

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication : 2 955 774

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : 10 50734

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : A 61 K 39/02 (2006.01), A 61 K 31/702, 31/198,  
A 61 P 3/04, 3/10

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 02.02.10.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 05.08.11 Bulletin 11/31.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : ARAGAN Société par actions simpli-  
fiée — FR.

⑦2 Inventeur(s) : ARAMPATZIS CHARALAMPOS.

⑦3 Titulaire(s) : ARAGAN Société par actions simplifiée.

⑦4 Mandataire(s) : ACTALIUM.

⑤4 PRÉPARATION DESTINÉE A TRAITER L'EXCES PONDERAL ET LES DESORDRES ASSOCIES ET  
APPLICATIONS DE LADITE PRÉPARATION.

⑤7 Préparation destinée à traiter l'excès pondéral, l'obésité et les désordres associés par au moins un effet réparateur de la paroi intestinale, contenant une quantité active d'un probiotique comportant au moins des bifidobactéries sous forme vivante, des fibres prébiotiques et un potentialisateur du probiotique, caractérisé en ce qu'il ne contient pas de firmicutes de manière à ne pas augmenter le rapport firmicutes/bactéroïdètes au niveau du côlon. La préparation peut être un médicament, un complément alimentaire, un aliment, un additif alimentaire, ou un aliment destiné à des fins médicales spéciales

Application notamment au traitement de l'excès pondéral et de ses désordres associés, chez l'adolescent et l'adulte.

FR 2 955 774 - A1



**Préparation destinée à traiter l'excès pondéral et les désordres associés et applications de ladite préparation**

5 La présente invention se situe dans le domaine du traitement, par une modulation du microbiote intestinal, de l'obésité, de l'excès pondéral, du diabète de type II, de l'hypercholestérolémie, et des désordres métaboliques associés.

10 Dans le domaine général de la composition du microbiote intestinal, déterminée sur la base du séquençage de l'ARN 16S ribosomal, on sait qu'elle est représentée à plus de 90% par deux grands phyla, le phylum des firmicutes et celui des bacteroïdètes (Steven R. Gill., et al, Science 2006 June 2 ;312 : 1355-1359). Les firmicutes contiennent entre autres les espèces de lactobacilles, alors que les bacteroïdètes sont représentées par les espèces de bactéroïdes. Parmi les autres  
15 phyla composant le microbiote intestinal, celui des actinobactéries est qualitativement important, en particulier par la représentation en bifidobactéries (Comparative Analysis of Human Gut Microbiota by Barcoded Pyrosequencing, Anders F. Andersson, Mathilda Lindberg, Hedvig Jakobsson, Fredrik Bäckhed, Pål Nyrén, and Lars Engstrand, PLoS ONE, v.3(7); 2008). Ce microbiote, considéré  
20 aujourd'hui comme un organe à part entière, est impliqué dans des fonctions bien connues : par exemple, digestion de résidus pour produire des métabolites assimilables, exclusion de l'installation de bactéries pathogènes, stimulation de l'immunité, synthèse des vitamines B12 et K. Pour Delzenne et Cani (Medecine/Sciences, 2008 ;24 :505-10), les 10<sup>14</sup> bactéries qui la composent  
25 constituent un biotope spécifique à chaque individu, lequel peut alors être considéré comme un métagénome réunissant son génome humain et la somme des génomes bactériens présents dans son tractus gastro-intestinal.

30 Dans le domaine général du traitement de l'obésité, de l'excès pondéral et des désordres associés, on connaît déjà des preuves de l'implication de la flore intestinale sur l'obésité. En particulier, Turnbaugh et al. (An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 2006 ;444 :1027-31) ont transféré le microbiote de souris obèses sur des souris minces axéniques, dont le poids s'est alors mis à augmenter en deux semaines.

