



Organización y
Digitalización CSA Ltda



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

08-127151

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO **"FÓRMULAS INFANTILES ENRIQUECIDAS"**

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE **ABBOTT LABORATORIES**

DOMICILIO **ABBOTT PARK, ESTADO DE ILLINOIS,**
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

74. REPRESENTANTE LEGAL **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
T.P. 53.215

28 NOV. 2008

72. BOGOTA, D.C.

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-127151-00000-0000

Fecha: 2008-11-28 16:02:20 Dep: 2020 NULCRACIONE
Tra: 11 PATENTILYII Lvs: 378 FASLNACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 88

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

30 ene 2009

①

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: ABBOTT LABORATORIES

Dirección: 100 Abbott Park Road, Abbott Park, IL 60064, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: Abbott Park, Estado de Illinois, Estados Unidos de América

Lugar de Constitución: Estado de Illinois, Estados Unidos de América

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: ALICIA LLOREDA RICAURTE

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º, Bogotá, Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES) (72)

Nombre: RUEDA-CABRERA, Ricardo; BARRANCO, Alejandro; RAMIREZ, Maria; VAZQUEZ, Enrique; VALVERDE, Eduardo; PRIETO, Pedro; DOHNALEK, Margaret.

Dirección: Ctra. Huetor Vega, N 38, Urb. Villa Argzez Casa 8 E-18008 Granada; C/Chirivil, N 43, Urb. Los Chopos, E-18110 Las Gabias; C/Ramon Y Cajal 54, Portal 2, 4 A, E-18003 Granada; Camino de Gojar 42, Urb. Los Nenúfares, 52, E-18151 Ogijares; Avda. Hector, E-18198 Cajal; 1644 Crusoe Drive, Columbus, OH 43235 y 1021 Portsmouth Circle, Gurnee, IL 60031.

Nacionalidad o Domicilio: España y Estados Unidos de América.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2007/072528

Fecha: 29/06/2007

Publicación Internacional No. WO 2008/005862 A3

Fecha: 10/01/2008

⑥

Título (54) "FÓRMULAS INFANTILES ENRIQUECIDAS"

⑦

Clasificación Internacional (51) A23L 1/29

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

US

30/06/2006

11/479,504

⑨

Comprobante de Pago No. 08-91.877

Fecha: Noviembre 25 de 2008

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ Traducción del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional, Publicación y Opinión Escrita.

11

FIGURA CARACTERISTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

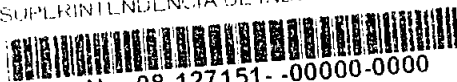
FIRMA

C.C. 39.690.713 Usaquén T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 8001

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-127151- -00000-0000

Fecha: 2008-11-28 16:02:20 Dep: 2020 NULGRLACION
Tra: 11 PATENTILYII Eje: 378 PASLNACIONAL
Act: 411 PRESENTACION Folios: 88

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 91,877
FECHA : NOVIEMBRE 25 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	80211891	25/11/2008	5,703,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
TOTAL :			\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLORED**A y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se esta presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLORED A RICAURTE

T.P. No. 53.215

Los abajo firmados, **ABBOTT LABORATORIES**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes del Estado de Illinois, Estados Unidos de América,

con domicilio en 100 Abbott Park Road, Abbott Park, IL 60064 USA

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes y los registros, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y adicionalmente quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir, conciliar y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias. Por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado el 12 de Julio de 2004

The undersigned, **ABBOTT LABORATORIES**, a corporation organized and existing under the laws of the State of Illinois, United States of America,

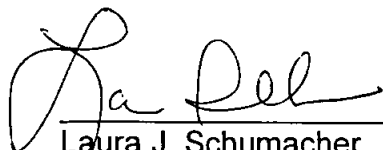
domiciled at 100 Abbott Park Road, Abbott Park, IL 60064 USA

hereby appoint, ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

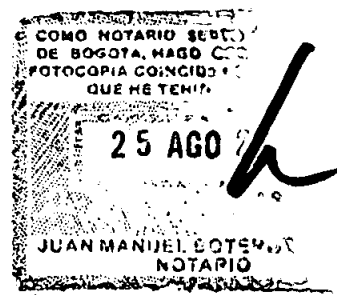
Doctors ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications and registrations, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and additionally we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to conciliate, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 12th day of July, 2004



Laura J. Schumacher
Vice President, Secretary and Deputy General
Counsel



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

ados Unidos de América
ado de {ss
ndado de
/ 12 de Julio de 2004, compareció
ura J. Schumacher , a quien conozco y
quien me consta que firmó el anterior documento,
uien debidamente juramentado declaró y dijo que
S Vice Presidenta, Secretaria y Asesora
de ABBOTT

BORATORIES, la compañía nombrada en el
umento que antecede, una sociedad
idamente organizada y existente conforme a las
es del Estado de Illinois , Estados
dos de América, domiciliada en la ciudad de
bott Park , Condado de Lake
ado de Illinois , Estados Unidos de
érica, legalmente constituida para un período de
ación que aún no ha terminado, que ejerce su
eto social conforme a las leyes del Estado de
linois , Estados Unidos de América;
e el declarante está autorizado por dicha
mpañía para conferir este poder; que el sello
ampado por él al pie de tal poder, en nombre y en
resentación de la expresada Compañía, es el
lo oficial de ella; y que el objeto para el cual se
nfiere este instrumento está comprendido dentro
de la sociedad.

suscrito Notario ha visto los Estatutos de
corporación firmados en Chicago
tado de Illinois , con fecha Sep. 12, 2003,
certifica que de conformidad con la legislación de
ho Estado la anterior declaración juramentada es
eaba suficiente de que los hechos sobre que ella
rsa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

otary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

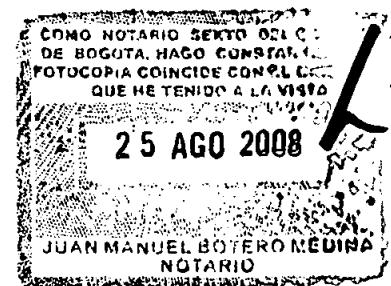
United States of America
State of {ss
County of
On this 12th day of July , 2004 ,
personally
came
to me known, and known to me to be the person who
signed the foregoing instrument, who being by me
duly sworn did depose and say that he is the Vice President
Secretary and Deputy
General Counsel of ABBOTT

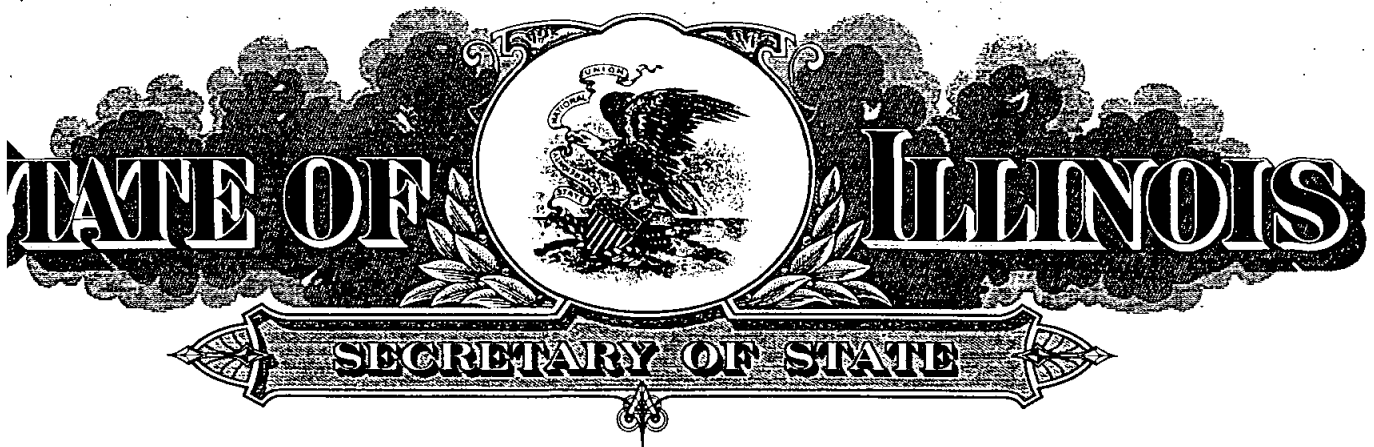
LABORATORIES, the company named within, a
Corporation organized and existing under the laws of
the State of Illinois , United
States of America, domiciled at the City of Abbott Park
County of Lake

State of Illinois , United States of America,
legally constituted for a period of tenure not yet
expired, which exercises its corporate purposes
according to the laws of the State of Illinois ,
United States of America; that the deponent is
authorized by said Company to confer this power of
attorney; that the seal affixed hereunto by the
deponent in the name and on behalf of said
Corporation is the corporate seal thereof; and that the
purpose for which this instrument is granted is
included within the corporate purposes of the
Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles
of Incorporation of said Corporation executed at
Chicago , State of Illinois , under date of
September 12, 2003 , and hereby
certifies that under the laws of said State the
foregoing acknowledgment is sufficient proof that the
facts therein contained are true, which he attests.

Trina Lee Ruiz





SPRINGFIELD, ILLINOIS

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by TRINA LEE RUIZ
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC, LAKE COUNTY
4. bears the seal/stamp of STATE OF ILLINOIS

Certified

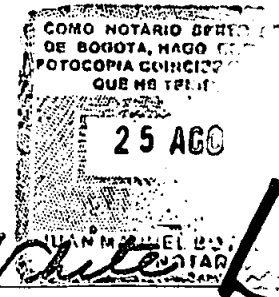
5. Springfield, Illinois
6. JULY 20, 2004

7. by the Secretary of State, State of Illinois

8. No. S04VB11001 /

9. Seal/Stamp:

10. Signature:



JESSE WHITE
SECRETARY OF STATE
STATE OF ILLINOIS

TRADUCCION OFICIAL No. 2008-05-16-324
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Los abajo firmados, **ABBOTT LABORATORIES**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes del Estado de Illinois, Estados Unidos de América, con domicilio en 100 Abbott Park Road, Abbott Park, IL 60064 USA nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes y los registros, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar en fin todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses; y adicionalmente quedan facultados para tomar intervención como demandantes o

demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir, conciliar y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

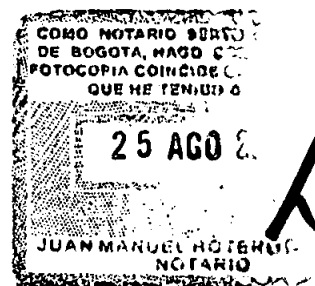
Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado el 12 de julio de 2004

(firma: ilegible)

Laura J. Schumacher

Vicepresidente, Secretaria y Asesor Legal General Asistente



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Estados Unidos de América)

Estado de) ss:

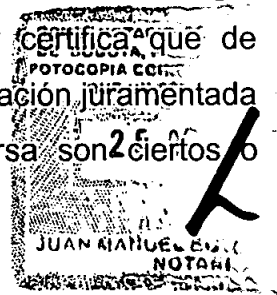
Condado de)

En este día 12 de julio de 2004, compareció Laura J. Schumacher, a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que ella es la Vicepresidenta, Secretaria y Asesora de ABBOTT LABORATORIES, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes del Estado de Illinois, Estados Unidos de América, domiciliada en la ciudad de Abbott Park, Condado de Lake, Estado de Illinois, Estados Unidos de América, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social conforme a las leyes del Estado de Illinois, Estados Unidos de América; que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en Chicago, Estado de Illinois, con fecha 12 de septiembre de 2003, y ~~certifica~~ que de conformidad con la legislación de dicho Estado la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ~~ciertos~~ ²⁵ ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

(firma: ilegible)

Notario Público



SELLO OFICIAL

Trina Lee Ruiz

Notario Público, Estado de Illinois

Mi Comisión Expira el 6-11-2007

Estado de Illinois
Secretario de Estado
Springfield, Illinois

Apostilla

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
- Este documento público
3. ha sido firmado por Trina Lee Ruiz
3. actuando como Notario Público, Condado de Lake
4. lleva el sello/estampilla del Estado de Illinois

Certificado

5. en Springfield, Illinois
7. por el Secretario de Estado, Estado de Illinois
8. No. S04VB11001
9. Sello/Estampilla
- Sello del Estado de Illinois

6. el día 20 de julio de 2004

10. Firma (ilegible)
- Jesse White
- Secretario de Estado
- Estado de Illinois

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 16 de mayo de 2008, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 del 15 de agosto de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

21) No. de solicitud:		(51) Int Cl: A23L 1/29	
22) Fecha de solicitud: 28-11-08		(71) Solicitante(s) ABBOTT LABORATORIES	
30) Prioridad	(31) No. Prioridad 11/479,504	(32) Fecha 30/06/06	(33) País US
		(72) Inventor(es) RUEDA-CABRERA, Ricardo; BARRANCO, Alejandro; RAMIREZ, Maria; VAZQUEZ, Enrique; VALVERDE, Eduardo; PRIETO, Pedro; DOHNALEK, Margaret.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
35) Fecha limite inicio fase nacional: 30/01/09		(87) Publicación internacional	
36) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 10/01/08	
Fecha de presentación de la solicitud: 29/06/07		N° publicación: WO 2008/005862 A3	
No. de solicitud PCT/US2007/072528			
54) Título: "FÓRMULAS INFANTILES ENRIQUECIDAS"			

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1:

Formula infantil que comprende, sobre una base alimentaria;

(A) al menos alrededor de 5 mg/L de gangliósidos

(B) al menos alrededor de 150 mg/L de fosfolipidos

(C) lactoferrina, y

(D) al menos alrededor 70 mg/L de ácido siálico, con al menos alrededor de un 2.5% en peso del ácido siálico como ácido siálico enlazado a lípido;

en donde entre alrededor de 50 % a 100 % en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolipidos, lactoferrina, y ácido siálico son proporcionados por un concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa por lo menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

SUPERINTENDENCIA

PATENTE DE INVENCION ☐ **PCT** ☒ **MODELO DE UTILIDAD** ☐ **DISEÑO INDUSTRIAL** ☐

1) No. de solicitud:

(22) Fecha de solicitud: 28/11/08

1) Clasificación Internacional: A23L 1/29

1) Solicitante(s): **ABBOTT LABORATORIES**

2) Inventor(es) RUEDA-CABRERA, Ricardo; BARRANCO, Alejandro; RAMIREZ, Maria; VAZQUEZ, Enrique; VALVERDE, Eduardo; PRIETO, Pedro; DOHNALEK, Margaret.

1) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

1) Prioridad

(31) **No. Prioridad**
11/479,504

32)

Fecha
30/06/06

(33)

País
US

5) Fecha límite inicio fase nacional: 30/01/09

5) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **29/06/07**

No. de solicitud **PCT/US2007/072528**

(87) Publicación internacional

Fecha: **10/01/08**

No. publicación: **WO 2008/005862 A3**

1) Título: **"FÓRMULAS INFANTILES ENRIQUECIDAS"**



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO TEMATICO

PATENTE DE INVENCION _____ PCT X MODELO DE UTILIDAD _____ DISEÑO INDUSTRIAL _____

(21) No. de solicitud:		(22) Fecha de solicitud: 28/11/08	
(51) Clasificación Internacional: A23L 1/29			
(71) Solicitante(s): ABBOTT LABORATORIES			
(72) Inventor(es): RUEDA-CABRERA, Ricardo; BARRANCO, Alejandro; RAMIREZ, Maria; VAZQUEZ, Enrique; VALVERDE, Eduardo; PRIETO, Pedro; DOHNALEK, Margaret.			
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE			
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	11/479,504	30-06-06	US
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 30/01/09		(87) Publicación internacional:	
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT		Fecha: 10/01/08	
Fecha de presentación de la solicitud: 29/06/07		No. Publicación : WO 2008/005862 A3	
No. de solicitud PCT/US2007/072528			

(54) Título: **"FÓRMULAS INFANTILES ENRIQUECIDAS"**

(57) Resumen:

Reivindicación número 1:

Formula infantil que comprende, sobre una base alimentaria:

(A) al menos alrededor de 5 mg/L de gangliósidos

(B) al menos alrededor de 150 mg/L de fosfolípidos

(C) lactoferrina, y

(D) al menos alrededor 70 mg/L de ácido siálico, con al menos alrededor de un 2.5% en peso del ácido siálico como ácido siálico enlazado a lípido;

en donde entre alrededor de 50 % a 100 % en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico son proporcionados por un concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa por lo menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

ABBOTT LABORATORIES
Attn: Weida, Sandra E.
106140 DS1
635 Cleveland Avenue
Columbus, OH 43215
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

RECEIVED
JAN 23 2008
ROSS PATENT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing (day/month/year)		24/01/2008
Applicant's or agent's file reference 8270WOP1 02		FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/US2007/072528	International filing date (day/month/year) 29/05/2007	
Applicant ABBOTT LABORATORIES		

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:
The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland. Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. **Reminders**

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until **30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within **20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority	Authorized officer
 European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Eleonora Longo

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 8270WOP1	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2007/072528	International filing date (day/month/year) 29/06/2007	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 30/06/2006
Applicant ABBOTT LABORATORIES		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 6 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6b/s(a)).

c. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box No. III)

4. With regard to the title,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national application No

PCT/US2007/072528

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A23L1/29

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, FSTA, BIOSIS, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RUEDA R ET AL: "ADDITION OF GANGLIOSIDES TO AN ADAPTED MILK FORMULA MODIFIES LEVELS OF FECAL ESCHERICHIA COLI IN PRETERM NEWBORN INFANTS" JOURNAL OF PEDIATRICS, MOSBY-YEAR BOOK, ST. LOUIS, MO, US, vol. 133, July 1998 (1998-07), pages 90-94, XP008000724 ISSN: 0022-3476 abstract page 91, column 1 - page 92, column 1 -/--	1-35

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 January 2008

Date of mailing of the international search report

24/01/2008

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Vernier, Frédéric

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national application No

PCT/US2007/072528

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	STEIJNS JAN M: "Milk ingredients as nutraceuticals." INTERNATIONAL JOURNAL OF DAIRY TECHNOLOGY, vol. 54, no. 3, August 2001 (2001-08), pages 81-88, XP002409550 ISSN: 1364-727X page 84, right-hand column - page 85, right-hand column -----	1-35
A	KVISTGAARD A S ET AL: "Inhibitory effects of human and bovine milk constituents on rotavirus infections" JOURNAL OF DAIRY SCIENCE, vol. 87, no. 12, December 2004 (2004-12), pages 4088-4096, XP002409551 ISSN: 0022-0302 the whole document -----	1-35
A	CARLSON S E ET AL: "LOWER INCIDENCE OF NECROTIZING ENTEROCOLITIS IN INFANTS FED A PRETERM FORMULA WITH EGG PHOSPHOLIPIDS" PEDIATRIC RESEARCH, WILLIAMS AND WILKINS, BALTIMORE, MD,, US, vol. 44, no. 4, October 1998 (1998-10), pages 491-498, XP000892677 ISSN: 0031-3998 the whole document -----	1-35
A	SANCHEZ-DIAZ A ET AL: "A CRITICAL ANALYSIS OF TOTAL SIALIC ACID AND SIALOGLYCOCONJUGATE CONTENTS OF BOVINE MILK-BASED INFANT FORMULAS" JOURNAL OF PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY AND NUTRITION, RAVEN PRESS, NEW YORK, NY, US, vol. 24, no. 4, April 1997 (1997-04), pages 405-410, XP008000726 ISSN: 0277-2116 the whole document -----	1-35
A	US 2004/265462 A1 (CARLSON SUSAN E [US]) 30 December 2004 (2004-12-30) paragraph [0047]; claims -----	1-35
A	DE 44 30 041 A1 (MILUPA AG [DE]) 29 February 1996 (1996-02-29) column 2, line 58 - column 3, line 24; claims -----	1-35
A	US 4 762 822 A (ETTINGER ANNA C [US]) 9 August 1988 (1988-08-09) claims -----	1-35

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 15-35 are directed to a method of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the composition.

