos indicados: 300 a 500 mg de calcio, 50 a 100 mg de magnesio, 150 a 250 mg de fósforo, 5 a 20 mg de hierro, 1 a 7 mg de zinc, 0,1 a 0,3 mg de cobre, 50 a 200 µg de yodo, 5 a 15 µg de selenio, 1000 a 3000 µg de beta caroteno, 10 a 80 mg de vitamina C, 1 a 2 mg de vitamina B1, 0,5 a 1,5 mg de vitamina B6, 0,5 a 2 mg de vitamina B2, 5 a 18 mg de niacina, 0,5 a 2,0 µg de vitamina B12, 100 a 800 µg de ácido fólico, 30 a 70 µg de biotina, 1 a 5 µg de vitamina D, 3 a 10 µg de vitamina E.

La composición nutricional también puede incluir un carotenoide tal como luteína, licopeno, zeaxantina, y betacaroteno. La cantidad total de carotenoide incluida puede variar de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml. La luteína se puede incluir en una cantidad de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml, preferiblemente de alrededor de 0,044 µg/ml a alrededor de 5 g/ml de luteína. El licopeno se puede incluir en una cantidad de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml, preferiblemente de alrededor de 0,0185 mg/ml a alrededor de 5 g/ml de licopeno. El betacaroteno puede comprender de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 mg/ml, por ejemplo alrededor de 0,034 µg/ml a alrededor de 5 µg/ml de betacaroteno.

La composición nutricional puede comprender además al menos una cepa bacteriana probiótica. Las cepas bacterianas probióticas adecuadas incluyen *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103, *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, *Lactobacillus paracasei* CNCM 1-2116, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii* CN CM 1-1225, *Streptococcus salivarius* DSM 13084, *Bifidobacterium lactis* CNCM 1-3446, *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*. Preferiblemente, la composición nutricional contiene de 10e3 a 10e12 ufc de la cepa bacteriana probiótica por g de composición en base al peso seco, más preferiblemente entre 10e7 y 10e12 ufc.

Si es necesario, la composición nutricional puede contener emulsionantes y estabilizantes tales como soja, lecitina, ésteres de ácido cítrico de mono- y diglicéridos, y similares.

La composición nutricional también puede contener otras sustancias que pueden tener un efecto beneficioso, tales como lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos, y similares.

Para aplicaciones líquidas, la composición nutricional puede estar en forma de un polvo reconstituible, un concentrado líquido, o una formulación lista para uso. En forma líquida, la composición nutricional se puede administrar a una persona a través de una sonda nasogástrica o haciendo que la persona la beba. También pueden estar presentes diversos sabores, fibras y otros aditivos.

La composición nutricional se puede preparar de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, se puede preparar mezclando la proteína, la fuente de hidratos de carbono digeribles, y la fuente de grasa en proporciones apropiadas. Si se usan, en este punto se pueden incluir los emulsionantes. En este punto se pueden añadir las vitaminas y minerales, pero generalmente se añaden más tarde, para evitar la degradación térmica. Cualquier vitamina lipófila, emulsionante y similares se pueden disolver en la fuente de grasa antes del mezclamiento. A continuación se puede

mezclar agua, preferiblemente agua que ha sido sometida a ósmosis inversa, para formar una mezcla líquida. La temperatura del agua está convenientemente en el intervalo entre alrededor de 50°C y alrededor de 80°C, para ayudar a la dispersión de los ingredientes. Para formar la mezcla líquida, se pueden usar licuadores disponibles comercialmente. En esta etapa se añaden 2'-FL, y LNnT y/o LNT si el producto final estará en forma líquida. Si el producto final va a ser un polvo, los oligosacáridos se pueden añadir en esta etapa si se desea. A continuación, la mezcla líquida se homogeneiza, por ejemplo en dos etapas.

La mezcla líquida puede entonces tratarse térmicamente para reducir las cargas bacterianas, calentando rápidamente la mezcla líquida hasta una temperatura en el intervalo entre alrededor de 80°C y alrededor de 150°C durante un período de entre alrededor de 5 segundos y alrededor de 5 minutos, por ejemplo. Esto se puede llevar a cabo mediante inyección de vapor, un autoclave o un intercambiador de calor, por ejemplo un intercambiador de calor de placas.

Después, la mezcla líquida se puede enfriar hasta entre alrededor de 60°C y alrededor de 85°C, por ejemplo mediante enfriamiento instantáneo. La mezcla líquida se puede homogeneizar entonces nuevamente, por ejemplo en dos etapas, entre alrededor de 10 MPa y alrededor de 30 MPa en la primera etapa, y entre alrededor de 2 MPa y alrededor de 10 MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada se puede enfriar entonces adicionalmente para añadir cualquier componente sensible al calor, tales como vitaminas y minerales. En este punto se ajustan convenientemente el pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada.

La mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado adecuado, tal como un secador por pulverización o un liofilizador, y se convierte en polvo. El polvo debe tener un contenido de humedad menor que alrededor de 5% en peso. El 2'-FL, y el LNnT y/o LNT se pueden añadir en esta etapa mezclándolos en seco, o mezclándolos en forma de jarabe de cristales, junto con la o las cepas bacterianas probióticas, si se usa, y se secan por pulverización (o se liofilizan).

Si se prefiere una composición líquida, la mezcla homogeneizada se puede esterilizar y después llenarse asépticamente en recipientes adecuados, o puede llenarse primero los recipientes y luego enviarse a retorta.

Cuando el producto nutricional es un líquido nutricional listo para el consumo, la concentración total de 2'-FL, y LNnT y/o LNT en el líquido, en peso del líquido, es de alrededor de 0,02% a alrededor de 2,0%, incluyendo de alrededor de 0,03% a alrededor de 1,5%, incluyendo de alrededor de 0,04% a alrededor de 1,0%. Cuando el producto nutricional es un líquido nutricional concentrado, la concentración total de los HMO en el líquido, en peso del líquido, es alrededor de 0,04% a alrededor de 4,0%, incluyendo de alrededor de 0,06% a alrededor de 3,0%, incluyendo de alrededor de 0,08% a alrededor de 2,0%.

La composición nutricional también se puede formular en formas sólidas y semisólidas, tales como barras de cereales, yogures y similares.

Formas galénicas

La composición sintética también puede estar en una forma galénica, tal como una cápsula, comprimido, o bolsita. Por ejemplo, la composición puede estar en forma de comprimido que comprende los HMOs, y uno o más componentes adicionales para ayudar a la formulación y administración, tales como diluyentes, excipientes, antioxidantes, lubricantes, colorantes, aglutinantes, disgregantes, y similares.

Los diluyentes, excipientes, lubricantes, colorantes, aglutinantes y disgregantes adecuados incluyen polietileno, policloruro de vinilo, etilcelulosa, polímeros de acrilato y sus copolímeros, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa de sodio, polimetacrilato de hidroxietilo (PHEMA), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), óxido de polietileno (PEO), o poliacrilamida (PA), carragenano, alginato de sodio, policarbófilo, ácido poliacrílico, tragacanto, metilcelulosa, pectina, gomas naturales, goma xantana, goma guar, goma karaya, hipromelosa, estearato de magnesio, celulosa microcristalina, y dióxido de silicio coloidal. Los antioxidantes adecuados son vitamina A, carotenoides, vitamina C, vitamina E, selenio, flavonoides, polifenoles, licopeno, luteína, lignano, coenzima Q₁₀ ("CoQ10") y glutatona. Las formas de dosificación unitaria, especialmente aquellas en forma de bolsita, también pueden incluir diversos nutrientes, incluyendo macronutrientes.

Las formas galénicas pueden caer dentro de cualquier marco regulatorio adecuado, por ejemplo pueden ser suplementos nutricionales, alimentos para usos médicos especiales/alimentos médicos, dispositivos médicos o fármacos.

Dosificación de administración

Para prevenir infecciones agudas del aparato respiratorio (IAR) y/o aliviar los síntomas de las IAR en una persona inmunocomprometida, preferiblemente un adulto, la cantidad de 2'-fucosil-lactosa y lacto-N-neotetraosa y/o lacto-N-tetraosa necesaria para ser administrada al adulto variará dependiendo de factores tales como la gravedad de la inmunodeficiencia, la edad de la persona, la forma de la composición, y otros medicamentos que se administran a la persona. Sin embargo, un médico puede ajustar fácilmente la cantidad requerida, y generalmente estaría en el

intervalo de alrededor de 200 mg a alrededor de 20 g por día; en ciertas realizaciones, de alrededor de 300 mg a alrededor de 15 g por día, de alrededor de 400 mg a alrededor de 10 g por día; en ciertas realizaciones, de alrededor de 500 mg a alrededor de 10 g por día; en ciertas realizaciones, de alrededor de 1 g a alrededor de 10 g por día. Una dosis apropiada se puede determinar basándose en varios factores, incluyendo, por ejemplo, el peso corporal y/o la condición de la persona que está siendo tratada, la gravedad de la inmunodeficiencia, otras dolencias y/o enfermedades de la persona, y la manera de administración. Los regímenes de dosis apropiados pueden determinarse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica.