35 Le document WO-200924429 cible des protéobactéries intestinales, et plus particulièrement des enterobactéries Gram-négatives et des deferribactères, pour

obtenir une diminution pondérale. Or, Cani et al. (Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008; 57: 1470-81) ont montré qu'une augmentation de la population de bactéries Gram-négative portant un lipopolysaccharide (LPS) peut induire un état inflammatoire. Ce LPS est produit par la lyse des bactéries, et stimule après absorption la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires qui participent à l'installation du diabète de type II en stimulant l'insulino-résistance (Vreugdenhil AC, Rousseau CH, Hartung T et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein mediates LPS detoxification by chylomicrons. *J Immunol* 2003 ; 170 : 1399-405). Un traitement par antibiotique permet alors de limiter le taux de LPS et l'inflammation associée (Cani et al., supra). Ces résultats sont corrélés avec ceux de Creely et al (Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007 ; 292 : E740-7) qui montrent qu'une alimentation riche en lipides modifie la composition de la flore intestinale en favorisant les populations bactériennes à LPS et donc les risques d'inflammation et de diabète de type II. Le traitement décrit dans WO-200924429 permet donc de diminuer l'inflammation liée à l'obésité. Ce document propose différents effecteurs pour diminuer les populations bactériennes visées : utilisation de bactériophages T4 ou T7, utilisation de levures saccharomyces, traitements par antibiotiques, ou par composés phytochimiques. Mais l'inconvénient est qu'il permet surtout de diminuer spécifiquement la présence de bactéries impliquées dans les phénomènes inflammatoires, mais pas de rétablir l'équilibre global de la flore intestinale. Par ailleurs, la présence dans un produit alimentaire des effecteurs utilisés n'est pas souhaitable.

Pour résoudre ces inconvénients, il a déjà été proposé de recourir aux probiotiques ou aux prébiotiques.

Ainsi, les probiotiques sont des bactéries vivantes, administrées par voie orale à l'homme ou à l'animal, qui présentent un effet bénéfique pour la santé ou le bien être du sujet en améliorant le microbiote intestinal (Fuller, R., probiotics in man and animals, 1989, *J. Appl. Microbiol.*, 66 : 365-378). Les prébiotiques sont des composés alimentaires non digestibles qui sont dégradés par la flore intestinale. Ils ont des effets bénéfiques sur l'hôte, d'abord du fait de la stimulation de la croissance des bactéries intestinales favorables qu'ils induisent, ensuite parce qu'ils peuvent stimuler spécifiquement la synthèse par ces bactéries de nutriments utiles

pour l'organisme (Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995 ; 125 : 1401-12).

L'ingestion de probiotiques par l'organisme ne supprime pas le besoin de  
5 nutriments directement absorbables dans l'alimentation. Pour résoudre ce problème, le brevet US-2008286252 prévoit que la digestion des prébiotiques par les probiotiques est réalisée en fermenteur, et ce sont les produits issus de cette digestion qui sont fournis comme préparation à visée alimentaire.

L'inconvénient de cette solution est qu'elle ne vise pas à moduler le  
10 microbiote intestinal. Pour pallier cet inconvénient, on doit faire ingérer par le sujet des probiotiques ou des prébiotiques.

On apprend par Ito et al. (Effect of administration of galactooligosaccharides on the human faecal microflora, stool weight and  
15 abdominal sensation. *Microb. Ecol. Health Dis.* 1990. 3 :285-292) que les galactooligosaccharides (GOS) sont des prébiotiques bifidogènes : ils vont stimuler la croissance des bifidobactéries dans l'intestin. On connaît une autre application du GOS par le brevet FR-2844453 qui montre qu'un traitement par ce prébiotique bifidogène, de sujets ayant une tendance à l'obésité, aide à prévenir le diabète de  
20 type II. La capacité bifidogénique d'autres prébiotiques comme les oligofructoses, les fructo-oligosachharides (FOS) et les trans-galacto-oligosaccharides (TOS), a été comparée par Bouhnik et al. (The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans : a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. *Ann. J. Clin. Nutr.*  
25 2004 ;80 :1658-64). Par exemple, une alimentation riche en fibres fermentescibles non digestibles, et en particulier riche en fructanes, contribue à diminuer le poids corporel tout en augmentant la population de bifidobactéries qui utilisent préférentiellement ces composés (Cani PD, Joly E, Horsmans Y, et al. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. *Eur J Clin Nutr* 2006 ; 60 : 567-  
30 72).