Continuation of Box II.1

Claims Nos.: -

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

international application No.
PCT/US2007/072528

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: —
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

National application No

PCT/US2007/072528

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004265462 A1	30-12-2004	NONE	
DE 4430041 A1	29-02-1996	WO 9605844 A1 EP 0777486 A1	29-02-1996 11-06-1997
US 4762822 A	09-08-1988	NONE	

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
10 January 2008 (10.01.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/005862 A3

(51) International Patent Classification:
A23L 1/29 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2007/072528

(22) International Filing Date: 29 June 2007 (29.06.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
11/479,504 30 June 2006 (30.06.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **ABBOTT LABORATORIES** [US/US]; Dept. 377/AP6A-1, 100 Abbott Park Road, Abbott Park, IL 60064 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **RUEDA-CABRERA, Ricardo** [ES/ES]; Ctra. Huetor Vega, N 38, Urb. Villa Argvez, Casa 8, E-18008 Granada (ES). **BAR-RANCO, Alejandro** [ES/ES]; C/Chiriyil, N 43, Urb. Los Chopos, E-18110 Las Gabias (ES). **RAMIREZ, Maria** [ES/ES]; C/Ramon Y Cajal 54, Portal 2, 4 A, E-18003 Granada (ES). **VAZQUEZ, Enrique** [ES/ES]; Camino de Gojar 42, Urb. Los Nenúfares, 52, E-18151 Ogijares (ES). **VALVERDE, Eduardo** [ES/ES]; Avda. Hector, E-18198 Cajar (ES). **PRIETO, Pedro** [US/US]; 1644 Crusoe Drive, Columbus, OH 43235 (US). **DOHNALEK, Margaret** [US/US]; 1021 Portsmouth Circle, Gurnee, IL 60031 (US).

(74) Agents: **WEIDA, Sandra, E. et al.**; 625 Cleveland Avenue, Dept. 108140 DS1, Columbus, OH 43215 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the international search report:
20 March 2008

(54) Title: **ENRICHED INFANT FORMULAS**

(57) Abstract: Disclosed are infant formulas comprising, on an as-fed basis (A) at least about 5 mg/L of gangliosides, (B) at least about 150 mg/L of phospholipids, (C) lactoferrin, and (D) at least about 70 mg/L of sialic acid, with at least about 2.5% by weight of the sialic acid as lipid-bound sialic acid. From about 50% to 100% by weight of each of the gangliosides, phospholipids, lactoferrin, and sialic acid is provided by an enriched whey protein concentrate, with the concentrate representing at least about 6.5 g/L of the formula on an as-fed basis. Also disclosed are methods of using the formula to reduce the risk of diarrhea infants, and to produce a gut microflora profile similar to that of breast-fed infants.

WO 2008/005862 A3

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2007/072528

International filing date (day/month/year)
29.06.2007

Priority date (day/month/year)
30.06.2006

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A23L1/29

Applicant
ABBOTT LABORATORIES

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Vernier, Frédéric

Telephone No. +49 89 2399-8646



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2007/072528

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2007/072528

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 15-35

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 15-35 relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2007/072528

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-35</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-35</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-14</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Item III

Claims 15-35 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(I) PCT).

Item V

1. None of the prior art cited in the search report discloses an instant formula comprising gangliosides, phospholipids, lactoferrin and sialic acid in the amounts disclosed in present independent claim 1, not the use of such compositions in reducing the risk of diarrhoea in an infant or producing a gut microflora profile similar to that of breast-fed infants, as disclosed in present independent claims 14 and 22. Thus, present claims 1-35 meet the requirements of Art. 33(2) PCT.
2. In view of the technical problem to be solved (to provide an alternative infant formula for reducing risk of diarrhea in an infant) and its unexpected solution (the instant formula comprising gangliosides, phospholipids, lactoferrin and sialic acid in the amounts disclosed in present independent claim 1), the subject-matter of present claims can be regarded as involving an inventive step (Article 33(3) PCT) over any of the cited prior art, taken alone or in combination.
3. The subject-matter of claims 1-14 meets the requirements of Article 33(4) PCT because it is applicable in the food industry.

For the assessment of the present claims 15-35 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Further comments:

Present claim 9 lacks clarity (Art. 6 PCT), since it claims a product free of

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2007/072528

phospholipids, contrary to the teaching of independant claim 1.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later. (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, QJ 11/2003, QJ 12/2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

XS CPRTENFRDE

BNSDOCID <XS.....2006100103CF_I_>

FÓRMULAS INFANTILES ENRIQUECIDAS

RESUMEN – OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Son divulgadas fórmulas infantiles que comprenden, sobre una base alimentaria (A) al menos alrededor de 5 mg/L de gangliósidos, (B) al menos alrededor de 150 mg/L de fosfolípidos, (C) Lactoferrina, y (D) al menos alrededor de 70 mg/L de ácido siálico. Se proporciona entre alrededor de 50% a 100% en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina y ácido siálico por un concentrado proteínico de suero enriquecido, con el concentrado representando al menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria. También son divulgados métodos de uso de la fórmula para reducir el riesgo de diarrea en infantes, y producir un perfil de microflora intestinal similar a la de los infantes alimentados con pecho.

FÓRMULAS INFANTILES ENRIQUECIDAS

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a fórmulas infantiles enriquecidas y que comprende combinaciones seleccionadas de fosfolípidos, lactoferrina, gangliósidos, y ácido siálico, cada uno de los cuales es proporcionado todo o en parte por un concentrado proteínico de suero enriquecido para asimilar mejor la composición natural y función de la leche humana.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las fórmulas infantiles comerciales son usadas comúnmente hoy para proporcionar suplemento o única fuente de nutrición temprana en la vida. Estas fórmulas comprenden un rango de nutrientes para cumplir las necesidades nutricionales del crecimiento infantil e incluye típicamente lípidos, carbohidratos, proteínas, vitaminas, minerales, y otros nutrientes útiles para el óptimo crecimiento y desarrollo infantil.

Las fórmulas infantiles comerciales están diseñadas para asemejar, lo más cerca posible, la composición y función de la leche humana. En los Estados Unidos, la ley Federal de alimentos, fármacos y cosméticos (LFAFC) define fórmula infantil como "un alimento el cual tiene como objeto ser o representar una dieta especial para uso únicamente como un alimento para infantes debido a su simulación de la leche humana o su idoneidad como una substitución completa o parcial de la leche humana" (LFAFC 201(z)).

Fórmulas infantiles comerciales, bajo las reglas de la LFAFC, estan definidas por nutrientes básicos que deben ser formulados dentro de las fórmulas infantiles sin excepción en los Estados Unidos. Estos nutrientes incluyen, por 100 kcal de fórmula: proteína (por lo menos 1.8 - 4.5 g equivalente nutricionalmente a caseína), grasa (3.3 - 6.0 g), ácido linoléico (por lo menos 300 mg), vitamina A como equivalente de retinol (75 - 225 mcg), vitamina D (40-100 IU), vitamina K (por lo menos 4.0 mcg), vitamina E (por lo menos 0.7 IU/g de ácido linoléico), ácido ascórbico (por lo menos 8.0 mg), tiamina (por lo menos 40 mcg), riboflavina (por lo menos 60 mcg) pirodoxina (por lo menos 35.0 mcg con 15 mcg/g de proteína en fórmula), vitamina B12 (por lo menos 0.15 mcg), niacina (por lo menos 250 mcg),

ácido fólico (por lo menos 4.0 mcg), ácido pantoténico (por lo menos 300.0 mcg), biotina (por lo menos 1.5 mcg), colina (por lo menos 7.0 mg), inositol (por lo menos 4.0 mg), calcio (por lo menos 50.0 mg), fósforo (por lo menos 25.0 mg con calcio en una proporción de fósforo de 1.1 - 2.0), magnesio (por lo menos 6.0 mg), hierro (por lo menos 0.15 mg), yodo (por lo menos 5.0 mcg), zinc (por lo menos 0.5 mg), cobre (por lo menos 60.0 mcg), manganeso (por lo menos 5.0 mcg), sodio (20.0 - 60.0 mg), potasio (80.0 - 200.0 mg) y cloro (55.0 - 150.0 mg)

No obstante lo dispuesto en los controles regulatorios, las fórmulas infantiles comerciales aún no son idénticas, en cualquiera de las dos, composición o función, a la leche humana. Casi 200 compuestos diferentes han sido identificados en la leche humana, mas de 100 aún no son típicamente encontrados en cantidades significativas, o en ninguna cantidad, en fórmulas comerciales. Tales compuestos incluyen diversas inmunoglobulinas, enzimas, hormonas, ciertas proteínas, lactoferrina, gangliósidos, fosfolípidos (esfingomielina, fosfatidil etanolamina, fosfatidilcolina, fosfatidil serina, fosfatidil inositol), y así sucesivamente. Muchos de estos materiales son únicos a la leche humana o son presentados solamente en concentraciones menores en la leche de vaca u otra fuente de proteína usada en la preparación de una fórmula infantil comercial.

Hay una continua necesidad, por tanto, para nuevas fórmulas infantiles que incluso contienen más de los ingredientes naturales encontrados en la leche humana, para que por lo tanto proporcionen mas de los beneficios nutricionales que actualmente gozan los infantes amamantados.

La presente invención se dirige a fórmulas infantiles con concentraciones seleccionadas y tipos de aquellos compuestos inherentemente encontrados en la leche humana, que incluye fosfolípidos, gangliósidos, lactoferrina y ácido siálico. En virtud de éstos ingrediente seleccionados y sus correspondientes concentraciones en las fórmulas infantiles, los perfiles de nutrientes de las fórmulas infantiles aquí descritas son mas similares a la leche humana que las fórmulas infantiles convencionales.

Se descubrió que, además de asimilar algunos de los ingredientes encontrados en la leche humana, las fórmulas infantiles de la presente invención también reducen el riesgo de diarrea como se demostró en un estudio en animales aquí descrito. El estudio muestra una reducción de la diarrea en un animal modelo comparando la

fórmula infantil de la presente invención con una fórmula infantil comercial que contiene poco o ninguna cantidad de lactoferrina, fosfolípidos y gangliósidos.

También fue descubierto que las fórmulas infantiles de la presente invención promueven el desarrollo de un perfil de microflora intestinal similar al encontrado en fórmulas de infantes alimentados con pecho, como se demostró utilizando un sistema modelo in-vitro dinámico validado del intestino grueso desarrollado por TNO Calidad de Vida (TNO modelo in-vitro o TIM-2). Es bien conocido que la lactancia materna y los infantes alimentados con fórmula tienen diferencias significativas en los perfiles de microflora intestinal, con la de los infantes alimentados con pecho siendo las más saludable de las dos.

RESUMEN DE LA INVENCION

Una primera realización de la presente invención está dirigida a fórmulas infantiles que comprenden, sobre una base de alimentaria (A) de por lo menos unos 5 mg/L de gangliósidos, (B) por lo menos unos 150 mg/L de fosfolípidos, (C) lactoferrina, y (D) y por lo menos 70 mg/L de ácido siálico con por lo menos 2.5% en peso de ácido siálico como ácido siálico enlazado a lípido. De alrededor de 50% a 100% en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico es proporcionado por un concentrado proteínico de suero enriquecido, representando el concentrado por lo menos unos 6.5 g/L de la fórmula sobre una base de alimentaria.

Una segunda realización de la presente invención esta dirigida a un método de reducción del riesgo de diarrea en un infante, que incluye un método de reducción de la duración de la diarrea en infantes, cuando así se inflige. El método comprende la administración a un infante en necesidad del mismo una fórmula que comprende sobre una base alimentaria (A) por lo menos unos 5 mg/L de gangliósidos (B) por lo menos 150 mg/L de fosfolípidos, (C) lactoferrina, y (D) por lo menos 70 mg/L de ácido siálico, con por lo menos un 2.5% en peso del ácido siálico como enlazado a lípido. Se proporciona alrededor de 50 a 100% en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico por un concentrado proteínico de suero enriquecido, con el concentrado que representa por lo menos unos 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.

Una tercera realización de la presente invención esta dirigida a un método de estimulación de microflora intestinal similar a la que se encuentra en lactantes alimentados con pecho. El método comprende la administración a un infante en necesidad de la misma de una fórmula que comprende, una base alimentaria (A) de por lo menos unos 5 mg/L de gangliósidos, (B) de por lo menos unos 150 mg/L de fosfolípidos y (C) lactoferrina y (D) por lo menos unos 70 mg/L de ácido siálico, en donde por lo menos 2.5% en peso del ácido siálico es enlazado a lípido. Son proveídos alrededor de 50 a 100% en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico por un concentrado proteínico de suero enriquecido, con el concentrado que representa por lo menos unos 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.

Se descubrió que, además de la asimilación de algunos ingredientes encontrados en la leche humana, las fórmulas infantiles de la presente invención también reducen el riesgo de diarrea como se demostró en un estudio de un modelo animal descrito a continuación. El estudio muestra una reducción en la duración de la diarrea en un animal modelo comparando la fórmula infantil de la presente invención con una fórmula infantil comercial.

También se descubrió que las fórmulas infantiles de la presente invención promueven el desarrollo de un perfil de microflora intestinal similar al encontrado en infantes alimentados con fórmula, como se demostró utilizando un modelo de sistema TIM-2. Es bien conocido que los infantes alimentados con pecho y los infantes alimentados con fórmula tienen diferencias significativas en los perfiles de microflora intestinal, siendo la de los infantes alimentados con pecho la que se cree mas saludable de las dos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es un gráfico que resume el perfil de los ácidos grasos de cadena corta para una fórmula infantil convencional con 0.5g/L FOS de cadena corta después de 72 horas de fermentación de flora de leche materna (Experimento 1)

La figura 2 es un gráfico que resume el perfil de los ácidos grasos de cadena corta para una fórmula infantil convencional con 2.0 g/L de FOS de cadena corta después de 72 horas de fermentación la flora de leche materna (Experimento 1)

La Figura 3 es un gráfico que resume el perfil de los ácidos grasos de cadena corta para una fórmula infantil convencional con 2.0 g/L de FOS de cadena corta y larga después de 72 horas de fermentación de flora de leche materna (Experimento 1)

Figura 4 es un gráfico que resume el perfil de los ácidos grasos de cadena corta para una realización de una fórmula infantil de la presente invención que comprende 0.8 g/L de FOS de cadena corta después de 72 horas de fermentación de flora de leche materna (Experimento 1)

La Figura 5 un gráfico que resume el perfil de los ácidos grasos de cadena corta para lactantes alimentados con pecho, que resulta de la fermentación por medio de la microflora en el intestino (Experimento 1)

La Figura 6 un gráfico que resume el típico perfil de los ácidos grasos de cadena corta para una fórmula infantil convencional después de 72 horas de fermentación de la flora de leche materna (Experimento 1)

La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra la duración (días) de diarrea en lechones alimentados con la cualquiera de las Dietas A (fórmula infantil comercial con concentrado proteínico de suero enriquecido en un nivel de 7.1 g/L de una fórmula como base alimentaria). Los datos son la Media $\pm$ SEM. (*) Significativamente diferentes del grupo A ($p < 0.05$) (Experimento 2)

Figura 8 es un gráfico de barras que muestra la duración (días) de diarrea en cualquiera de los lechones alimentados con la Dieta A y C (fórmulas infantiles comerciales con concentrado proteínico de suero convencional) o la Dieta B (fórmula infantil con concentrado proteínico de suero enriquecido en un nivel de 6.4 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria) (Experimento 3)

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Las composiciones de la presente invención comprenden gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina y ácido siálico, cada uno de los cuales es proporcionado todo o en parte por un concentrado proteínico de suero enriquecido, cada uno de los cuales de describe en detalle a continuación.

El termino "infante" aquí usado se refiere a individuos de no mas de un año de edad e incluye infantes desde 0 a alrededor de 4 meses de edad, infantes de alrededor de 4 a 8 meses de edad, infantes de alrededor de 8 a 12 meses de edad, infantes de bajo peso al nacer menor de 2500 gramos, e infantes nacidos prematuramente de menos de aproximadamente 37 semanas de edad de gestación, típicamente de alrededor de 26 semanas a 34 semanas de edad de gestación.

El término "fórmula infantil" aquí usado, a menos de que se especifique de otro modo, se refiere a formulaciones que comprenden grasa, proteína, carbohidratos, vitaminas y minerales y que son adecuadas para administración oral a infantes como complemento, primario, o como única fuente de nutrición, no limitando ejemplos en los cuales se incluye polvos reconstituidos, concentrados diluidos y preparados líquidos para alimentación de lactantes.

El término "como alimento" aquí usado, a menos de que se especifique de otro modo, se refiere a fórmulas líquidas adecuadas para administración oral directa a un infante, en donde las fórmulas son líquidos listos para consumir, polvos reconstituidos o concentrados diluidos.

Todos los rangos de ingredientes aquí usados, a menos de que se especifique de otro modo, son usados para caracterizar las fórmulas infantiles de la presente invención son en peso de la fórmula infantil en una base alimentaria.

Todos los porcentajes, partes y proporciones aquí usadas son en peso de la composición total, a menos de que se especifique de otro modo. Todos los pesos a los que se refiere la lista de ingredientes son basados en el nivel activo, por tanto, no incluye solventes o sub-productos que puedan ser incluidos en los materiales disponibles comercialmente, a menos de que se especifique de otro modo.