La composición se puede coadministrar a una persona junto con una vacuna. La coadministración incluye la administración de la composición desde tres meses antes del período de vacunación hasta tres meses después del período de vacunación. Las vacunas adecuadas incluyen una vacuna contra la gripe.

Ejemplo 1

Se usa un modelo de ratón envejecido para evaluar el impacto de los HMO en el sistema inmunológico de un individuo inmunocomprometido. El envejecimiento se asocia con una marcada disminución de la respuesta inmune mediada por células concomitante con una mayor disfunción inmune humoral. Además, el envejecimiento suele asociarse a un estado de inflamación leve y a un aumento del estrés oxidativo. En consecuencia, muchos ancianos corren un mayor riesgo de padecer enfermedades infecciosas y no infecciosas que contribuyen a la morbilidad.

Se alojan ratones C57BL/6J macho libres de patógenos específicos (4 semanas de edad) en condiciones convencionales (ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, temperatura 22°C, humedad 56%), y reciben agua y una dieta semisintética ad libitum. Hasta los 5 meses de edad, los ratones se mantienen en grupos de 5 por jaula, y después se enjaulan individualmente. A los 19 meses después del nacimiento, los ratones se distribuyen aleatoriamente en 3 grupos de 10 animales, y se alimentan con una dieta semisintética de control (grupo de control, n=10) o con una de dos dietas semisintéticas suplementadas con 2'-FL y LNnT en una relación de 2:1 (1,2% en peso de 2'-FL y LNnT) (grupo de tratamiento 1, n=10) o con 2'-FL y LNnT en una relación de 4:1 (1,2% en peso de 2'-FL y LNnT) (grupo de tratamiento 2, n=10). Durante las 7 semanas del ensayo, a todos los ratones se les permitió beber y comer ad libitum.

El día 15 del ensayo, los ratones se inmunizan mediante inyección subcutánea (100 µl) de un antígeno inerte, hemocianina de lapa californiana (KLH), a 100 µg en alumbre al 1%. Siete días después de la inmunización, se provocan respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) inyectando el antígeno de memoria KLH (10 µl de 0,5 µg/ml) en la oreja derecha de cada ratón. A las orejas izquierdas se les inyecta vehículo solo (disolución salina = PBS), y sirven como controles internos para cada animal. A las 24 horas después de la estimulación, y durante los 5 días siguientes, se miden tanto los oídos no estimulados (oído izquierdo) como los estimulados (oído derecho). Las respuestas de DTH se expresan como la magnitud de la hinchazón de la oreja, es decir, el cambio en el grosor de la oreja usando la siguiente fórmula: Δ en el grosor de la oreja = [enfermedad de la oreja estimulada (derecha) - enfermedad de la oreja no estimulada (izquierda)], en la que Δ en el grosor de la oreja = [grosor tras la estimulación - grosor antes de la estimulación].

Los ratones se sacrifican el día 42 del ensayo. La expresión de genes implicados en procesos inflamatorios se determina en el hígado de los ratones. En la autopsia, el hígado se extrae, y un trozo se congela inmediatamente en nitrógeno líquido y después se almacena a -80°C hasta su posterior análisis.

Las muestras de hígado se transfieren a 1 ml de amortiguador de lisis de ARN y se homogeneizan usando un Ribolyzer. El ARN se extrae usando un kit disponible comercialmente. El ARN se cuantifica con un kit de cuantificación de ARN Ribogreen, y la calidad del ARN se analiza con el kit Agilent RNA 6000 Nano LabChip. El ARN total (2 µg) se transcribe de forma inversa usando la transcriptasa inversa Multiscribe siguiendo las instrucciones del fabricante. Se usan matrices de baja densidad (LDA) hechas a medida con sondas TaqMan. La expresión génica se calcula usando el método de cuantificación relativa $\Delta\Delta Ct$ con el software SDS 2.2.2 (Applied Biosystems). Los datos se analizan mediante medias $\pm$ SEM y la prueba de la T de Student (no apareada) o ANOVA de dos vías cuando corresponda. Los valores de probabilidad menores que 5% se consideraron significativos.

Para ambos grupos de tratamiento, la suplementación dietética con 2'-FL y LNnT (1,2% en peso incorporado en la dieta) mejora la respuesta inmune mediada por células en ratones de edad avanzada. Esta suplementación alivia la inflamación de bajo grado y el daño oxidativo relacionados con la edad, como se observa por el aumento de la expresión de genes que codifican una molécula antiinflamatoria (TGF- β 2) o moléculas implicadas en la defensa contra el daño oxidativo (HO-1 y SOD2).