Ces observations sont confirmées par des études cliniques menées sur des adolescents par Abrams et al. (Effect of bifidogene prebiotic supplementation intake on body mass index. *J. Pediatr.* 2007 Sept. 151(3) :293-8). Cette étude a montré que les adolescents traités par prébiotique présentaient un poids en moyenne 30%  
35 inférieur, une masse grasseuse inférieure de 68% et un IMC (Index de Masse Corporelle) inférieur de 45%. Des résultats menant à des conclusions similaires ont

été obtenus en administrant un probiotique comportant des lactobacilles et des bifidobactéries à des femmes enceintes en Finlande (ECO 2009, 17th European Congress on Obesity, Amsterdam 6-9 may 2009).

5 On sait aussi qu'une augmentation du contenu microbiotique en bifidobactéries s'accompagne d'une diminution des phénomènes inflammatoires liés à l'obésité et au diabète (Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 2007 ; 50 : 2374-83). Cet effet est corrélé à un contrôle de l'augmentation du taux de lipopolysaccharides (LPS), dont nous avons vu l'action sur le processus inflammatoire et le déclenchement du diabète. A l'opposé, un régime riche en graisses provoque une diminution de la présence des bifidobactéries, corrélée à une augmentation de l'inflammation et à une perméabilité plus importante de la muqueuse intestinale. Ces désordres sont désignés sous le terme d'endotoxémie.

10 On apprend également du document WO-2009071086 que l'ingestion de graisses par la paroi intestinale est régulée sous l'effet de facteurs fournis par des lactobacilles ou des bifidobactéries. En effet, le rapport entre flore intestinale et métabolisme des graisses a été démontré par Backhed et al (Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 15718-23) via une inactivation de l'expression d'un facteur intestinal, le FIAF (Fasting-induced adipose factor). Le FIAF génère une augmentation de l'activité de l'enzyme lipoprotein lipase (LPL), et in fine la plus grande captation des acides gras par les muscles et le tissu adipeux.

15 Le brevet WO-2009071086 repose donc sur une substance médiatrice de l'expression du FIAF, produite par les probiotiques.

Non seulement la présence accrue de bifidobactéries permet, par phénomène de compétition, de diminuer l'activité des bactéries gram-négatives responsables de la production de LPS, mais aussi, cette présence permet de rétablir l'intégrité de la paroi intestinale. Ce rétablissement s'effectue par une stimulation de la production d'une hormone impliquée dans la croissance et la prolifération de l'épithélium intestinal, le glucagon-like peptide-2 (GLP-2), qui protège ainsi des micro-perforations de la paroi intestinale (Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. Cani et al., *Gut*, 23 fev 2009). Le rétablissement de la paroi intestinale permet de prévenir l'absorption des facteurs déclenchant

20  
25  
30  
35

l'inflammation, mais elle réduit aussi de manière globale l'absorption excessive de nutriments. Une action réparatrice de la paroi intestinale peut également être obtenue avec certains nutriments. On apprend en effet de Amasheh et al. (Barrier effects of nutritional factors. Ann. NY Acad. Sci. 2009 May ;1165 :267-73) que des facteurs nutritionnels peuvent agir sur l'état de la barrière intestinale, et en particulier sur l'inflammation intestinale. On sait par ailleurs par Wang et al. (Effect of glutamine on intestinal mucosal barrier function in rats with acute hepatic injury, Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi. 2009 Feb;23(1):53-5) que la L-Glutamine aide à réparer la muqueuse intestinale. On sait enfin par Yousheng Li et al. (Oral glutamine ameliorates chemotherapy-induced changes of intestinal permeability and does not interfere with the antitumor effect of chemotherapy in patients with breast cancer: A prospective randomized trial. Tumori. 2006, vol. 92, no5, pp. 396-401), que la L-Glutamine agit en contribuant à diminuer la perméabilité de la barrière intestinale dans des situations pathologiques.