Las fórmulas de la presente invención también pueden ser substancialmente libres de cualquier ingrediente esencial opcional o seleccionado o característica aquí descrita, siempre que la fórmula remanente aún contenga todos los ingredientes requeridos o características aquí descritas. En este contexto, a menos de que se especifique de otro modo, el término "substancialmente libre" significa que la composición seleccionada contiene menos de una cantidad funcional del ingrediente opcional, típicamente menor de 0.1% en peso, y que también incluye un

porcentaje cero en peso de tales ingredientes esenciales opcionales o seleccionados.

Todas las referencias o características singulares o limitaciones de la presente invención deberán incluir la correspondiente característica plural o limitación, y viceversa, a menos de que se especifique de otro modo o claramente implique lo contrario debido al contexto en el cual se hace referencia.

Todas las combinaciones de etapas métodos o procesos aquí usadas, pueden ser realizadas en cualquier orden, a menos de que se especifique de otro modo o claramente implique lo contrario debido al contexto en el que esta hecha la combinación referenciada.

Los métodos y composiciones de la presente invención, que incluye los mismos componentes, pueden comprender, consistir en, o esencialmente consistir en los elementos esenciales y limitaciones de la invención aquí descrita, así como cualquier ingrediente adicional u opcional, componentes o limitaciones aquí descritas u otra cosa útil en la aplicación de la fórmula nutricional.

Concentrado Proteínico de Suero Enriquecido

Las fórmulas infantiles de la presente invención comprenden niveles seleccionados de concentrados proteínicos de suero enriquecidos que proveen, en su totalidad o en una parte, los gangliósidos, la lactoferrina, fosfolípido y componentes de ácido siálico en la fórmula. El concentrado proteínico de suero enriquecido puede proporcionar alrededor de 10% a 100%, que incluye alrededor de 50 – 100%, que incluye alrededor del 50% a alrededor del 90%, e incluye también alrededor del 60% a alrededor del 85%, en peso, de cada uno de los fosfolípidos totales, gangliósidos, lactoferrina y niveles de ácido siálico en la fórmula infantil. Aunque los últimos compuestos pueden ser adicionados individualmente y separadamente, como compuestos aislados de la leche de un mamífero u otra fuente adecuada, se prefiere que la mayoría si no todos los compuestos sean proporcionados por el concentrado proteínico de suero enriquecido.

El nivel de concentrado proteínico de suero enriquecido en la fórmula infantil debe superar alrededor de 6.5 g/L de la fórmula en una base alimentaria. Tales concentraciones también pueden variar de alrededor de 6.5 a alrededor de 10.9

g/L, que incluye alrededor de 6.6 g/L a alrededor de 8.5 g/L y también incluye de alrededor de 6.7% a alrededor de 7.3% de la fórmula, en una base alimentaria.

Los concentrados proteínicos de suero enriquecido para uso en las fórmulas infantiles de la presente invención son los que tienen una alta concentración de materiales de membrana globular de grasa de leche. Los materiales de membrana globular grasa de leche y materiales asociados a membrana que rodean los glóbulos grasos de la leche rica en triacilglicerol en bovinos u otros mamíferos. Muchos de los compuestos identificados en los materiales de membrana globular de grasa de leche son presentados en concentraciones mucho mas altas en la leche de humanos que en las fórmulas infantiles comerciales. Por adición de concentrados proteínicos de suero enriquecido en tales materiales a una fórmula infantil, la fórmula resultante es mas similar en composición a la leche humana, especialmente con respecto a concentraciones en la leche humana de gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina y ácido siálico.

El término "concentrado proteínico de suero enriquecido" aquí usado, a menos de que se especifique de otro modo, generalmente se refiere a cualquier concentrado proteínico de suero que tiene por lo menos un 3%, mas típicamente un 5% en peso de fosfolípidos, de los cuales al menos un 20% en peso de esfingomielina, al menos un 0.5% , típicamente al menos un 1.2% en peso de ácido siálico; y al menos un 0.05%, típicamente al menos 0.1% en peso de gangliósidos. Al menos un 2.5% en peso de ácido siálico del concentrado es enlazado a lípido.

Las fuentes adecuadas de concentrados proteínicos de suero enriquecido incluyen cualquier concentrado proteínico de suero que tiene los niveles anteriormente descritos de ingredientes enriquecidos, sin limitar ejemplos en los cuales se incluye LACPRODAN® MFGM-10, Concentrados Proteínicos de Suero, disponibles en los ingredientes lácteos (Arla Food Ingredients), Denmark, los cuales contienen 6.5% de fosfolípidos, 0.2% de gangliósidos, 1.80% de ácido siálico (como mínimo 2.5% de ácido siálico enlazado a lipido en peso del total de ácido siálico) y 1.5% de lactoferrina, en peso del concentrado.

Ácido Siálico

Las fórmulas infantiles de la presente invención comprenden ácido siálico en una concentración, en una base alimentaria, de al menos 70 mg/L, que incluye

alrededor de 90 mg/L a alrededor de 4000mg/L, que además incluye 190 mg/litro a alrededor de 2000 mg/L, también incluye alrededor de 300 mg/L a alrededor de 900 mg/L, con al menos 2.5%, incluyendo alrededor de 2.6% a alrededor de 10%, incluyendo alrededor de 2.7% a alrededor del 5%, en peso de ácido siálico como enlazado a lípido. Alguno o todo el ácido siálico puede ser proporcionado por un concentrado proteínico enriquecido como el aquí descrito.

El componente de ácido siálico de lípido ligado de la fórmula infantil se encuentra más típicamente en la forma de un gangliósido, el cual inherentemente contiene ácido siálico de lípido-ligado. El gangliósido componente de la presente invención, como se describe a continuación, puede por lo tanto ser una fuente primaria o única del ácido siálico enlazado a lípido componente de la presente invención.

El término "ácido siálico" aquí utilizado, a menos de que se especifique de otro modo, se refiere a todas las formas conjugadas y no conjugadas del ácido siálico, que incluye derivados del ácido siálico. El ácido siálico en la fórmula infantil de la presente invención puede por lo tanto incluir ácido siálico libre, ácido siálico de proteína-ligada, ácido siálico de lípido ligado, (que incluye gangliósidos), ácido siálico de carbohidrato-ligado y combinaciones o derivados de los mismos. Todas las concentraciones de ácido siálico aquí descritas están sobre la base del porcentaje en peso del compuesto de ácido siálico o fracción propia, menos proteína, lípido, carbohidrato, o otros conjugados ligados a la estructura de ácido siálico.

Las fuentes de ácido siálico para uso en las fórmulas infantiles puede ser adicionado o obtenido como ingredientes separados. Sin embargo, en general, el ácido siálico se proporciona principalmente como un ingrediente intrínseco de un componente del concentrado proteínico de suero, preferiblemente a partir de un concentrado proteínico de suero enriquecido como el aquí descrito. Aunque menos preferido, el ácido siálico puede ser obtenido desde y añadido como un ingrediente separado a la fórmula infantil, en el caso de ser adicionado el ácido siálico, éste es combinado con el ácido siálico inherente de otros ingredientes para proporcionar el contenido total de ácido siálico en la fórmula infantil.

Como un compuesto individual o fracción, el ácido siálico es un amino azúcar de nueve átomo de carbono, estructura fácilmente descrita en la literatura química. Otros nombres generalmente aceptados son ácido N-acetilneuramínico que incluye

ácido sialico, ácido o-sialico; ácido 5-acetamido-3,5-dideoxi-D-glicero-D-galacto-2-nonulosónico; ácido 5-acetamido-3,5-dideoxi-D-glicero-D-galactonulosónico; ácido aceneurámico, N-acetil-neuraminato; ácido N-acetilneuramínico; NANA; NANA, Neu5Ac y Neu5Ac.

Las fuentes de ácido siálico pueden ser naturales o sintéticas, e incluir cualquiera de las de 40 que naturalmente se encuentran y derivados de ácido siálico identificados actualmente, lo cual incluye ácido sialico libre, oligosacaridos conjugados (por ejemplo, sialiloligosacaridos), conjugados lipídicos (es decir, glicolipidos), conjugados proteínicos (es decir, glicoproteínas) y combinaciones de las mismas.

El ácido siálico aquí utilizado incluye sialiloligosacaridos comúnmente encontrado en la leche humana, ya sea natural o sintético, los dos más abundantes son el 3'sialilactosa (3'SL, NeuNAc α 2-3Galactosa β 1-4Glucosa) y 6'sialilactosa (6'SL, NeuNAc α 2-6Galactosa β 1-4Glucosa). Otros sialiloligosacaridos adecuados incluyen aquellos que contienen uno o más moléculas conjugadas de ácido siálico para aumentar la leche humana u otros oligosacaridos más complejos.

Otros ácidos siálicos para usar aquí incluyen cualquier glicolípido correspondiente que también es adecuado para uso en una fórmula infantil, que incluye gangliósidos tales como glicolípidos conteniendo ácido siálico que comprenden un ácido graso, esfingosina, glucosa, galactosa, N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina y moléculas del ácido N-acetilneuramínico. Estos compuestos de ácido siálico también pueden incluir uno o más de las varias glicoproteínas comúnmente encontradas en la leche humana que son conocidas por ser sialiladas (por ejemplo, k-caseína, α -lactoalbumina, lactoferrina)

Fuentes adecuadas para uso aquí incluyen aislados, concentrados, o extractos de leche de mamíferos o productos mamífero, que incluyen leche humana y bovina. La leche bovina es la fuente preferida de uso aquí, que incluye concentrados proteínicos de suero enriquecido como los aquí descritos.

Fuentes individuales de ácido siálico para uso aquí incluye Lacprodan CGMP-10 (glicomacropéptido de caseína con 4.2% de ácido siálico), disponible de ArlaFood Ingredients, Denmark; y glicomacropéptido de Biopure (con 7 - 8% de ácido siálico), disponible en Davisco Foods internacional, Eden Prairie, Minesota, USA.

Aunque las fórmulas infantiles pueden comprender glicomacropéptidos como una fuente de ácido siálico son substancialmente reducidas en el contenido de glicomacropéptido. El glicomacropéptido es parte de la molécula de caseína de la proteína de la leche bovina. Únicamente una pequeña cantidad de glicomacropéptidos libres se encuentra en la leche descremada, pero el concentrado proteínico de suero contiene altas cantidades de glicomacropéptidos libres. Se ha encontrado que los glicomacropéptidos no son tolerados por los infantes así como otras fuentes de ácido siálico. Así pues, la fórmulas infantiles hechas con concentrado proteínico de suero tienen alto contenido de glicomacropéptidos, pero podría ser menos tolerada por los infantes.

En el contexto, el término "reducido substancialmente" significa que las fórmulas infantiles preferiblemente contienen menos de un 0.5% que incluye menos de 0.4% que incluye también menos de 0.35% e incluye menos de cero por ciento en peso de la fórmula como glicomacropéptidos libres en una base alimentaria. Convencionalmente las fórmulas infantiles típicamente contienen desde 0.6 a 0.8% de glicomacropéptidos como un ingrediente intrínseco de un típico concentrado proteínico de suero a partir de suero de queso.

Gangliósidos

Las fórmulas infantiles de la presente invención comprenden concentrados enriquecidos de uno o mas gangliósidos, un grupo de compuestos de un glicocoesfingolípido (ceramida y oligosacárido) con uno o mas ácidos siálicos (ácido N-acetilneuramínico) unido a la cadena oligosacárida. Algunos o todos los gangliósidos pueden ser proporcionados por el concentrado proteínico enriquecido como fue descrito aquí.

Los gangliósidos son componentes normales de las membranas plasmáticas de las células de un mamífero y son particularmente abundantes en las membranas neuronales. Éstos están compuestos por una porción hidrofóbica, la ceramida, y una porción hidrofílica, una cadena oligosacárida que contiene una o más moléculas de ácido siálico.

Las fracciones de oligosacáridos de los gangliósidos tienen diferentes estructuras químicas que constituyen la base de referencia para la separación de gangliósidos y su reconocimiento como entidades individuales. La fracción de ceramida de los gangliósidos más comunes tiene una composición de ácido graso heterogéneo con una prevalencia de derivados C18 y C20.

Los gangliósidos son comúnmente nombrados usando las designaciones M, D y T, las cuales se refieren a mono-, di- y tritrisialogangliósidos, respectivamente, y los número 1, 2, 3 etc. Se refieren al orden de migración de los gangliósidos sobre una capa de cromatografía en capa delgada. Por ejemplo, el orden de migración de los monosialogangliósidos en una cromatografía en capa delgada es GM3 > GM2 > GM1. Para indicar las variaciones dentro de las estructuras básicas, además son adicionados subíndices, por ejemplo GM1a, GD1a, etc.

Las fórmulas infantiles de la presente invención comprenden al menos 5 mg/L de gangliósidos, que incluye alrededor de 7 mg/L, incluye también alrededor de 10 a alrededor de 30 mg/L.

Estas concentraciones de gangliósidos son similares a las encontradas en la leche humana, las cuales típicamente contienen por lo menos 3 mg/L de gangliósidos, mas típicamente entre alrededor de 3m/L y alrededor de 30 mg/L de gangliósidos. Estos gangliósidos para uso en las fórmulas infantiles típicamente contiene uno o mas, mas típicamente todos, los gangliósidos GD3, O-acetil-GD3 y GM3. Estos gangliósidos generalmente representan por lo menos un 80%, mas típicamente un 90% en peso de los gangliósidos totales en la fórmula infantil aquí descrita.

Las fuentes adecuadas de gangliósidos aquí descritas incluyen aislados, concentrados o extractos de la leche de un mamífero o productos de la leche, que incluyen leche humana y bovina. La leche bovina es la fuente preferida, que incluye concentrados proteínicos de suero enriquecido como los aquí descritos.

Las fuentes individuales de gangliósidos adecuados para se usados aquí incluyen el Gangliósido 500 (>0.5% GM3 y < 1.0% de GD3) y el Gangliósido 600 (>1.2% de GD3) disponibles de la Fonterra, Nueva Zelanda.

Las concentraciones de gangliósidos para el propósito de definir las fórmulas infantiles de la presente invención son medidas de acuerdo con el método para gangliósidos descrito a continuación.

Fosfolípidos

Las fórmulas infantiles de la presente invención comprenden concentraciones enriquecidas de fosfolípidos. Tales concentraciones son mas altas que las

encontradas en fórmulas infantiles convencionales pero similares a las encontradas en la leche humana. Algunos o todos los fosfolípidos pueden ser proporcionados por el concentrado proteínico de suero enriquecido como el aquí descrito.

Los fosfolípidos aquí usados incluyen aquellos comúnmente encontrados en bovinos y leche de otros mamíferos. Los fosfolípidos preferidos incluyen la esfingomielina, fosfaditil, etanolamina, fosfatidil colina, fosfatidil inositol, fosfatidil serina, y combinaciones de las mismas. Las más preferidas son las combinaciones de todos los cinco fosfolípidos, especialmente tales combinaciones en las cuales la esfingomielina representa por lo menos un 20% en peso de fosfolípidos totales.

Las concentraciones de fosfolípidos en las fórmulas infantiles de la presente invención son por lo menos de 150 mg/L, que incluye alrededor de 200 mg/L a alrededor de 600 mg/L, que también incluye alrededor de 250 a alrededor de 450 mg/L. La leche humana, por comparación, generalmente contiene alrededor de 163 a alrededor de 404 mg/L de fosfolípidos, con esfingomielina que representa cerca del 51% del total de fosfolípidos.

Las fuentes adecuadas de fosfolípidos para ser usadas aquí incluyen aislados, concentrados o extractos de leche de un mamífero o productos lácteos, incluyendo leche humana y bovina. La leche bovina es la fuente preferida de fosfolípidos aquí usada, que incluye concentrados proteínicos de suero enriquecido como los aquí descritos.

Otras fuentes de fosfolípidos adecuadas incluyen soya, tales como la lecitina de soya. Las fórmulas infantiles de la presente invención, sin embargo, son preferiblemente y substancialmente libres de fosfolípidos de soya.

Las fórmulas infantiles también son preferiblemente y substancialmente libres de fosfolípidos provenientes de huevo, el cual también se refiere como lecitina de huevo. En éste contexto, el término "Libre substancialmente" quiere decir que las fórmulas infantiles contiene menos de un 0.5%, más preferiblemente menos de 0.1%, que incluye cero por ciento en peso de fosfolípidos de soya o huevo.

Fuentes individuales de fosfolípidos adecuadas para usarse aquí incluyen fuentes derivadas de la leche tales como el concentrado fosfolipídico 600 (>18.0% de Esfingomielina, >36.0% de Fosfatidil colina, >9.0% de Fosfatidil Etanolamina, 4.0% de fosfatidilserina), disponibles en la Fonterra, Nueva Zelanda.

Lactoferrina

Las fórmulas infantiles de la presente invención comprenden lactoferrina, una proteína transportadora de hierro encontrada en la leche humana. Estas fórmulas contienen concentraciones enriquecidas de lactoferrina en niveles mayores que los encontrados en fórmulas infantiles convencionales. Parte o toda la lactoferrina puede ser proporcionada por un concentrado proteínico de suero como el aquí descrito.

El término "lactoferrina" aquí utilizado ambos lactoferrina desnaturalizada y grande, fragmentos activos biológicamente de lactoferrina (por ejemplo, fragmentos de lactoferrina) y lactoferrina desnaturalizada y natural. La lactoferrina es una glicoproteína que pertenece a los transportadores de hierro o a la familia transferín. En bovinos y otra leche de mamíferos se encontró como un componente proteínico menor de proteínas de suero. La lactoferrina contiene 703 aminoácidos, tiene un peso molecular de 80 kilodaltons y se encuentra también en la leche humana.

El término "lactoferrina nativa" aquí usada se refiere a lactoferrina que no esta en conjunto con otras proteínas o lípidos. La lactoferrina nativa puede, sin embargo, ser unida a hierro u otros materiales.

Las concentraciones de lactoferrina en las fórmulas infantiles de la presente invención son preferiblemente de al menos de 50 mg/L, que incluye entre alrededor de 50 mg/L y alrededor de 2000mg/L, que incluye alrededor de 100 a alrededor de 1500 mg/L con al menos preferiblemente un 6% en peso, que incluye alrededor de un 6% a alrededor de un 30%, y también incluye alrededor de un 7% a un 14%, de lactoferrina como lactoferrina nativa. Por comparación, la leche humana, generalmente contiene alrededor de 1390 a alrededor de 1940 mg/L de lactoferrina.

Fuentes adecuadas de lactoferrina para usar aquí incluye aislados, concentrados o extractos de leche de mamíferos o productos lácteos, incluyendo leche humana y bovina. La leche bovina es la fuente de lactoferrina preferida para usar aquí, que incluye concentrado proteínico de suero enriquecido como el aquí descrito.

Las fuentes individuales de lactoferrina adecuadas para usarse aquí incluye Lactoferrina FD (80% de Lactoferrina), disponible en DMV Internacional, Veghel, Los países bajos.