Ejemplo 2

Un total de 30 ancianos masculinos y femeninos se reclutan para participar en el estudio. Las personas son residentes de centros de atención a largo plazo para personas mayores. Las personas se seleccionan después de una visita de selección y un período de adaptación de 1-2 semanas. Los individuos seleccionados se distribuyen al azar en dos grupos, cada uno de 15 individuos, con un grupo que consume el producto de tratamiento y un grupo que consume el producto de placebo durante 12 semanas. El producto de tratamiento contiene 2 gramos de una combinación de 2'-

FL y LNNt en una relación másica 2:1. El producto de control contiene 2 gramos de glucosa. Ambos productos se presentan en forma de polvo en un envase de dosificación unitaria.

Los individuos seleccionados son elegibles para participar si pueden y desean comprender y cumplir con los procedimientos del estudio. Los individuos se excluyen si: han participado en un estudio clínico un mes antes de la visita de selección; tienen resultados anormales en los ensayos de detección que son clínicamente relevantes para la participación en el estudio; padecen una enfermedad grave; han usado suplementos de probióticos en dosis altas (se permite el yogur) durante los 3 meses anteriores al estudio; han consumido antibióticos 3 meses antes del estudio; han consumido regularmente cualquier medicamento que pudiera interferir con la evaluación de los síntomas 2 semanas antes del estudio; y están embarazadas o están amantando.

En la visita de selección, se registra el historial médico y la medicación concomitante, y se recoge una muestra de sangre para análisis de seguridad de cada individuo seleccionado. Se distribuye un kit de muestra de heces. Se indica a los individuos seleccionados que mantengan sus muestras en el congelador hasta la próxima visita.

En la segunda visita, se verifican los criterios de elegibilidad, y los sujetos elegibles se asignan al azar a los dos brazos en el ensayo. Se recolectan las muestras fecales, y se distribuyen equipos para nuevas muestras. Se recolectan muestras de sangre para estudios de biomarcadores.

El suero de las muestras de sangre se transfiere a criotubos y se almacena a -80°C. La sangre se analiza en busca de biomarcadores de seguridad y respuesta inflamatoria.

Las muestras fecales se almacenan a -80°C hasta su análisis. Las muestras fecales se someten a un análisis de secuenciación de ARN 16 S.

El estudio dura 12 semanas a lo largo de los meses de invierno, consumiendo los sujetos diariamente un placebo o un producto de tratamiento. Se indica a los sujetos que consuman los productos por la mañana, con el desayuno.

Al final del estudio, cada sujeto tiene una visita de salida con el equipo médico. Las muestras fecales y de sangre se recogen y analizan como antes.

Los sujetos del tratamiento tienen una incidencia reducida de infecciones del aparato respiratorio inferior, particularmente bronquitis. Además, la incidencia de fiebre y el uso de antibióticos son menores en los sujetos del grupo de tratamiento. Además, los sujetos del grupo de tratamiento que están infectados tienen síntomas menos agudos y se recuperan más rápidamente. El análisis de biomarcadores sanguíneos indica que los sujetos del tratamiento han mejorado su estado inmunológico. El análisis fecal indica que los sujetos tratados tienen niveles mejorados de bifidobacterias beneficiosas, especialmente una bifidobacteria del grupo filogenético de *B. adolescentis*, especialmente *Bifidobacterium adolescentis* y/o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*.

Ejemplo 3 - Composición nutricional

Una composición nutricional lista para alimentar se prepara a partir de agua, maltodextrina, proteína de suero (de leche de vaca), triglicéridos de cadena media (de aceite de coco y/o palmiste), almidón de maíz, aceite de soja, lecitina de soja, 2'-FL, LNNt, cloruro de magnesio, fosfato de calcio, goma guar, ascorbato de sodio, citrato de potasio, fosfato de sodio, citrato de calcio, cloruro de colina, cloruro de potasio, citrato de sodio, óxido de magnesio, taurina, L-carnitina, acetato de alfa-tocoferilo, sulfato de zinc, sulfato ferroso, niacinamida, pantotenato de calcio, palmitato de vitamina A, ácido cítrico, sulfato de manganeso, hidrocloreto de piridoxina, vitamina D3, sulfato de cobre, mononitrato de tiamina, riboflavina, betacaroteno, ácido fólico, biotina, yoduro de potasio, cloruro de cromo, selenato de sodio, molibdato de sodio, fitonadiona, vitamina B12.

La composición tiene una densidad calórica de 1,0 kcal/ml, con una distribución calórica (% de kcal) de la siguiente manera: proteína: 16 %, hidrato de carbono: 51 %, grasa: 33 %. La fuente de proteína tiene una relación NPC:N de 131:1. La relación MCT:LCT es 70:30, y la relación n6:n3 es 7,4:1. La osmolalidad (mOsm/kg de agua) es 270 cuando no tiene sabor. La composición contiene 85% de agua, y 1500 ml satisfacen el 100% de la IDR para 22 micronutrientes clave.