Par ailleurs, la synthèse d'autres peptides endogènes est stimulée par les produits de la dégradation des fructanes par les bactéries lactiques : il s'agit de peptides intestinaux impliqués dans la gestion de l'appétit, de la sécrétion et de la sensibilité à l'insuline, de la glycémie et du poids corporel, comme le glucagon-like peptide 1 (GLP-1) ou le glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) (Cani et al., supra).

Pour agir en même temps sur la prise de poids, les phénomènes inflammatoires et le déclenchement du diabète de type II, un traitement doit donc avoir un effet réparateur de la paroi intestinale, qui permet une diminution des phénomènes d'inflammation liés à l'obésité, et favorise la régulation du métabolisme lipidique et celle de l'ingestion des aliments.

Il a déjà été proposé à cette fin d'utiliser des préparations à base de Lactobacilles, combinés optionnellement à des bifidobactéries ou à d'autres bactéries.

Ainsi, le document WO-200743933 nous apprend qu'un probiotique associant des *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ou des *Bifidobacterium lactis* permet de prévenir l'augmentation de poids et l'obésité, d'augmenter la sensation de satiété, de réduire l'ingestion d'aliments, et de réguler les métabolismes glucidique et lipidique.

On connaît aussi, par les documents US-2005186189 et US-7001756 que des souches de *Lactobacillus Rhamnosus* permettent de réguler le métabolisme du cholestérol et des lipides, et de prévenir les complications associées à l'obésité. Il en

est de même dans le brevet WO-2009098355, qui utilise *Lactobacillus Rhamnosus* pour réguler un profil lipidique qui est associé avec l'inflammation de la muqueuse intestinale. Les brevets EP-1177794 et US-6696057 proposent un traitement de l'obésité et des désordres digestifs par une combinaison de probiotiques, *Lactobacillus Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

On sait encore, par le document WO-2007085970, que des souches de *Lactobacillus*, en présence éventuelle de souches de *Bifidobacterium*, et en association avec des prébiotiques FOS, GOS et TOS, permet d'agir sur des marqueurs de la satiété, en particuliers des hormones et des neuro-peptides. De même, dans le document WO-2009138448, l'association de *Lactobacillus paracasei* et de prébiotiques similaires agit via une activation du système nerveux sympathique et de la lipolyse, et une inhibition du système nerveux parasymphatique.

On sait encore par le document US-2003166257, que le *Lactobacillus salivarius* est utilisé comme probiotique en association avec un prébiotique, pour diminuer les phénomènes d'inflammation via son interaction avec une cytokine pro-inflammatoire. On apprend aussi du brevet WO-2009048934 que des souches de lactobacilles et de bifidobactéries ont été associées pour traiter l'état inflammatoire du tractus gastro-intestinal. De manière plus large, le brevet WO-02060276 décrit une association de lactobacilles, propionibactéries, bifidobactéries et prébiotiques bifidogènes dans un objectif de stimulation de l'immunité générale.

De ce qui précède, on peut constater que les lactobacilles sont plus souvent utilisés que les bifidobactéries. WO-2004089115 indique que, pour traiter l'inflammation et d'autres désordres intestinaux, les souches de lactobacilles ont été préférées aux souches de bifidobactéries, car ces dernières sont moins résistantes aux traitements physico-chimiques utilisés dans l'industrie alimentaire. On apprend par ailleurs que certaines souches de *Lactobacillus* peuvent présenter d'autres propriétés intéressantes.

Ainsi, on sait du document WO-2004144403 qu'une souche de lactobacille synthétise des polysaccharides extra-cellulaires à partir des mono et disaccharides présents dans l'intestin, ce qui réduit donc l'absorption intestinale des glucides. Ainsi, elle joue le rôle de probiotique contre l'obésité et le diabète. De même, dans le brevet US-2008057044, les lactobacilles sélectionnés sont capables de convertir l'acide linoléique et de réduire ainsi la masse grasseuse. On apprend enfin du document WO-2009138092 qu'une stimulation de l'immunité associée à un

renforcement de la barrière intestinale est obtenue par l'apport spécifique de probiotiques à base de lactobacilles. Le résultat est obtenu par la production de métabolites spécifiques restaurant la barrière intestinale (Roy CC et al., Short chain fatty acids : ready for prime time ? Nutr. Clin. Pract., 2006 ; 21 :351-366), et plus particulièrement par la production de polyamines (Lonvaud-Funel A., Biogenic amines in wine : role of acid lactic bacteria. FEMS Microbiol. Letters, 2001, 199 :9-13).