Otros Nutrientes

Las fórmulas infantiles de la presente invención comprenden grasa, carbohidrato, vitaminas y minerales, los cuales son seleccionados en clase y cantidad para cumplir el único, primario, o necesidad de suplemento nutricional de los infantes o la población infantil definida.

Son conocidas muchas fuentes diferentes y tipos de carbohidratos, grasas, proteínas, minerales y vitaminas que pueden ser usadas en las fórmulas base aquí descritas, proporcionando que tales nutrientes sean compatibles con los ingredientes adicionados en la formulación seleccionada y son por lo demás además adecuados para uso en una fórmula infantil.

Los carbohidratos adecuados para uso en las fórmulas aquí descritas pueden ser simples o complejos, conteniendo lactosa o libre de lactosa, o combinaciones de los mismos, no limitando ejemplos en los cuales se incluye carbohidratos hidrolizados, intactos, naturalmente y/o de harina de maíz químicamente modificados, maltodextrina, glucosa, polímeros, sucrosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, carbohidratos derivados del arroz o de la papa, glucosa, fructosa, lactosa, jarabe de maíz de alta fructosa y oligosacáridos no digeribles tales como fructooligosacaridos (FOS), galactooligosacaridos (GOS) y combinaciones de los mismos.

Las proteínas adecuadas para uso en las fórmulas aquí descritas incluyen hidrolizados, hidrolizados parciales y no-hidrolizados o proteínas intactas o fuentes proteínicas y pueden ser derivadas de cualquiera de las conocidas o si no de fuentes adecuadas como la leche (por ejemplo, caseína, suero, proteína de leche humana), animal (por ejemplo, carne, pescado), cereal (por ejemplo, arroz maíz), vegetales (por ejemplo, soya) o combinaciones de las mismas.

Las proteínas para usar aquí pueden incluir también, o ser enteramente o parcialmente reemplazadas por aminoácidos libre conocidos o de otro tipo adecuados para el uso en fórmulas infantiles, no limitando ejemplo en los cuales se incluye alanina, arginina, asparagina, carnitina, ácido aspártico, cisteína, ácido

glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, taurina, treonina, triptofano, taurina, tirosina, valina, y combinaciones de las mismas.

Estos aminoácidos son típicamente usados en sus formas L-, aunque los correspondientes isómeros D- también pueden ser utilizados cuando equivalen nutricionalmente. También pueden ser utilizadas las mezclas racémicas o isoméricas.

Las grasas adecuadas para uso en las fórmulas aquí descritas incluyen aceite de coco, aceite de soya, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de cartamo, aceite de cartamo de alto contenido oleico, aceite de algas, aceite MCT (triglicéridos de cadena media), aceite de girasol, aceite de girasol de alto contenido oleico, aceite de palma y aceite de almendra de palma, oleína de palma, aceite de canola, aceite marino, aceite de semilla de algodón, y combinaciones de las mismas. Las fórmulas infantiles de la presente invención incluyen aquellas realizaciones que comprenden menos de un 1.0%, que incluyen menos de aproximadamente un 0.2%, también incluyen cero por ciento en peso de grase de leche en una base alimentaria.

Vitaminas y otros ingredientes similares adecuados para uso en las fórmulas incluye vitamina A, vitamina D, vitamina E, vitamina K, tiamina, pirodoxina, vitamina B12, niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina, vitamina C, colina, inositol, sales y derivados y combinaciones de los mismos.

Los minerales adecuados para el uso en las fórmulas base incluyen calcio, fósforo, magnesio, hierro, zinc, manganeso, cobre, cromo, yodo, sodio, potasio, cloro, y combinaciones de los mismos.

Las fórmulas nutricionales para infantes de la presente invención comprenden preferiblemente nutrientes de acuerdo con los lineamientos relevantes de las fórmulas infantiles dirigidos para el consumidor o población usuaria, un ejemplo seria el acta de la Fórmula Infantil, 21 U.S.C Sección 350(a).

Las concentraciones de proteína, lípidos, y carbohidratos preferidos para uso en las fórmulas se encuentran enunciados en la siguiente tabla.

Tabla 1: Rango de macro nutrientes

Nutriente	Rango ¹	g/100 kcal	g/100 g de polvo	g/litro como base
Carbohidrato	Preferido	8 - 16	30 - 90	54 - 108
	Más preferido	9 - 13	45 - 60	61 - 88
Lípido	Preferido	3 - 8	15 - 35	20 - 54
	Más preferido	4 - 6.6	25 - 25	27 - 45
Proteína	Preferido	1 - 3.5	8 - 17	7 - 24
	Más preferido	1.5 - 3.4	10 - 17	10 - 23

1. todos los términos numéricos son preferiblemente modificados por el término “aproximadamente”

Las fórmulas infantiles pueden incluir también por 100 kcal de fórmula uno o más de los siguientes:

Vitamina A (de alrededor de 250 a aproximadamente 750 IU), Vitamina D (de alrededor de 40 a aproximadamente 100 IU), Vitamina k (mayor que 4 µm aproximadamente), vitamina E (por lo menos 0.3 IU aproximadamente), vitamina C (por lo menos 8 mg aproximadamente), tiamina (por lo menos 8 µg aproximadamente), vitamina B12 (por lo menos 0.15 µg aproximadamente), niacina (por lo menos 250 µg aproximadamente), ácido fólico (por lo menos 4 µg aproximadamente), ácido pantoténico (por lo menos 300 µg aproximadamente), biotina (por lo menos 1.5 µg aproximadamente), colina (por lo menos 7 mg aproximadamente) e inositol (por lo menos 2 mg aproximadamente).

Las fórmulas infantiles pueden incluir también por 100 kcal de fórmula uno o más de los siguientes:

Calcio (por lo menos 50 mg aproximadamente), fósforo (por lo menos 25 mg aproximadamente), magnesio (por lo menos 6 mg aproximadamente), hierro (por lo menos 0.15 mg aproximadamente), yodo (por lo menos 5 µg aproximadamente), zinc (por lo menos 0.5 mg aproximadamente), cobre (por lo menos 60 µg aproximadamente), manganeso (por lo menos 5 µg aproximadamente), sodio (de alrededor de 20 a aproximadamente 60 mg), potasio (de alrededor de 80 a aproximadamente 200 mg), cloro (de alrededor de 55 a aproximadamente 150 mg), y selenio (por lo menos 0.5 mcg aproximadamente),

Las fórmulas infantiles pueden contener además fructopolisacaridos, concentrados los cuales pueden variar hasta aproximadamente el 5% en peso de la fórmula, en una base alimentaria, que incluye alrededor de 0.05% a aproximadamente 3%, que

incluye también alrededor de 0.1% a aproximadamente 2%. Estos fructopolisacaridos pueden ser de cadena larga (por ejemplo, insulina), cadena corta (FOS o fructooligosacaridos), o combinaciones de los mismos, con mezclas que comprenden variedad de estructural de longitud de cadena, la mayoría de los cuales tienen un GP (grado de polimerización) de alrededor de 2 a aproximadamente 60.

Las fórmulas infantiles de la presente invención pueden comprender además ácidos grasos poliinsaturados tales como el ácido docosahexanoico, ácido araquidónico, o combinaciones de los mismos. Cualquier fuente de ácidos grasos de cadena larga es adecuada para usar aquí, siempre que tal fuente sea segura y efectiva para uso en infantes, y sea compatible con los otros ingredientes seleccionados en la fórmula infantil. Las concentraciones de ácido araquidónico en las fórmulas infantiles de la presente invención pueden variar hasta un 2%, más preferiblemente de alrededor de 0.1% a aproximadamente 1.0%, preferiblemente aún más de alrededor de 0.15 a aproximadamente 0.7%, incluyendo alrededor de 0.2% a aproximadamente 0.45%, incluyendo también de alrededor de 0.38% a aproximadamente 0.43% en peso de los ácidos grasos totales en la fórmula. Las concentraciones de ácido docosahexanoico en las fórmulas infantiles de la presente invención pueden variar hasta aproximadamente un 1%, que incluye de alrededor de 0.09% a aproximadamente un 1%, incluyendo también alrededor de 0.1% a aproximadamente 0.36% en peso de los ácidos grasos totales en la fórmula. No limitando ejemplos de algunas fuentes adecuadas de ácido araquidónico y/o ácido docosahexanoico que incluye aceite marino, aceite de derivados de huevo, aceite de hongos, aceite de algas, otros aceites de células individuales y combinaciones de los mismos.

Las fórmulas infantiles pueden comprender además otros ingredientes opcionales las características físicas, químicas, estéticas, o de procesamiento de las composiciones o servir como componentes nutricionales adicionales o farmacéuticos dirigidos a los infantes o la población infantil. Muchos de aquellos ingredientes opcionales son conocidos u otros son adecuados para el uso en producto nutricionales y pueden ser usados también en las fórmulas infantiles de la presente invención, siempre que tales materiales opcionales sean compatibles con los materiales esenciales aquí descritos y sean adecuados para el uso en una fórmula infantil.

No limitando ejemplos de tales ingredientes opcionales que incluyen tales anti-oxidantes adicionales, agentes emulsificantes, amortiguadores (buffers), colorantes, sabores, nucleótidos y nucleósidos, probióticos, prebióticos, y derivados relacionados, agentes espesantes y estabilizantes y así sucesivamente.

Método de uso

La presente invención también está dirigida a un método de reducción del riesgo de diarrea en un infante, que incluye la reducción de tal riesgo por la reducción en la duración de la diarrea en un infante propenso al desarrollo de o causado por la diarrea, mediante la preparación y posterior administración o instruir al encargado para administrar las fórmulas infantiles a un infante como una única fuente, fuente primaria, o fuente complementaria de nutrición. Se favorece una única fuente de nutrición.

La presente invención esta dirigida también a un método de producción de un perfil de microflora intestinal similar al que es encontrado en infantes alimentados con pecho, por medio de la preparación de las fórmulas infantiles aquí descritas y posterior administración o instrucción al cuidador o para administrar la fórmula a un infante como una única fuente, fuente primaria, o fuente complementaria de nutrición. Se favorece una única fuente de nutrición.

La presente invención se dirige también a un método para proporcionar nutrición a un infante por medio de la preparación de las fórmulas infantiles aquí descritas y posterior administración o instrucción al cuidador o para administrar la fórmula a un infante como una única fuente, fuente primaria, o fuente complementaria de nutrición. Se favorece una única fuente de nutrición.

En el contexto de los métodos de la presente invención, las fórmulas infantiles pueden proporcionar a los infantes con única, primaria o nutrición suplementaria. Para realizaciones en polvo, cada método puede incluir también los pasos de reconstrucción del polvo con un vehiculo acuoso más típicamente agua o leche humana, para formar la densidad calórica deseada, la cual es administrada por vía oral a los infantes para proporcionar la nutrición deseada. El polvo es reconstituido con una cantidad de agua, u otro fluido adecuado como la leche humana, para producir un volumen y perfil nutricional adecuado para una alimentación.

Las fórmulas infantiles de la presente invención tendrán mas típicamente una densidad calórica de alrededor de 19 a aproximadamente 24 kcal/oz, más típicamente de alrededor de 20 a aproximadamente 21 kcal/oz, en una base alimentaria.

Método Analítico de Gangliósidos

Las concentraciones de Gangliósidos para usarse aquí son determinadas de acuerdo al siguiente método analítico.

Los lípidos totales son extraídos de Lacprodan MFGM-10 o muestras de fórmulas infantiles, con una mezcla de cloroformo:metanol:agua. Los gangliósidos son purificados del extracto de lípido total por medio de una combinación de diisopropil éter (DIPE)/1-butanol/partición de la fase acuosa y extracción de la fase sólida a través de un cartucho C-18. Los lípidos ligados de ácido siálico (LBSA, por su abreviación en inglés) en los gangliósidos purificados se miden espectrofotométricamente por medio de la reacción con resorcinol. La cantidad de gangliósidos en las muestras se obtiene al multiplicar el LBSA por un factor de conversión. Éste factor se obtiene de la proporción del peso molecular de los gangliósidos y las unidades de ácido siálico.

Debido a que los gangliósidos son una familia de compuestos con diferentes pesos moleculares y número de residuos de ácido siálico, se utiliza la separación por medio de CLAE para medir la distribución de gangliósidos individuales con el fin de calcular con mas precisión éste factor de conversión.

Estándares

- Disialogangliosido GD1, de cerebro de bovino, min. 95% (CCD) SIGMA. Ref. G-2392
- Monosialogangliosido GM1, de cerebro de bovino, min. 95% (CCD) SIGMA. Ref. G-7641
- Sal de amonio de Disialogangliosido GD3, de mantequilla de bovino, min. 98% (CCD) Calbiochem, Ref. 345752 o Matreya, ref. 1503
- Sal de amonio de Monosialogangliosido GM3, de leche de bovino, min. 98% (CCD) Calbiochem, Ref. 345733 o Matreya, ref. 1504

- Ácido N-acetilneuramínico, (ácido siálico, NANA) de Escherichia coli, min. 98% SIGMA, ref. A-2388.

Los estándares de gangliósidos no son considerados como verdaderos estándares desde que los proveedores típicamente no garantizan sus concentraciones. Por ésta razón, las concentraciones son estimadas como medidas del LBSA por medio del procedimiento con el resorcinol. Los estándares son diluidos con cloroformo:metanol (C.M) 1:1 (v/v) a una concentración teórica de 1-2.5 mg/ml dependiendo del tipo de gangliósido. Son tomadas alícuotas de 10, 20 y 40 µl., llevadas a sequedad bajo corriente de N₂ y medidas como se explica a continuación (Medida del LBSA). Una concentración promedio de las tres alícuotas es considerada como la concentración del estándar de gangliósido expresado como LBSA.

La concentración de gangliósido se obtiene al multiplicar el LBSA por un factor de conversión obtenido de la relación del peso molecular

$$\left(\text{Factor Conversión: } \frac{PM \text{ Gangliósido}}{n \times PM \text{ Ácido Siálico}} \text{ donde } n = \text{número de unidades de ácido siálico} \right)$$

Reactivos

- Cloroformo, grado HPLC (CLAE), Prolabo.
- Metanol, grado HPLC (CLAE), Merck.
- Diisopropil éter, grado HPLC (CLAE), Prolabo.
- Acetato de Butilo, PA, Merck.
- 1-Butanol, PA, Merck.
- Fosfato dibásico de Sodio, PA, Panreac.
- Ácido clorhídrico 35%, PA, Panreac.
- Sulfato de Cobre, PA, Panreac.
- Resorcinol, 99%, Merck
- Cloruro de Sodio, PA, Panreac.

Equipo

- Balanza analítica, con una precisión de 0.1 mg.
- Viales para CLAE,

- Micro jeringas Hamilton (50, 100, 250, 500, 1000 μ l)
- CLAE: Alliance 2690 de Waters.
- CLAE con detector UV, número de referencia 2487, Waters.
- Integrador CLAE: Waters Millennium 32.
- Solvac Filter Holder (polipropileno), ref. N° 4020.
- Filtros de membrana Durapore de 0.45 μ m, ref. N° VLP04700
- Multi-reax Vortex (Heidolph)
- Pipetas digitales (2-20, 5-50, 40-200, 200-1000 μ l)
- Tubos de vidrio para centrifugar de fondo redondo de 10ml.
- Tubos de vidrio para centrifugar de fondo redondo de 50ml.
- Tubos de vidrio para centrifugar de fondo cónico de 40ml.
- Cartuchos C-18 de 500 mg (5 ml, ref. 52602-U, Supelco)
- Evaporador REacti-Vap III modelo port-27 (Pierce)
- Centrifuga
- Baño ultrasónico
- Colectores de vacío- EFS modelo port-24
- Bomba de vacío Diphragm
- Triple-Block Reacti-Therm III (Pierce)
- Bomba de vacío- agua
- Pipeta de vidrio Pasteur
- Dispensador de solvente orgánico (2.5-25 ml)
- Vortex (Heidolph)
- Baño de agua de 40 – 100 °C.
- Pipetas de vidrio (5, 10, 25 ml)
- Espectrofotómetro (ThermoSpectronic UV500).

Procedimiento

Extracción lipídica: Los extracto lipídicos son preparados así: Muestras de 1 g de la fórmula o 100 mg de Lacprodan MFGM-10 son pesadas dentro de un tubo de vidrio para centrifugar de fondo redondo (tubos de 50 ml para la fórmula y tubos de 10 ml para el Lacprodan MFGM-10). Son adicionados 25 ml de cloroformo:metanol:agua (C:M:A) 50:50:10 (v/v) por gramo de muestra, estando las muestras completamente dispersadas por medio de agitación y sonicación por un minuto. Los tubos son incubados por 45 min a temperatura ambiente con agitación vigorosa y continua (2000 rpm) con pulsos de baño de sonicación cada 15 min. Las muestras son

centrifugadas (1500 x g, 10 min, 15 °C). Los sobrenadantes son transferidos a tubos centrifugos de vidrio de base cónica de 40 ml llevándolos a sequedad bajo N₂ a 37°C. Mientras tanto, los pellets son extraídos de nuevo con 12.5 ml de C:M:A por gramo por 15 min a temperatura ambiente con agitación continua (200 rpm) y con pulsos de baño de sonicación de 1 min cada 7.5 min. Después de centrifugar, los sobrenadantes son combinados con los primeros en los tubos de 40 ml y la evaporación continua. Los pellets son lavados con C:M 1:1 (v/v) e incubados 10 min en las mismas condiciones que los anteriores, con pulsos de sonicación cada 15 min. Después de centrifugar, los sobrenadantes también son adicionados a los tubos de 40 ml y evaporados.

La fracción de gangliósidos es purificada a partir del extracto de lipido total por una combinación de diisopropil éter (DIPE)/1-Butanol/partición de la fase acuosa descrita por Ladisch S. y Gillard B. (1985) *Un método para la partición de solvente para la purificación de gangliósidos a micro-escala*, Anal. Biochem, 146:220-231. Esto es seguido por una extracción en fase sólida a través de cartuchos C-18 como los descritos por Williams M. y McCluer R. (1980), El uso de cartuchos Sep-PakTM C-18 durante el aislamiento de gangliósidos, J. Neurochem, 35:266-269 con modificaciones.

Diisopropil éter/1-Butanol/Partición acuosa con NaCl: 4 ml de DIPE/1-Butanol 60:40 (v/v) son adicionados al extracto lipídico seco. Las muestras son agitadas y sonicadas para lograr una suspensión fina del extracto lipídico. Son adicionados 2 ml al 0.1% de solución acuosa de NaCl, y los tubos son agitados alternativamente y sonicados por pulsos de 15 segundos durante 2 min, y centrifugados luego (1500 x g, 10 min, 15 °C). La fase orgánica superior (contiene los lípidos neutrales y los fosfolípidos) y se remueven cuidadosamente usando una pipeta Pasteur teniendo cuidado de no remover la interfase.