Ejemplo 4 - Composición de comprimido

Se prepara un comprimido a partir de 2'-FL, LNNt, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, goma, celulosa microcristalina, dióxido de silicio coloidal, y estearato de magnesio. Todas las materias primas, excepto el estearato de magnesio, se colocan en un granulador de alto cizallamiento, y se premezclan. Se pulveriza agua sobre la premezcla mientras se continúa mezclando a 300 rpm. El granulado se transfiere a un secador de lecho fluidizado y se seca a 75°C. El polvo seco se tamiza y se clasifica usando un molino. Después, el polvo resultante se lubrica con estearato de magnesio y se prensa para formar comprimidos. Los comprimidos contienen, cada uno, 325 mg de 2'-FL y LNNt. Los comprimidos tienen, cada uno, un peso de 750 mg.

Ejemplo 5 - Composición de cápsula

Una cápsula se prepara llenando alrededor de 1 g de 2'-FL y LNnT en una cápsula de gelatina 000 usando una máquina de llenado. Después, las cápsulas se cierran. Los 2'-FL y LNnT están en forma de polvo que fluye libremente.

Ejemplo 6 - Composición de cápsula

Una cápsula se prepara llenando alrededor de 1 g de 2'-FL y LNT en una cápsula de gelatina 000 usando una máquina de llenado. Después, las cápsulas se cierran. Los 2'-FL y LNT están en forma de polvo que fluye libremente.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación de 2'-fucosil-lactosa (2'-FL), y lacto-N-neotetraosa (LNnT) y/o lacto-N-tetraosa (LNT) para uso en la prevención una infección aguda del aparato respiratorio y/o en el alivio de los síntomas de una infección aguda del aparato respiratorio en una persona adulta inmunocomprometida seleccionada del grupo que consiste en pacientes con VIH y SIDA, pacientes sometidos a quimioterapia o radioterapia para el cáncer, pacientes que tienen ciertos cánceres y trastornos genéticos, mujeres embarazadas y los ancianos, en la que dicha infección del aparato respiratorio es bronquitis.
2. Una composición para uso en la prevención de una infección aguda del aparato respiratorio y/o en el alivio de los síntomas de una infección aguda del aparato respiratorio en una persona adulta inmunocomprometida seleccionada del grupo que consiste en pacientes con VIH y SIDA, pacientes sometidos a quimioterapia o radioterapia para el cáncer, pacientes que tienen ciertos cánceres y trastornos genéticos, mujeres embarazadas y los ancianos, comprendiendo la composición 2'-fucosil-lactosa (2'-FL), y lacto-N-neotetraosa (LNnT) y/o lacto-N-tetraosa (LNT), y en la que dicha infección del aparato respiratorio es bronquitis.
3. La composición para uso según la reivindicación 2, en la que la composición es una composición nutricional.
4. La combinación para el uso según la reivindicación 1 o la composición para el uso según la reivindicación 2 o 3, en la que la dosis de 2'-FL, y LNnT y/o LNT aumenta la abundancia de bifidobacterias en el intestino de la persona.
5. La combinación o la composición para el uso según la reivindicación 4, en la que las bifidobacterias es aquella del grupo filogenético *B. adolescentis*.
6. La combinación o la composición para el uso según la reivindicación 5, en la que las bifidobacterias del grupo filogenético *B. adolescentis* son *Bifidobacterium adolescentis* y/o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*.
7. La combinación o la composición para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el adulto es un anciano o una mujer embarazada.
8. La combinación o la composición para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que consiste esencialmente en 2'-FL, y LNnT y/o LNT.
9. La combinación o la composición para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene más 2'-FL que LNnT y/o LNT.
10. La combinación o la composición para el uso según la reivindicación 9, en la que la relación másica de 2'-FL a LNnT y/o LNT en la composición es alrededor de 1,5 a alrededor de 4,5.
11. La combinación o la composición para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende al menos 0,5 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.
12. La combinación o la composición para el uso según la reivindicación 11, que comprende al menos 1 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.
13. La combinación o la composición para el uso según la reivindicación 12, que comprende alrededor de 1,5 g o más de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.
14. La composición para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que es una formulación de una vez al día que proporciona al menos alrededor de 2 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.
15. La composición para el uso según la reivindicación 14, en la que la formulación de una vez al día proporciona al menos 3 g de 2'-FL, y LNnT y/o LNT.