La fase acuosa inferior contiene los gangliósidos y se extrae dos veces con el volumen original del solvente orgánico fresco. Las muestras son evaporadas parcialmente bajo corriente de N₂ a 37°C durante 30-45 min hasta que el volumen (cerca de los 2 ml) es reducido a aproximadamente la mitad del volumen original.

Extracción en fase sólida (EFS) a través de un cartucho C-18 de fase reversa: 500 mg de cartuchos C-18 están equipados con 24 puertos de lineales del colector de vacío EFS y activados con tres lavados consecutivos de 5 ml de metanol, 5 ml de C:M 2:1 (v/v) y 2.5 ml de metanol. Luego, los cartuchos son equilibrados con 2.5 ml

de 0.1% de solución acuosa de NaCl:metanol 60:40 (v/v). Son medidos los volúmenes de las fases inferiores evaporadas parcialmente, llevándolos hasta 1.2 ml con agua, y adición de 0.8 ml de metanol. A continuación, los cartuchos son centrifugados (1500 x g, 10 min) para remover cualquier material insoluble y cargándolos dos veces en el cartucho C-18. Los cartuchos de EFS se finalizan con 10 ml de agua destilada para remover sales y contaminantes solubles en agua y posterior secado al vacío por 30 segundos. Los gangliósidos son eluidos con 5 ml de metanol y 5 ml de C:M 2:1 (v/v), secados bajo corriente de N₂ y redissueltos en 2 ml de C:M 1:1 (v/v). Las muestras y los solventes son pasados a través de cartuchos por gravedad o por fuerza de vacío con una relación de flujo de 1-1.5 ml/min. Los gangliósidos son almacenados a -30°C hasta el análisis. Los gangliósidos totales son medidos como LBSA. Una alícuota de 500 µl es puesta en tubo centrífugo de vidrio de 10 ml, secado bajo N₂ y medido por medio del ensayo del resorcinol (3).

Medición del LBSA: Se añade 1 ml de reactivo de resorcinol y 1 ml de agua. Los tubos son ahuecados y calentados por 15 min a 100 °C en un baño de agua en ebullición. Después del calentamiento los tubos son enfriados en un baño de agua-hielo, se añaden 2 ml de acetato de butilo:butanol 85:15 (v/v), los tubos son sacudidos vigorosamente por un minuto y luego son centrifugados a 750 x g por 1 min. Son tomadas las fases superiores y medidas a 580 nm en un espectrofotómetro, las soluciones estándar de NANA (0, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 µg/ml) son tratadas de la misma forma y usadas para calcular la concentración de ácido siálico en las muestras.

El reactivo de resorcinol es preparado así: 10 ml de resorcinol al 2% en agua demonizada, 0.25 ml de sulfato de cobre 0.1 M, 80 ml de ácido clorhídrico concentrado, completando a volumen de 100 ml con agua. El reactivo se prepara diariamente protegido de la luz.

Separación de los gangliósidos por medio de CLAE (HPLC): Los gangliósidos son separados por medio de CLAE en un equipo Alliance 2690 con Detector de Absorbancia Dual, de Waters utilizando una columna Luna-NH₂, 5 µm, 100 Å, 250 x 46 mm de Phenomenex, ref. 00G-4378-EO. Son eluidos a temperatura ambiente con el siguiente sistema de solventes: acetonitrilo-buffer de fosfato en fracciones de volúmenes diferentes y fuerzas iónicas de acuerdo con el método de Gazzotti G., Sonnion S., Ghidonia R. (1985), *Separación de mezclas de gangliósidos no-*

derivatizados por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia en fase normal. J. Chromatogr. 348:371-378.

Se utiliza un gradiente con dos fases móviles:

- Solvente A: Acetonitrilo – 5 mM buffer de fosfato, pH 5.6 (83:17). Se prepara éste buffer con 0.6899 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 1L de agua, el pH es ajustado en 5.6.
- Solvente B: Acetonitrilo – 20 mM Buffer de Fosfato, pH 5.6 (1:1). Se prepara éste buffer con 2.7560 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 1L de agua, el pH es ajustado en 5.6.

Se usa el siguiente programa de gradiente de elusión:

Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	% A	% B
0	1	100	0
7	1	100	0
60	1	66	34
61	1	0	100
71	1	0	100
72	1	100	0
85	1	100	0

Las muestras son extraídas en fase-líquida, particionadas y extraídas en fase-sólida como se explicó anteriormente. Una alícuota de 0.5 ml de la muestra de 2 ml en en C:M 1:1 se evapora bajo nitrógeno y es redisuelta en 0.150 ml de agua. Para la perfecta reconstitución, la muestra es agitada y sonicada. La solución final es transferida a un vial de CLAE (HPLC). El volumen inyectado es de 30 µl para muestras y estándares.

Los estándares GD3 y GM3 son medidos por el procedimiento del resorcinol y las verdaderas concentraciones son calculadas como se xplico anteriormente. Son preparadas en agua cuatro soluciones estándar que contienen GD3 y GM3 y un blanco. Las concentraciones de los estándares de calibración van de aproximadamente 0-0.5 mg/ml para GD3 y de 0-0.2 mg/ml para GM3. Las concentraciones exactas de cada grupo de estándares pueden variar dependiendo de la pureza de los estándares.

Se inyecta un grupo de estándares cada vez que el sistema esta puesto en marcha, por ejemplo, para una nueva columna. Se comprueba la correcta ejecución del sistema por la inyección de un estándar de concentración intermedia cada 10 corridas. Si la concentración interpolada no esta entre 95% - 105% de la concentración teórica, se inyecta un nuevo grupo de calibración y se utiliza para los cálculos posteriores.

Método Analítico para la Lactoferrina Nativa

Las concentraciones de Lactoferrina Nativa para ser usadas aquí son determinadas de acuerdo con el método para CLAE aquí descrito (Cromatografía de exclusión de tamaño). Los parámetros de prueba son, por ejemplo, los siguientes:

- Columnas (2 en serie): Shodex KW-804 (Waters #36613) y Shodex KW-803 (Waters # 35946)
- Fase móvil: 525 mL de H₂O Milli-Q Plus, 475 mL de acetonitrilo, 0.5 mL de ácido trifluoroacético.
- Relacion de Flujo: 0.2 ml/minuto.
- Temperatura: 40 °C.
- Detector: UV a 205 nm, 214 nm, 280 nm.
- Inyección: 2.0 µL
- Tiempo de corrida: 150 minutos.
- Rango del estándar LF: 20 – 80 mg/L
- Prep de la muestra WPC: ~1.0 mg/mL en fase móvil.

Método de Fabricación

Las fórmulas infantiles de la presente invención pueden ser preparadas por medio de cualquier u otra técnica efectiva conocida, adecuada para hacer y formular infantes u otras fórmulas similares. Tales técnicas y variaciones de las mismas para cualquier fórmula dada son determinadas y aplicadas fácilmente por una persona versada en el arte de fabricación o formulación nutricional infantil, durante la preparación de las fórmulas descritas en la presente invención.

Los métodos de fabricación de fórmulas infantiles de la presente invención pueden incluir la formación de una papilla desde una o mas soluciones las cuales pueden

contener agua y uno o mas de los siguientes: Carbohidratos, proteínas, lípidos, estabilizantes, vitaminas y minerales. Esta papilla es emulsificada, homogenizada y enfriada. Pueden ser adicionadas otras soluciones, mezclas u otros materiales antes de la emulsión resultante, durante o después de su procesamiento. Esta emulsión puede ser diluida, esterilizada y empacada en forma de líquidos listos para consumir (ready-to-feed) o concentrados líquidos, o puede ser esterilizada y subsecuentemente procesada y empacada como un polvo reconstituible (por ejemplo atomización en seco, mezcla seca, aglomerado).

Son descritos otros métodos adecuados para hacer fórmulas infantiles, por ejemplo, en la Patente U.S. 6,365,218 (Borschel) y la solicitud de Patente U.S. 20030118703 A1 (Nguyen, y colaboradores), tales descripciones son incorporadas aquí como referencia.

EXPERIMENTO I

El objetivo de éste experimento es evaluar los efectos de las fórmulas infantiles de la presente invención sobre la microflora intestinal, y comparar aquellos efectos con los producidos por la leche humana.

Esto se logra por la medición de las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta que provienen de la leche humana y de las fórmulas infantiles utilizando un sistema modelo validado del intestino largo.

Es bien conocido que el perfil de microflora intestinal de lactantes alimentados con pecho es diferente del producido por infantes alimentados con fórmula. Y desde que la microflora intestinal es responsable de afectar la producción de ácidos grasos de cadena corta en el intestino, la diferencia entre el perfil de microflora intestinal de infantes alimentados con pecho y el de infantes alimentados con fórmula puede ser evaluado por medio de las mediciones de sus concentraciones respectivas de ácidos grasos de cadena corta en el colon. Infantes alimentados con pecho típicamente producen mas altas cantidades de acetato y bajas cantidades de propianato y butirato en comparación con los infantes alimentados con fórmula.

Se utiliza un sistema modelo del intestino largo para conducir las evaluaciones (Sistema TIM-2, Calidad de Vida TNO, Zeist, Los países Bajos.). en este sistema en particular, la microflora colónica de un infante alimentado con pecho se

introduce a una fórmula infantil de prueba y se anotan los cambios que ocurren en los perfiles de ácidos grasos de cadena pequeña.

Cada fórmula infantil para ser evaluada es predigerida de modo que su adición al sistema TIM-2 es representativa de las características químicas de una fórmula infantil que pasa por el intestino delgado después de pasar a través del estomago y el intestino delgado del infante. El sistema TIM-2 contiene microbiota cultivada representativa de muestras fecales de infantes exclusivamente alimentados con pecho, típicamente infantes de 2 – 4 meses de edad.

Como la microflora de la lactancia materna es alimento predigerido de fórmula infantil, en curso de 72 h periodo de fermentación, los productos finales de la fermentación (ácidos grasos de cadena pequeña) cambia como se refleja por medio de cambios en las proporciones relativas de ácidos grasos de cadena corta definidos (acetato, propionato, butirato). El perfil SCFA a las 72 horas de cada fórmula de prueba es comparada con la de un perfil conocido SCFA de leche humana (Figura 5) y con la de una fórmula infantil convencional (figura 6).

Éste experimento evalúa y compara el perfil SCFA de las siguientes fórmulas infantiles: (Fórmulas 1-4):

Tabla 2

	Fórmula 1 Fórmula infantil comercial	Fórmula 2 Fórmula infantil comercial	Fórmula 3 Fórmula infantil comercial	Fórmula 4 Fórmula infantil Ejemplo 1
Gangliósidos mg/L	32-48	32-48	32-48	14
Ácido Siálico mg/L	115-150	115-150	115-150	10
Lactoferrina mg/L	2.6	2.6	2.6	100
Fosfolípidos mg/L	118	118	118	450
FOS- cadena	0.5	2.0	-	-

corta mg/L				
FOS- cadena larga y corta mg/L	-	-	2.0	-
Perfil de ácido graso de cadena pequeña a las 72 horas en presencia de flora de lactancia materna				
n-butirato	10%	10%	10%	15%
Propionato	28%	8%	9%	7%
Acetato	62%	82%	81%	78%
Resumen de resultado	Figura 1	Figura 2	Figura 3	Figura 4

Un resumen de los perfiles SCFA después de 72 horas de cada una de las fórmulas se muestra en las Figuras 1-4, respectivamente. Para efectos de comparación, un perfil típico SCFA en el colon de un infante alimentado con pecho de 2 – 4 meses de edad se muestra en la figura 5 (Gibson, G.R. y M.B. Roberfroid, 1995, *Modulación dietaria de la microbiota colónica humana: introduciendo el concepto de prebióticos*, Journal of Nutrition, 125; 1401-1412) mientras que el perfil típico SCFA después de 72 horas cuando una fórmula infantil basada en leche predigerida (fórmula infantil convencional) es introducida como única fuente de nutrición, se muestra en la Figura 6 (Know, J., Scholtens, P., Kafka, C., Steenbakkens. J., Gross, S., Helm, K., Klarczyk, M., Schopfer H., Bockler H.-M., y Wells, J., 2004, microflora de colon en una fórmula de alimentación de infantes con galacto- y fructo-oligosacaridos: Journal Pediatric Gastroenterology, 40(1): 36-42.

A partir de los resultados resumidos anteriormente, puede verse que la fórmula infantil de la presente invención (Fórmula 4) resulta en un perfil de actividad metabólica, como se refleja por medio de las concentraciones relativas SCFA de n-butirato, propionato y acetato, similar al de infantes alimentados con pecho (Figura 5), y significativamente diferentes de los perfiles asociados con una fórmula infantil convencional (Figura 6). Este perfil de actividad metabólica como el de los infantes alimentados con pecho ayudará a producir un medio intestinal que puede inhibir el crecimiento de patógenos potenciales, como *C. difficile* y además prevenir la probabilidad de enfermedades diarreicas infecciosas (Marleen H.M.C van Nuenen P. Diederick Meyer, y Koen Venema, 2003. Los efectos de diversas *inulins* y *Clostridium difficile* sobre la actividad metabólica de la microbiota colónica humana in vitro, Microbial Ecology in Health Disease, 15: 137-144).

Cabe señalar que cada una de las Fórmulas 1 – 4 contenía FOS, un ingrediente bien conocido por su efecto probiótico sobre el perfil de microflora en el intestino. Las fórmulas 2 y 3 contenían 2 g/L de FOS y produjo predeciblemente un perfil SCFA similar al de la leche humana, mientras que una formulación idéntica con únicamente 0.5 g/L de FOS (Fórmula 1) dio como resultado un perfil SCFA similar al de una fórmula infantil convencional. De modo interesante, la Fórmula 4 produjo un perfil SCFA similar al de la leche humana aunque éste contiene únicamente 0.8 g/L de FOS. Se cree que la concentración seleccionada y la combinación de lactoferrina, ácido siálico, fosfolípidos, y gangliósidos de la Fórmula 4 es la responsable del perfil SCFA similar al de la leche humana.

EXPERIMENTO II

El objetivo de éste estudio es comparar los beneficios en cerdos recién nacidos ya sea en una fórmula control o una de las dos realizaciones de fórmulas diferentes de la presente invención con concentraciones enriquecidas de gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina y ácido siálico.

Antecedente

Un cerdo recién nacido constituye un modelo apropiado para evaluar la previa intervención nutricional al diseño e implementación de pruebas clínicas en humanos. Su idoneidad reside en las similitudes de la fisiología gastrointestinal del lechón al de el neonato humano. El modelo es una herramienta útil para predecir la tolerancia de fórmulas infantiles (Millar, E.R., Ullrey, *El cerdo como modelos para la nutrición humana*, Annu Rev. Nutr. 1987; 7; 361-82). El presente estudio se diseñó para proveer una valoración biológica de los efectos de dos realizaciones de la presente invención.

Se observan importantes en el área de reducción de riesgo de diarrea, es decir, duración reducida de la diarrea.

Diseño Experimental

El estudio es longitudinal e incluye 3 grupos de lechones alimentados con dietas experimentales, A, B o C (ver tabla 3) con tres tiempos de sacrificio después de 8-9, 15-16 y 29-30 días de alimentados.

Un grupo adicional, se sacrifico en el inicio del estudio, se utilizó como referencia. El estudio es dividido en dos experimentos. Los lechones son proporcionados por una granja certificada.

En el primero de los dos experimentos, 33 lechones domésticos machos (4-5 días de edad) son alojados en jaulas de alambre de acero inoxidable (2 animales por jaula) en condiciones de temperatura de 27-30 °C. Los animales son alimentados 4 veces al día con una dieta de cerdo adaptada, de acuerdo a sus requerimientos nutricionales. Después de un periodo de adaptación de tres días, tres lechones son sacrificados. El tiempo en el cual estos animales son sacrificados se considera como Tiempo Cero en el estudio. El resto de los lechones es emparejado por peso y camada, y son divididos en tres grupos (n=10, n=10, y n=10, respectivamente) que son alimentados también 4 veces al día con las siguientes dietas:

- Dieta A: Similar a la fórmula Infantil Similac® Advance® disponible de laboratorios Abbott, Columbus, Ohio, USA. Con concentrados proteínicos de suero convencionales.
- Dieta B y C: Realización de la fórmula infantil de la presente invención con concentrado proteínico de suero enriquecido en un nivel de 7.1 g/L de fórmula como base alimentaria.

Las dietas A, B y C son adaptadas en términos de micronutrientes (minerales y vitaminas) a los requerimientos especiales de los lechones neonatos. La siguiente tabla muestra la composición de las dietas A, B, C y una dieta de cerdo estándar.

Tabla 3: Dietas experimentales

	Dieta de cerdo estándar por 100 g	Dieta de cerdo estándar por 100 ml	Dietas A, B C por 100 g	Dietas A, B C por 100 gml
Proteína	25.5	4.79	10.9	1.40
Grasa	36.3	6.82	28.9	3.71
Carbohidratos	31	5.83	53	6.81
Ceniza	5.2	0.98	5.2	0.67

Humedad	2	0.38	2	0.26
Minerales				
Na (mg)	201.9	37.96	201.9	25.94
K (mg)	800	150.40	800	102.80
Cl (mg)	300	56.40	300	38.55
Fe (mg)	32.7	6.15	32.7	4.20
Zn (mg)	13	2.44	13	1.67
Cu (mg)	0.8	0.15	0.8	0.10
Mg (mg)	61.4	11.54	61.4	7.79
Mn (mg)	0.5	0.09	0.5	0.06
Ca (mg)	1069	200.97	1069	137.37
P (mg)	792	148.90	792	101.77
I (µg)	61.7	11.60	61.7	7.93
Se(µg)	20	3.76	20	2.57
Vitaminas				
Vitamina A (IU)	400	75.20	400	51.40
Vitamina D (IU)	53	9.96	53	6.81
Vitamina E (IU)	5	0.94	5	0.64
Vitamina K (µg)	21.5	4.04	21.5	2.76
Tiamina (B1) (mg)	0.2	0.04	0.2	0.03
Riboflavina (B2) (mg)	0.5	0.09	0.5	0.06
Piridoxina (B6) (mg)	0.317	0.06	0.317	0.04
Cianocobalamina (B12) (µg)	3.5	0.66	3.5	0.45
Ácido pantoténico (mg)	2	0.38	2	0.26
Acido folico (µg)	100	18.80	100	12.85
Biotina (µg)	26.5	4.98	26.5	3.41
Niacina (mg)	3	0.56	3	0.39
Vitamina C (mg)	71.25	13.40	71.25	9.16
Colina (mg)	170	31.96	170	21.85
Otros				
Nucleótidos (mg)		-	56.14	7.21

Energía	552.7	103.91	515.7	66.27
---------	-------	--------	-------	-------

Tabla 4

	Dieta A (control)	Dieta B	Dieta C
Proteína	Milacteal-65 ¹	PSNU 2900 ² (7.1 g/L como alimento)	PSNU 2900 ² (7.1 g/L como alimento)
Gangliosido mg/L	3.2-4.8	14	14
Ácido siálico mg/L	115-150	190	190
Acido siálico enlazado a lípidos (% en peso de ácido siálico total)	<0.1%	2.5-3.0	2.5-3.0
Fosfolípido mg/L	118	450	450
Lactoferrina mg/L	2.6	100	100
FOS g/L	0	2	2
Lactoferrina nativa % en peso de lactoferrina	~12	~12	~12
Ácido araquidónico -% en peso de total de ácidos grasos	0.4	0.4	0.2
Ácido Docosaheptaenoico - % en peso de total de ácidos grasos	0.15	0.15	0.1

1. Milacteal-75, concentrado proteínico de suero, Dairy Specialities, Inc. MILEI GMBH, Alemania

2. Lacprodan MFGM10, concentrado proteínico de suero enriquecido, Arla Food Ingredients, Denmark.

Todas las dietas, una vez preparadas, son utilizadas inmediatamente o almacenadas en tarros en atmósfera inerte a 4°C y usadas dentro de 24 horas. Las dietas están en forma de polvo y son reconstituidas con agua 18.8% en peso para la dieta de cerdo adaptada y al 12.85% en peso para las Dietas A, B y C.

Las dietas líquidas reconstituidas son vertidas en los comederos de las jaulas. El líquido remanente es removido y medido y los comederos son limpiados previamente para la subsiguiente alimentación.

Por cada grupo, 3 o 4 lechones son sacrificados a los 8 - 9, 15 - 16 y 29 - 30 días después de iniciada la alimentación con el control (Dieta A) o las fórmulas experimentales (Dietas B y C).

En el segundo experimento, 44 lechones domésticos machos (4 - 5 días de edad) son alojados individualmente en el mismo tipo de jaulas lugar descrito para el primer experimento. El Protocolo de alimentación es el mismo y 4 lechones son sacrificados después del periodo de adaptación para completar el grupo de referencia. El resto de los lechones es emparejado por peso y camada y divididos en tres grupos (n=13, n=13, y n=14, respectivamente) que son alimentados con las dietas A, b y C. Uno o dos lechones más, son incluidos en cada grupo para reemplazar a los retirados.

La ingestión alimenticia y el peso ganado son monitoreados 4 veces al día y dos veces a la semana, respectivamente por cada lechón. La incidencia y la duración de la diarrea son documentadas y evaluadas. La diarrea se define como la consistencia acuosa de la deposición (puntuación de 5) por dos días o más con concomitante de pobre crecimiento. Una vez la diarrea persiste es confirmada, los lechones afectados son tratados con antibióticos siguiendo los protocolos estándar para el lechón neonato.

Resultados

Retirados

Experimento 1: Un lechón del grupo A es muy pequeño al nacer y no compagina con el resto de los cerdos bebés. Un lechón del grupo C muere 10 días después de comenzar. Otro lechón del grupo C es una hembra, como se confirma al final del experimento. Consecuentemente, n para el grupo A a los 29-30 días es 3 en vez de 4, y n del grupo C a la misma edad es 2 en vez de 4.

Experimento 2: Un lechón muere durante el periodo de adaptación. Otro lechón del grupo B muere 6 días después de comenzar. Dos lechones del grupo A y uno del

grupo B son excluidos del estudio debido a que son muy pequeños al momento de nacer y no crecen como el resto de lechones.

Consecuentemente el estudio completo fijado en 7 lechones por cada tiempo y grupo se cumple en todos los grupos excepto para el grupo A a los 29-30 días (n=6)

Peso corporal e Ingesta alimentaria

La evolución del peso corporal y la ingesta alimentaria es muy similar para los tres diferentes grupos dietarios. No hay diferencias en la evolución del peso corporal entre grupos por la duración del experimento. La ingesta dietaria es significativamente alta en el grupo C que en los grupos A y B, únicamente por el intervalo de tiempo entre 16 y 28 días. Para el resto de los tres tiempos no hay diferencias entre los grupos. No hay diferencias entre grupos cuando la ingesta es representada como ingesta dietaria acumulada. Asimismo, La evolución de la eficiencia alimentaria, calculada como gramos de peso corporal /100 kcal de ingesta es similar para los tres grupos. Cuando diferentes intervalos de tiempo son considerados o por el periodo de estudio completo no se encuentran diferencias entre los grupos.

Diarrea

El número de lechones que sufrieron de diarrea durante el estudio es similar para los tres grupos dietarios (no se notaron importantes diferencias). Sin embargo, cuando se analiza la duración de los episodios de diarrea (Figura 7) es posible detectar diferencias importantes entre grupos. La duración de la diarrea es significativamente más baja en el grupo C que en el grupo A y grupo B mostrando una tendencia ($p=0.1512$) de ser más baja que el grupo A por este parámetro. De hecho si la corrección Boferronils no es utilizada para esta última comparación, se encuentra una tendencia más fuerte, con un valor de p de 0.0504.

Conclusiones

La duración de la diarrea es significativamente más baja en el grupo C que en grupo A, y grupo B mostrando una tendencia ($p=0.1512$) de ser más baja que el grupo A por este parámetro. De hecho si la corrección Boferronils no es utilizada

para ésta última comparación, se encuentra una tendencia más fuerte, con un valor de p de 0.0504.

[0125] la reducción de la diarrea parece ser el resultado de usar un concentrado proteínico con niveles enriquecidos de Lactoferrina, fosfolípidos, ácido siálico y gangliósidos (PSNU 2900 WPC para las muestras B y C) al ser comparado con un aislado proteínico de suero convencional (SIMILAC ADVANCE ® Fórmula Infantil, Laboratorios Abbot, Columbus, Ohio – modificado para la muestra A)

EXPERIMENTO III

Este segundo estudio animal es conducido, similar en protocolo al usado en el Experimento II, excepto que éste estudio compara el rendimiento de los beneficios de las siguientes alimentaciones:

- Dieta A: realización de la fórmula infantil de la presente invención con concentrado proteínico de suero enriquecido en un nivel de 6.4 g/L de fórmula sobre una base alimentaria.
- Dieta B: Similac Advance ® Fórmula Infantil, Laboratorios Abbot, Columbus, Ohio, E.U., con concentrado proteínico de suero convencional.
- Dieta C: Enfalac DHA + ARA™ Fórmula Infantil, disponible de Bristol-Myers Squibb (Tailandia), con concentrado proteínico de suero convencional.

Diseño Experimental

El estudio es longitudinal e incluye tres grupos de lechones alimentados con las dietas experimentales A, B o C (Ver tabla 4) con dos tiempos de sacrificio después de 7-8 días y 14 -15 días de alimentados. Un grupo adicional de lechones alimentados con leche de cerdo es incluido en el estudio como una referencia. Los animales en el grupo de leche de cerdo son emparejados por edad para coincidir con el tiempo de sacrificio de los animales alimentados con las dietas experimentales. Los animales del grupo de leche de cerdo son sacrificados al inicio del estudio, después de 14-16 días de edad, y después de 23-24 días de edad.

Dieciséis lechones domésticos (3-4 días de edad) son proporcionados por una granja certificada. Cuarenta y ocho de los lechones son emparejados por peso, camada y sexo, y son divididos en tres grupos (n=16, n=16, y n=16, respectivamente). Cuatro de los lechones remanentes son asignados al azar a los

tres grupos (1 al grupo A, 1 al grupo B, y 2 al grupo C). Los lechones son alojados en jaulas de alambre de acero inoxidable en una habitación acondicionada a 27 °C. Los animales son alimentados cuatro veces al día con una dieta de cerdo adaptada, de acuerdo a sus requerimientos nutricionales por un periodo de tres días. Seguidos los tres días del periodo de adaptación, los lechones son alimentados cuatro veces al día con una de las tres dietas experimentales. El tiempo en el cual los animales son alimentados por primera vez con la dieta experimental se considera Tiempo Cero en el estudio.

Las siguientes tablas muestran la composición de la dieta de cerdo estándar y de las dietas A, B y C.

Tabla 5: Dietas Experimentales

	Dieta de cerdo estándar por 100 g	Dieta de cerdo estándar por 100 ml	Dietas A y B por 100 g	Dietas A y B por 100 ml	Dietas C por 100 g	Dietas C por 100 ml
Proteína	25.5	4.79	10.9	1.40	12	1.5
Grasa	36.3	6.82	28.9	3.71	30	3.9
Carbohidratos	31	5.83	53	7.1	52	6.7
Ceniza	5.2	0.98	2.9	0.37	3.5	0.45
Minerales						
Na (mg)	201.9	37.96	126	16	147	19
K (mg)	800	150.40	552	71	620	80
Cl (mg)	300	56.40	342	44	390	50
Fe (mg)	32.7	6.15	9.5	1	9.4	1
Zn (mg)	13	2.44	3.94	1	5.8	1
Cu (mg)	0.8	0.15	0.473	0.061	.370	.048
Mg (mg)	61.4	11.54	32	4	47	6
Mn (mg)	0.5	0.09	0.05	0.006	.076	.01
Ca (mg)	1069	200.97	410	53	390	50
P (mg)	792	148.90	221	28	260	33
I (mcg)	61.7	11.60	32	4	79	10
Se(mcg)	20	3.76	12	2	17.3	2

Vitaminas						
Vitamina A (IU)	400	75.20	1577	203	470	60
Vitamina D (IU)	53	9.96	315	41	310	40
Vitamina E (IU)	5	0.94	16	2	9.4	1
Vitamina K (mcg)	21.5	4.04	42	5	50	6
Tiamina (B1) (mg)	0.2	0.04	0.53	.07	0.39	.05
Riboflavina (B2) (mg)	0.5	0.09	0.79	0.1	0.85	0.1
Piridoxina (B6) (mg)	0.317	0.06	0.32	0.04	0.35	0.05
Cianocobalamina (B12) (µg)	3.5	0.66	1.31	1.17	2.1	2.27
Ácido pantoténico (mg)	2	0.38	2365	304	3000	386
Acido folico (µg)	100	18.80	79	10	84	11
Biotina (µg)	26.5	4.98	23	3	14.7	2
Niacina (mg)	3	0.56	5.5	1	6.3	1
Vitamina C (mg)	71.25	13.40	47	6	120	15
Otros						
Nucleótidos (mg)	-	-	56	7	17	2
Energía	552.7	103.91	525	68	523	87

Tabla 6

	Dieta A	Dieta B	Dieta C
Proteína PSNU 2900 ¹ , Fórmula Infantil g/L	6.4	0	0
Gangliosido mg/L	17.2	4	4.6
Ácido siálico mg/L	157	139	248
Ácido siálico enlazado a lipido (% en peso de total de ácido sialico)	4.4	1.1	0.6
Fosfolipido mg/L	440	140	850
Lactoferrina nativa % en peso de lactoferrina	~5	~12	~16

Prebiotico g/L	0.8 g/L FOS	0	3.6 (GOS + Inilin)
Ácido araquidónico % en peso de total de ácidos grasos	0.4	0.4	0.65
Ácido Docosahexaenoico - % en peso de total de ácidos grasos	0.2	0.15	0.35

1. Lacprodan MFGM10, concentrado proteínico de suero enriquecido. Arla Food Ingredients. Denmark

Todas las dietas, una vez preparadas, son utilizadas inmediatamente o almacenadas en tarros en atmósfera inerte a 4°C y usadas dentro de 24 horas. Las dietas están en forma de polvo y son reconstituidas con agua al 12.85% en peso para las Dietas A, B y C. Las dietas líquidas reconstituidas son vertidas en los comederos de las jaulas. El líquido remanente es removido y medido y los comederos son limpiados previamente para la subsiguiente alimentación.

Por cada grupo, 8 cerdos bebes son sacrificados a los 7-8, y 14-15 días después de iniciada la alimentación con el control (Dietas B y C) o las fórmulas experimentales (Dietas A).

Resultado

Retirados

Cuatro lechones de cada grupo mueren. Tres de los lechones del grupo A y uno del grupo B mueren durante el periodo de adaptación. Un lechón del grupo B es excluido del estudio porque es muy pequeño al nacer y no compagina con el resto de lechones.

Consecuentemente, a los 7-8 días, n para el grupo A es 7, n para el grupo B es 8, y n para el grupo C es 8. a los 14-16 días, n para el grupo A es 6, n para el grupo B es 4, y n para el grupo C es 6.

Peso corporal e Ingesta alimentaria

La evolución del peso corporal y la ingesta alimentaria es muy similar para los tres diferentes grupos dietarios. No hay diferencias en la evolución del peso corporal

entre grupos por la duración del experimento. No hay diferencias entre grupos cuando la ingesta es representada como ingesta dietaria acumulada. La evolución de la eficiencia alimentaria, calculada como gramos de peso corporal /100 kcal de ingesta, es más alta pero significativamente diferente, en el grupo C que en los grupos A y B, únicamente por el intervalo de tiempo entre 0 y 6 días pero no hay diferencias entre grupos.

Diarrea

El número de lechones que sufrieron de diarrea durante el estudio es similar para los tres grupos dietarios (no se notaron importantes diferencias). No hay tampoco diferencias importantes en la duración de la diarrea entre grupos (Figura 8).

Conclusiones

El Experimento 1 muestra que las fórmulas infantiles que comprenden aislados proteínicos convencionales (Dieta A) no reducen la duración de la diarrea.

El experimento 1 también muestra que las fórmulas infantiles (Dietas B y C) que comprenden niveles enriquecidos de Lactoferrina, fosfolípidos, ácido siálico y gangliósidos, cada uno de los cuales es proporcionado en su totalidad o en parte por el concentrado proteínico de suero enriquecido (PSNU 2900 WPC en 7.1 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria) reduce la duración de la diarrea.

El Experimento 2 muestra que las fórmulas infantiles (Dieta A) que comprenden niveles enriquecidos de lactoferrina, fosfolípido, ácido siálico y gangliósidos, pero bajos niveles de concentrado proteínico de suero enriquecido (PSNU 2900 WPC en 6.4 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria) no reduce la duración de la diarrea.

Los resultados de ambos experimentos por tanto sugieren que las fórmulas infantiles que comprenden niveles enriquecidos de lactoferrina, fosfolípido, ácido siálico y gangliósidos, reducen la duración de la diarrea, siempre que la fórmula incluya un nivel de umbral mínimo de concentrado proteínico de suero enriquecido como el aquí definido.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos representan realizaciones específicas dentro del alcance de la presente invención, cada uno de los cuales es dado únicamente con el propósito de ilustración y no para ser interpretados como ilimitaciones de la presente invención. Todas las cantidades ejemplificadas son porcentajes en peso sobre la base de peso total de la composición, a menos que se especifique de otro modo.

Fórmulas infantiles en polvo

Las siguientes son realizaciones de fórmula en polvo de la presente invención, que incluye métodos de usar la fórmula en infantes. Los ingredientes de cada fórmula se enumeran en la tabla a continuación.

Tabla 5: Ejemplos 1-4

Ingredientes	Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4
	CANTIDADES POR 100 kg DE FÓRMULA			
LACTOSA	428.76 kg	428.76 kg	428.76 kg	525.02 kg
NON FAT DRY MILK LOW HEAT	200.62 kg	197.62 kg	197.62 kg	N/A kg
ACÉITE DE GIRASOL DE OLÉICO ALTO	106.53 kg	106.53 kg	106.53 kg	102.97 kg
ACEITE DE COCO	90.74 kg	91.09 kg	92.87 kg	87.57 kg
ACEITE DE SOYA	86.37 kg	86.37 kg	86.37 kg	83.49 kg
LACPRODAN MFGM-10	51.00 kg	53.96 kg	53.96 kg	154.18 kg
CITRATO DE POTASIO	7.20 kg	7.20 kg	7.20 kg	7.20 kg
OLIGOFRUCTOSA (FRUCTOOLIGOSACARIDO)	7.04 kg	7.04 kg	7.04 kg	7.04 kg
CARBONATO DE CALCIO	4.018 kg	4.02 kg	4.02 kg	9.563 kg
ÁCIDO ÁRAQUIDÓNICO (AA)	2.87 kg	2.87 kg	1.44 kg	2.87 kg
CLORURO DE POTASIO	1.614 kg	1.61 kg	1.61 kg	1.717 kg
ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA)	1.40 kg	1.05 kg	0.70 kg	1.40 kg
CLORURO DE SODIO	1.303 kg	1.30 kg	1.30 kg	3.280 kg
CLORURO DE COLINA	1.04 kg	1.04 kg	1.04 kg	1.04 kg
ÁCIDO ASCÓRBICO	766.88 g	766.88 g	766.88 g	766.88 g
PREMIX VITAMINA 25913	746.460 g	746.46 g	746.46 g	746.460 g
CLORURO DE MAGNESIO	641.63 g	641.63 g	641.63 g	2.18 g
SULFATO FERROSO	511.98 g	511.98 g	511.98 g	508.79 g

TAURINA	373.84 g	373.84 g	373.84 g	373.84 g
PALMITATO DE ASCORBILO	349.22 g	349.22 g	349.22 g	349.22 g
VITAMINA A, D, RRR-E, K PREMIX	345.00 g	345.00 g	345.00 g	345.00 g
M-INOSITOL	254.64 g	254.64 g	254.64 g	254.64 g
5'-MONOFOSFATO DE CITIDINA	243.188 g	243.19 g	243.19 g	243.188 g
5'-MONOF. DE URIDINA DISODICA 25%	192.286 g	192.29 g	192.29 g	192.286 g
5'-MONOFO. DE GUANOSINA DISODICA	175.452 g	175.45 g	175.45 g	175.452 g
TOCOFEROL-2 ANTIOXIDANTE GRADO ALIMENTICIO	166.37 g	166.37 g	166.37 g	166.37 g
SULFATO DE ZINC	165.70 g	165.70 g	165.70 g	206.02 g
5'-MONOFOSFATO DE ADENOSINA	92.043 g	92.04 g	92.04 g	92.04 g
SULFATO DE COBRE ENCAPSULADO	26.136 g	26.14 g	26.14 g	27.691 g
BETA CAROTENO 30%	11.64 g	11.64 g	11.64 g	11.64 g
FOSFATO TRICALCICO	3.000 g	3.00 g	3.00 g	3.000 g
SULFATO DE MANGANESO	1.00 g	1.00 g	1.00 g	1.00 g
SELENATO DE SODIO	232.03 mg	232.03 mg	232.03 mg	232.03mg

Cada uno de los ejemplificados puede ser preparado de una forma similar haciendo por lo menos dos papillas separadas que son entonces mezcladas, tratadas térmicamente, estandarizadas, evaporadas, secadas y empacadas

Inicialmente, en un tanque de mezcla de aceite bajo condiciones de nitrógeno, una papilla de aceite es preparada por combinación de aceite de girasol oleico alto, aceite de coco y de soja, seguido por la adición de palmitato de ascorbilo, beta caroteno, vitamina ADEK y mezcla de tocoferoles. El tanque se agita por 20 minutos y los análisis QA. Seguido de la autorización QA e inmediatamente antes de procesar el aceite de ARA y DHA son adicionados al tanque de mezcla de aceite. La papilla de aceite resultante es puesta bajo agitación moderada a temperatura ambiente (< 30°C) hasta ser mezclado después con la otra papilla preparada.

La papilla leche descremada-aceite se prepara por combinación de la papilla mezclada de aceite a aproximadamente 40% del fluido de la leche descremada a 35-45 °C en un proceso de agitación continua seguido de la adición de un

concentrado proteínico de suero enriquecido. Esta papilla de aceite – proteína se calienta a 65 – 70 °C, dos etapas homogenizadas a 154 – 190/25-45 bares, enfriadas a 3 – 6 °C y almacenadas en el proceso de silo.

La papilla de carbohidratos de leche descremada se prepara al disolver lactosa y polvo de leche descremada en aproximadamente 60% del fluido de la leche descremada a 60 – 75 °C. Esta papilla se tiene bajo agitación en el tanque de solubilización por aproximadamente 2 minutos antes del bombeo a la placa intercambiadora donde se enfría a 3-6 °C y transportado al proceso de silo donde se mezcla con la papilla leche – aceite descremada.

La papilla mineral 1 se prepara por disolución de cloruro de magnesio, cloruro de sodio, cloruro de potasio y citrato de potasio en agua a 40-60 °C y puesta bajo agitación por un mínimo de 5 minutos. La papilla mineral 1 es adicionada al proceso de silo.

La papilla mineral 2 se prepara por disolución de fosfato tricalcico y carbonato de calcio en agua a 40-60 °C y puesta bajo agitación por un mínimo de 5 minutos. La papilla mineral 2 es adicionada al proceso de silo.

La papilla de oligofructosa se prepara por disolución de oligofructosa en agua a 40-60 °C y puesta bajo agitación por un mínimo de 5 minutos. La papilla de oligofructosa es adicionada al proceso de silo.

El lote es agitado en el proceso de silo por un mínimo de 45 minutos antes de tomar una muestra para pruebas analíticas. Basados en los resultados analíticos de las pruebas de control de calidad, se lleva a cabo un proceso de estandarización apropiado.

La papilla de vitamina C se prepara por disolución de citrato de potasio y ácido ascórbico en agua a 40-60 °C y puesta bajo agitación por un mínimo de 5 minutos. La papilla de vitamina C es adicionada al proceso de silo.

La papilla vitaminas solubles en agua–inositol se prepara por disolución de citrato de potasio, premix de vitaminas solubles en agua e inositol en agua a 40-60 °C y puesta bajo agitación por un mínimo de 5 minutos. La papilla vitaminas – inositol soluble en agua es adicionada al proceso de silo.

La papilla de sulfato ferroso se prepara por disolución de citrato de potasio y sulfato ferroso en agua a temperatura ambiente y puesta bajo agitación por un mínimo de 5 minutos.

La papilla nucleótidos-colina se prepara por disolución premix nucleotido - colina en agua a temperatura ambiente y puesta bajo agitación por un mínimo de 5 minutos. La papilla nucleótidos-colina es adicionada al proceso de silo.

El lote final se agita en el proceso de silo por un mínimo de 60 minutos antes de tomar una muestra para ensayos analíticos. Basados en los resultados analíticos de las pruebas de control de calidad, una corrección apropiada de pH y vitamina C puede llevarse a cabo. El lote final es puesto bajo agitación moderada a 3-6°C.

Tras una espera por un periodo no mayor a 7 días, la mezcla resultante es precalentada a 90-96 °C, calentada a 110-130 °C por tres segundos. La mezcla calentada se pasa a través de un refrigerador flash para reducir la temperatura a 93-97 °C y luego a través de un evaporador para alcanzar los sólidos deseados. El producto se calienta luego a 75-78 °C y se bombea a la torre spray-de secado. El producto en polvo resultante es recogido y almacenado en silos de polvo y sometido a pruebas de calidad. El producto terminado es colocado en contenedores apropiados. Se toma muestras para pruebas analíticas y microbiológicas, ambas durante el proceso (in-process) y en las etapas de producto terminado.

Procesos Alternativos

Cada uno de los ejemplificados puede ser preparado de forma similar haciendo al menos dos papillas separadas que son mezcladas luego, tratadas con calentamiento, estandarizadas, secadas, mezcladas en seco y empacadas.

Inicialmente, la papilla mineral-leche descremada se prepara por disolución de aproximadamente 80% de polvo de leche descremada en agua desmineralizada a 60-65 °C, seguida de la adición de citrato de potasio e hidróxido de potasio. El pH de la mezcla resultante se ajusta a 7.7 – 8.7 con hidróxido de potasio o ácido cítrico.

El resto del polvo de leche descremada y cloruro de magnesio se adicionan a la mezcla previamente. El pH de la mezcla resultante se ajusta a 6.7 – 7.2 con hidróxido de potasio o ácido cítrico.

En un tanque separado se prepara una nueva papilla por disolución de cloruro de colina e inositol en agua desmineralizada a temperatura ambiente. La papilla resultante se combina con la papilla mineral – leche descremada y es puesta bajo agitación moderada a 60 – 65 °C por un tiempo no mayor a una hora y es mezclada luego con los ingredientes adicionales.

En un tanque separado se prepara una nueva papilla por disolución de Taurina en agua desmineralizada a 70 °C. La papilla resultante se combina con la papilla mineral – leche descremada y es puesta bajo agitación moderada a 60 – 65 °C por un tiempo no mayor a una hora hasta que es mezclada mas tarde con los ingredientes adicionales.

Un concentrado proteínico de suero enriquecido se adiciona a la papilla mineral – leche descremada seguida por lactosa y oligofructosa. La papilla se agita en el proceso de silo por mínimo 30 minutos antes de tomar una muestra para prueba analítica. El pH de la mezcla resultante se ajusta a 6.7 – 7.1 con hidróxido de potasio o ácido cítrico.

En un tanque de proceso de aceite, bajo condiciones de Nitrógeno, una papilla de aceite se prepara por combinación de aceite de girasol oleico alto, aceite de coco y de soja, seguido por la adición de vitamina ADEK, beta caroteno, mezcla de tocoferoles, palmitato de ascorbilo, aceite de ARA y aceite de DHA. La papilla de aceite resultante es puesta bajo agitación moderada a temperatura ambiente por un tiempo no mayor a seis horas hasta ser mezclado después con la papilla proteína-carbohidrato-mineral.

Tras una espera por un periodo no menor a 30 minutos, ni mayor a 6 horas, con la papilla proteína-carbohidrato-mineral es precalentada a 70-80 °C y calentada a 84 – 86 °C. En éste punto del proceso la papilla de aceite se inyecta sobre una línea a 50 – 80 °C. La mezcla final se enfría a 68 – 72 °C y se emulsifica a través de un homogeneizador de etapa doble a 145 – 155 bares en la primera etapa y a 30 – 40 bares en la segunda etapa. La mezcla calentada se pasa a través de una placa enfriadora para reducir la temperatura a 3-5 °C y se almacena en un proceso silo.

Una solución mineral y una solución de ácido ascórbico se preparan separadamente por adición de los siguientes ingredientes al mezclado procesado. La solución mineral se prepara por la adición de los siguientes ingredientes a suficiente cantidad de agua desmineralizada con agitación: ácido cítrico, sulfato de manganeso, selenato de sodio y sulfato de zinc. La solución de ácido ascórbico se prepara por la adición de ácido ascórbico a suficiente cantidad de agua desmineralizada para disolver los ingredientes. La mezcla procesada es puesta bajo agitación moderada a 3 – 5°C por un tiempo no mayor a 48 horas. Se toman muestras para pruebas analíticas.

La mezcla enfriada se calienta a 69 – 73 °C y se homogeniza a 60 – 70/30-40 bares y se envía a la torre de secado de spray. La base en polvo del producto se recoge y almacena en contenedores de polvo. Se toman muestra para pruebas microbiológicas y analíticas.

Después de que se completan las correspondientes pruebas microbiológicas y analíticas. La base en polvo del producto se libera para el mezclado en seco del resto de los ingredientes. Las cantidades de los ingredientes remanentes requeridos para obtener el producto en polvo final se determinan y entran en el sistema de peso automático. El sistema pesa todos los componentes del premix mezclado seco (Lactosa, carbonato de calcio, cloruro de potasio, cloruro de sodio, premix soluble en agua, nucleótido de citidina 5-monofosfato, nucleótido de adenosina 5-monofosfato, sulfato de cobre y fosfato tribásico de calcio. La base en polvo del producto y la mezcla premix seca es transportada a la licuadora. La mezcla se deja bajo agitación por un periodo no menos a 20 minutos.

Después de que la mezcla se completa, el producto terminado se transporta a la máquina de empaque y se coloca en contenedores apropiados. Se toman muestra para pruebas microbiológicas y analíticas.

Las fórmulas ejemplificadas (Ejemplos 1 -4) no están limitadas a los ejemplos de realizaciones de fórmulas en polvo de la presente invención. Cada fórmula es reconstituida con agua antes de usar una densidad calórica que va desde alrededor de 19 a alrededor de 24 kcal/oz y luego de alimentar a los infantes como única fuente de nutrición durante los primeros nueve meses de vida, incluyendo los primeros 4 meses de vida. Los infantes que usan la fórmula experimentan reducción del riesgo de diarrea y gravedad menor de la enfermedad en la forma de

reducir la duración de la diarrea cuando así se inflinge. Estos infantes también desarrollan una microflora intestinal similar a la de los infantes alimentados con pecho.

Fórmulas Infantiles Líquidas

Los ejemplos 1-4 son modificados por medios convencionales para formar realizaciones de fórmula líquida lista para consumir (ejemplos 5 – 8) de la presente invención. Los ingredientes para los ejemplos 5 -8 corresponden a los ingredientes en los ejemplos 1 – 4, respectivamente.

Las fórmulas ejemplificadas (Ejemplos 5 – 8) no están limitando los ejemplos de realizaciones de fórmulas líquidas de la presente invención. Cada fórmula se ajusta a una densidad calórica que va de alrededor de 19 a alrededor de 24 kcal/oz. La fórmula alimenta a un infante como única fuente de nutrición durante los primeros nueve meses de vida, incluyendo los primeros 4 meses de vida. Los infantes que usan la fórmula experimentan reducción del riesgo de diarrea y gravedad menor de la enfermedad en la forma de reducir la duración de la diarrea cuando así se inflinge. Estos infantes también desarrollan una microflora intestinal similar a la de los infantes alimentados con pecho.

REIVINDICACIONES

LO QUE SE REIVINDICA ES:

1. Fórmula infantil que comprende, sobre una base alimentaria:
 - (A) al menos alrededor de 5 mg/L de gangliósidos
 - (B) al menos alrededor de 150 mg/L de fosfolípidos
 - (C) lactoferrina, y
 - (D) al menos alrededor 70 mg/L de ácido siálico, con al menos alrededor de un 2.5% en peso del ácido siálico como ácido siálico enlazado a lípido;en donde entre alrededor de 50 % a 100 % en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico son proporcionados por un concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa por lo menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.
2. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 en donde el ácido siálico enlazado a lípido representa entre alrededor de 2.7% y alrededor de 5% en peso del total de ácido siálico.
3. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 que comprende sobre una base alimentaria, (A) entre alrededor de 7 mg/L y alrededor de 50 mg/L de gangliósidos, (B) entre alrededor de 200 mg/L y alrededor de 600 mg/L de fosfolípidos, y (C) entre alrededor de 90 mg/L y alrededor de 250 mg/L de ácido siálico.
4. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 que comprende sobre una base alimentaria, entre alrededor de 50 mg/L y alrededor de 2000 mg/L de lactoferrina, con al menos alrededor de 6% en peso de la lactoferrina como lactoferrina nativa.
5. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 en donde los fosfolípidos totales comprenden al menos el 20 % en peso de esfingomielina.
6. Una fórmula infantil según la reivindicación 5 en donde los fosfolípidos comprenden esfingomielina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil colina, fosfatidil inositol, y fosfatidil serina.

7. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 que comprende además entre alrededor de 0.05% y alrededor de 5 % de un fructopolisacárido.
8. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 en donde la fórmula contiene menos de alrededor de 0.5% de glicomacropéptidos libres, sobre una base alimentaria.
9. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 en donde la fórmula infantil es substancialmente libre de fosfolípidos, fosfolípidos de huevo y combinaciones de los mismos.
10. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 en donde la fórmula infantil comprende menos de alrededor del 0.2% en peso de grasa de leche sobre una base alimentaria.
11. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 en donde la fórmula infantil es un polvo.
12. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 en donde la fórmula infantil es un líquido listo para consumir.
13. Una fórmula infantil según la reivindicación 1 que comprende, sobre una base alimentaria, entre alrededor de 6.5 g/L y alrededor de 10.9 g/L de concentrado proteínico de suero enriquecido.
14. Una fórmula infantil según la reivindicación 1, en donde entre alrededor del 60% y alrededor del 90 % en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina y ácido siálico son proporcionados por el concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa al menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.
15. Un método de reducción del riesgo de diarrea en un infante, que comprende
(I) La preparación de una fórmula infantil que comprende, sobre una base alimentaria:
 - A) al menos alrededor de 5 mg/L de gangliósidos
 - (B) al menos alrededor de 150 mg/L de fosfolípidos
 - (C) lactoferrina, y

(D) al menos alrededor 70 mg/L de ácido siálico total, con al menos alrededor de un 2.5% en peso de el ácido siálico como ácido sialico enlazado a lípido;

en donde alrededor de 50 % a 100 % en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico son proporcionados por un concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa por lo menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.

(II) La administración o instrucción a un cuidador para administrar la fórmula a un infante.

16. Un método según la reivindicación 15 en donde la fórmula es administrada como única fuente de nutrición.

17. Un método según la reivindicación 15, en donde la fórmula infantil comprende, sobre una base alimentaria, entre alrededor de 50 mg/L y alrededor de 2000mg/L de lactoferrina, con al menos alrededor de 6% en peso de la lactoferrina como lactoferrina nativa.

18. Un método según la reivindicación 15, en donde el ácido siálico enlazado a lípido representa entre alrededor de 2.7 y alrededor de 5% en peso del ácido siálico total.

19. Un método según la reivindicación 15, en donde la fórmula infantil comprende, sobre una base alimentaria, (A) entre alrededor de 7 mg/L y alrededor de 50 mg/L de gangliósidos, (B) entre alrededor de 200 mg/L y alrededor de 600 mg/L de fosfolípidos, y (C) entre alrededor de 90 mg/L y alrededor de 250 mg/L de ácido siálico.

20. Un método según la reivindicación 15, en donde el total de fosfolípidos comprende al menos 20% en peso de esfingomielina.

21. Un método según la reivindicación 15, en donde la fórmula infantil comprende menos de alrededor de 0.2% en peso de grasa de leche sobre una base alimentaria.

22. Un método según la reivindicación 15, en donde la fórmula comprende menos de 0.5% en peso de glicomacropéptidos libres sobre una base alimentaria.
23. Un método según la reivindicación 15, en donde la fórmula infantil comprende, sobre una base alimentaria, entre alrededor de 6.5% y alrededor de 10.9 g/L de concentrado proteínico de suero enriquecido.
24. Un método según la reivindicación 15, en donde son proporcionados entre alrededor del 60% y alrededor del 90% en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico por el concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa por lo menos alrededor del 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.
25. Un método de producción de un perfil de microflora intestinal similar al presentado por infantes alimentados con pecho, dicho método comprende
- (I) la preparación de una fórmula infantil que comprende, sobre una base alimentaria:
 - A) al menos alrededor de 5 mg/L de gangliósidos
 - (B) al menos alrededor de 150 mg/L de fosfolípidos
 - (C) lactoferrina, y
 - (D) al menos alrededor 70 mg/L de ácido siálico total, con al menos alrededor de un 2.5% en peso de el ácido siálico como ácido siálico enlazado a lípido
- En donde son proporcionados entre alrededor de 50 % a 100 % en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico por un concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa por lo menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.
- (II) la administración o instrucción a un cuidador para administrar la fórmula a un infante.
26. Un método según la reivindicación 25, en donde la fórmula comprende, sobre una base alimentaria, entre alrededor de 50 mg/L y alrededor de 2000mg/L de lactoferrina, con al menos alrededor de 6% en peso de la lactoferrina como lactoferrina nativa.
27. Un método según la reivindicación 25, en donde la fórmula comprende,

entre alrededor de 6.5 g/L y alrededor de 10.9 g/L de concentrado proteínico de suero enriquecido.

28. Un método según la reivindicación 25 en donde son proporcionados entre alrededor de 60 % a 90% en peso de cada uno de los gangliósidos, fosfolípidos, lactoferrina, y ácido siálico por un concentrado proteínico de suero enriquecido, dicho concentrado representa por lo menos alrededor de 6.5 g/L de la fórmula sobre una base alimentaria.

29. Un método según la reivindicación 25 en donde entre alrededor de 50% al 100% en peso de la combinación de gangliósidos, fosfolípidos y ácido siálico proviene de un concentrado proteínico de suero enriquecido.

30. Un método según la reivindicación 25 en donde el ácido siálico enlazado a lípido representa entre alrededor del 2.7% y alrededor del 5% en peso de ácido siálico total.

31. Un método según la reivindicación 25, en donde la fórmula comprende, sobre una base alimentaria, (A) entre alrededor de 7 mg/L y alrededor de 50 mg/L de gangliósidos, (B) entre alrededor de 200 mg/L y alrededor de 600 mg/L de fosfolípidos, y (C) entre alrededor de 90 mg/L y alrededor de 250 mg/L de ácido siálico.

32. Un método según la reivindicación 25, en donde el total de fosfolípidos comprende al menos un 20% en peso de esfingomielina.

33. Un método según la reivindicación 25, en donde la fórmula comprende menos de alrededor de 0.2% en peso de grasa de leche sobre una base alimentaria.

34. Un método según la reivindicación 25, en donde la fórmula comprende menos del 0.5% en peso de glicomacropéptidos libres sobre una base alimentaria.

35. Un método según la reivindicación 25, en donde la fórmula comprende además entre alrededor de 0.05% y alrededor de 5% de un fructopolisacárido.

Figura 1: Perfil de ácidos grasos de cadena corta para fórmula infantil convencional con 0.5 g/L de FOS después de 72 horas en la presencia de flora proveniente de lactancia materna.

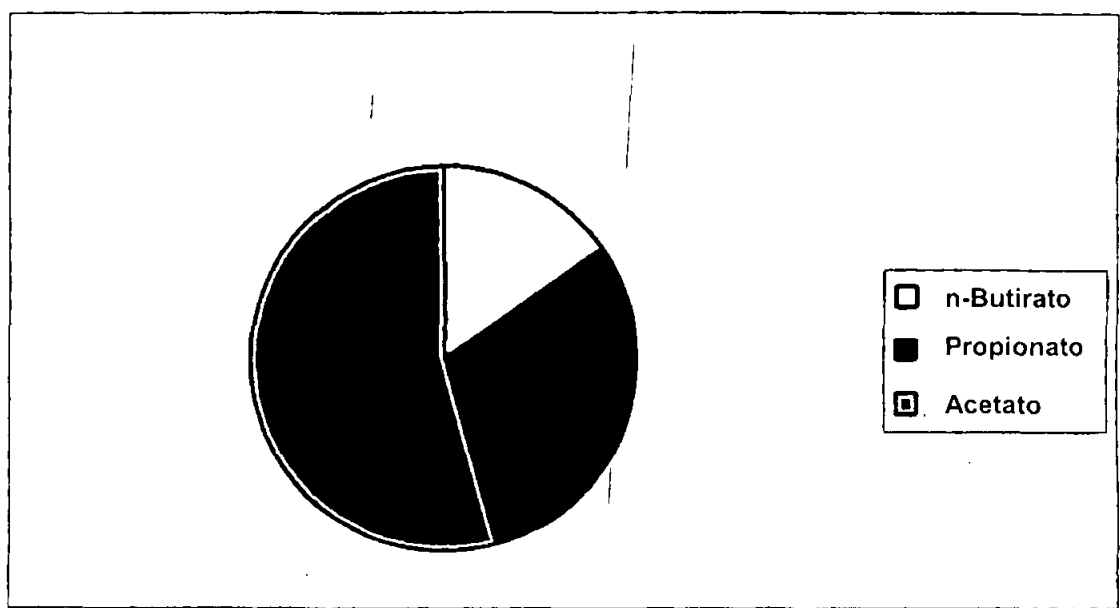


Figura 2. : Perfil de ácidos grasos de cadena corta para fórmula infantil convencional con 2.0 g/L de FOS de cadena corta después de 72 horas en la presencia de flora proveniente de lactancia materna.

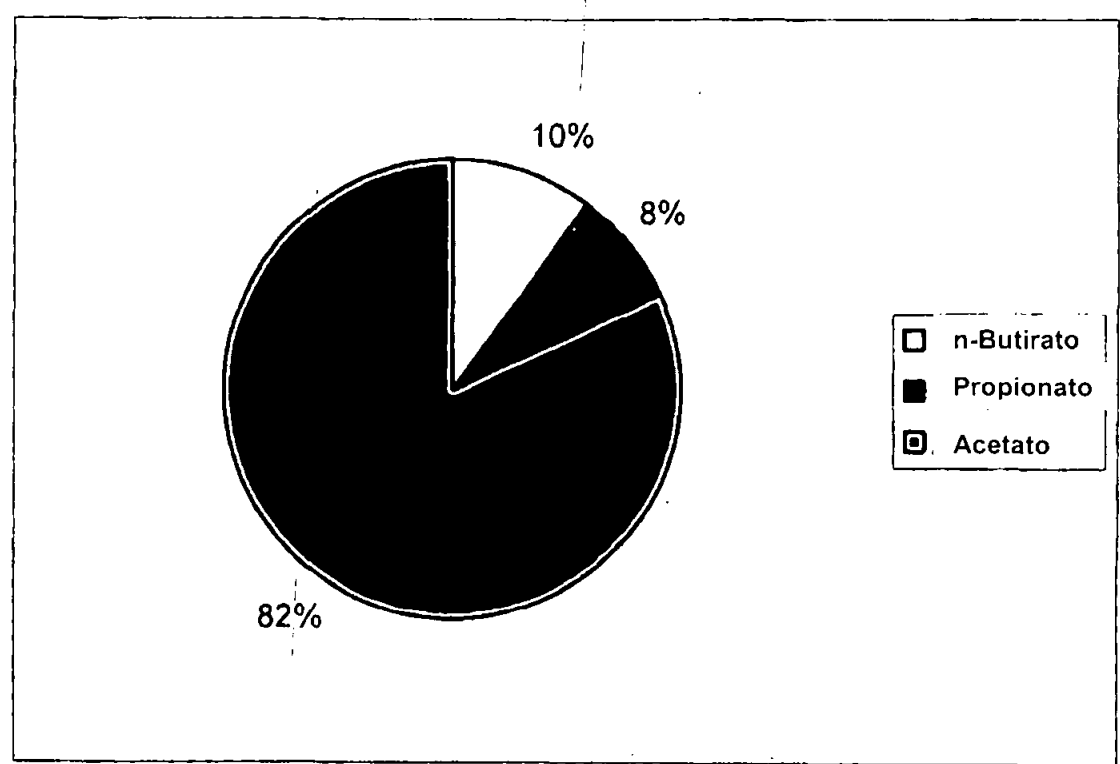


Figura 3 : Perfil de ácidos grasos de cadena corta para fórmula infantil convencional con 2.0 g/L de FOS de cadena corta después de 72 horas en la presencia de flora de lactancia materna.

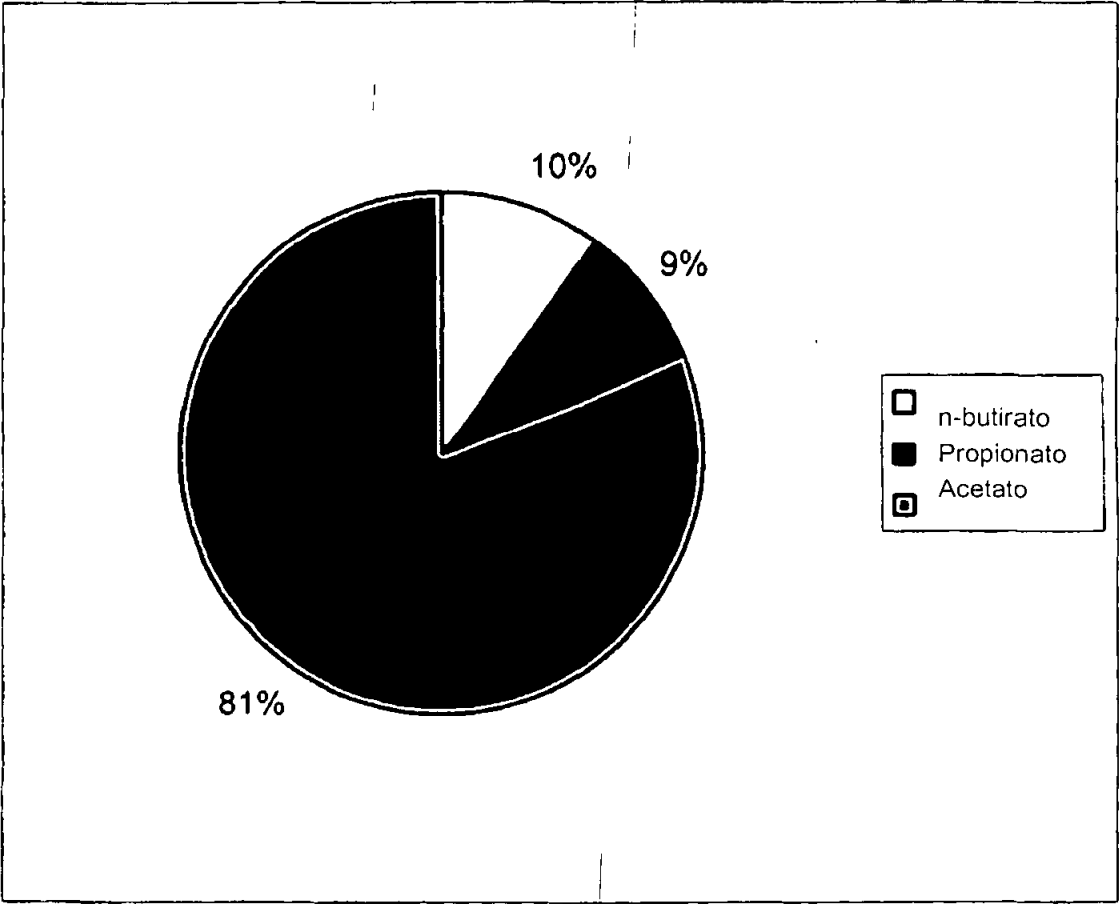


Figura 4 : Perfil de ácidos grasos de cadena corta para realización de fórmula infantil de la presente invención con 0.8 g/L de FOS después de 72 horas en la presencia de flora de lactancia materna.

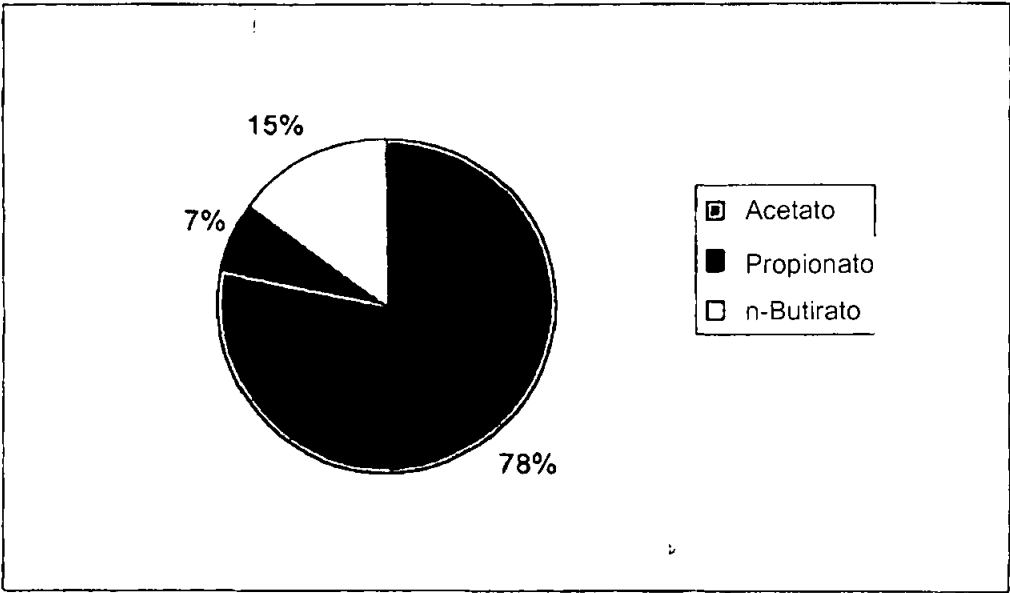


Figura 5. Perfil típico de ácidos grasos de cadena corta en el colon de infantes alimentados con pecho.

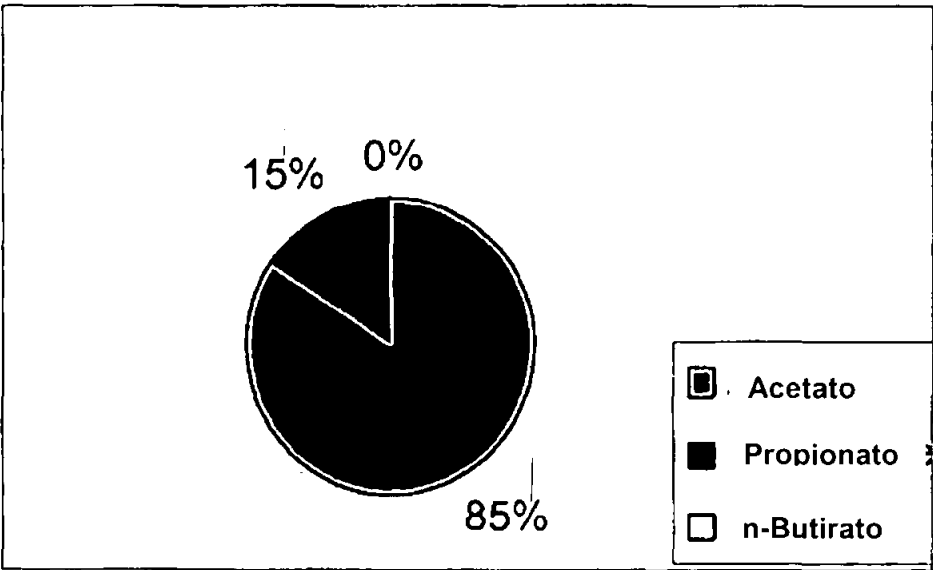
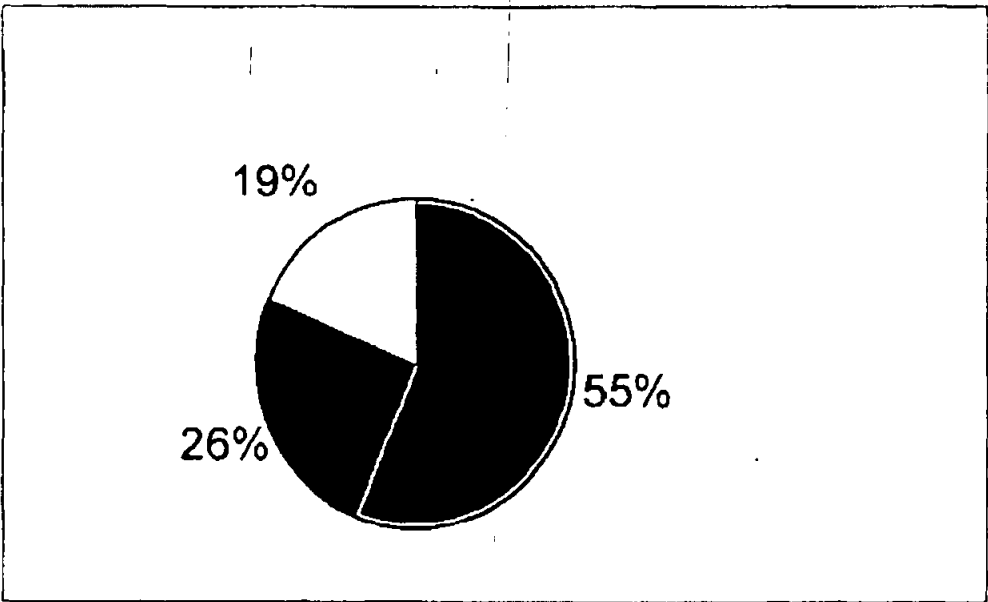


Figura 6. Perfil típico de ácidos grasos de cadena corta en el colon de infantes alimentados con fórmulas basadas en leche convencional como única fuente de nutrición.



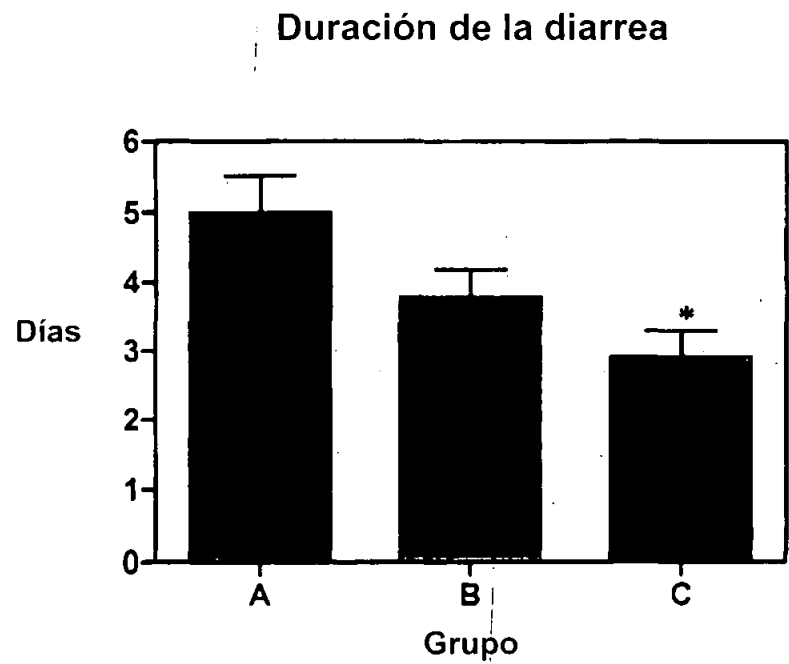


Figura 7. Duración de episodios de diarrea en lechones alimentados con diferentes dietas (Grupo A –Fórmula convencional); Grupos B y C – realizaciones de fórmula de la presente invención). Los datos son la Media ± SEM. (*)Diferencia significativa del grupo A ($p < 0.05$)

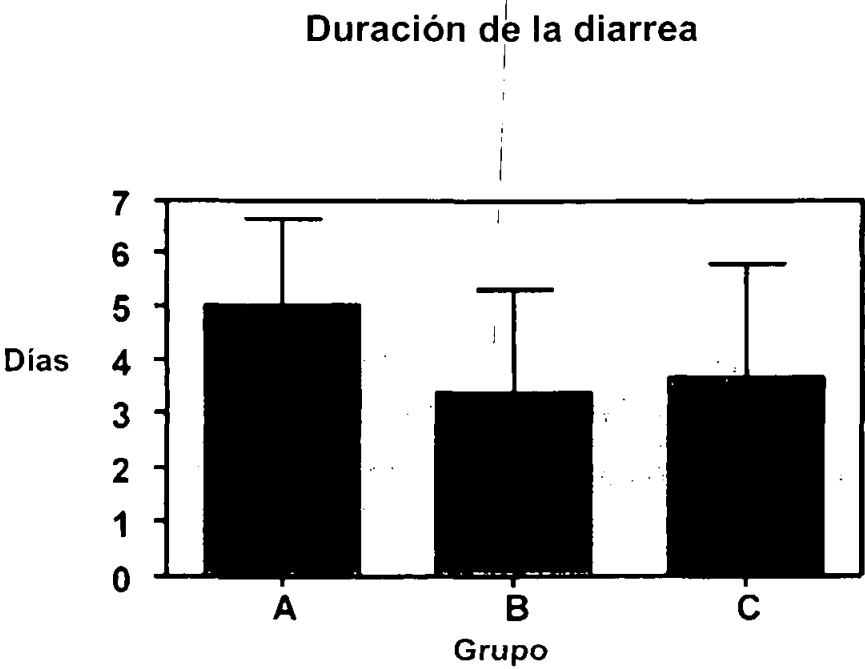


Figura 8. Duración (días) de episodios de diarrea en lechones alimentados con las dietas experimentales del Experimento III (Dieta A, B y C)