Mais on connaît aussi des inconvénients liés à l'utilisation des lactobacilles, qui font partie du phylum des firmicutes.

10 On apprend en effet des travaux de Turnbaugh et al (Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 2006 ; 444 : 1027-31) que le microbiote d'individus obèses récupère plus d'énergie à partir d'une même ration alimentaire que pour des individus sains, conférant ainsi à cette ration  
15 alimentaire une plus grande valeur calorique. L'intestin de sujets obèses compte une proportion moindre de bactéroïdètes, et ce sont les firmicutes qui deviennent plus prédominantes. Les firmicutes permettent une meilleure extraction de l'énergie de la ration alimentaire au profit de l'hôte qui les héberge, et participent ainsi à l'excès pondéral du sujet. Un excès énergétique de 1% par rapport aux besoins suffit à  
20 générer une augmentation de 20kg du poids corporel sur 20 ans (Hill JO. Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. Endocr Rev 2006 ; 27 : 750-61).

On sait de DRASAR B.S. et BARROW P.A. (Intestinal Microbiology - Aspects of Microbiology 10 - Van Nostrand Reinhold Co. Ltd, U.K. 1985.) que la  
25 flore intestinale est répartie topographiquement dans le tractus gastro-intestinal. Pour Rambaud et al. (Flore microbienne intestinale : physiologie et pathologie digestives, Ed. John Libbey, Eurotext), la flore de l'intestin grêle est surtout composée de streptocoques, lactobacilles et entérobactéries. Selon Pierre Bourlioux (Composition et rôles de la flore intestinale, Objectif Nutrition, Institut Danone, n°  
30 41, septembre 1998), la flore dominante du côlon comporte entre autres des bactéroïdètes et des bifidobactéries. Le côlon présente également une flore sous-dominante où apparaissent entre autres des streptocoques, lactobacilles et entérobactéries. On voit donc que pour agir spécifiquement au niveau du côlon, l'utilisation des bifidobactéries est plus indiquée que celle des lactobacilles.

35 On sait par ailleurs du document WO-200876696, que la proportion entre firmicutes et bactéroïdètes peut constituer un marqueur du risque d'obésité. Il a en

effet été montré que le rapport firmicutes/bactéroïdètes est de 10 contre 1 chez un adulte sain, et monte à 100 pour 1 chez un adulte obèse (Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. 2006. Microbial ecology : human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 444 : 1022-3). Tout en gardant une spécificité propre à chaque individu, le microbiote subit une évolution corrélée au poids de l'individu ou au suivi de régimes amincissants.

Un profil microbiotique de l'obésité ou du risque d'obésité est ainsi défini. Dans ce contexte, même si les effets favorables immédiats de l'utilisation de lactobacilles comme probiotiques sont connus, comme rendu compte précédemment, il peut paraître plus prudent pour le moyen terme de ne pas modifier le rapport firmicutes/bactéroïdètes en faveur des firmicutes. D'ailleurs, cette prudence est renforcée par les observations de Didier Raoult (Probiotics and obesity : a link ?, *Nature Reviews Microbiology* 7, septembre 2009 : 616) concernant la prise de poids de poulets ayant reçu des probiotiques à base de lactobacilles.

On sait également que l'espèce de *Bacteroides thetaiotaomicron*, qui représente environ 6% du microbiote humain (Eckburg, P. B., E. M. Bik, C. N. Bernstein, E. Purdom, L. Dethlefsen, M. Sargent, S. R. Gill, K. E. Nelson, and D. A. Relman. 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 308:1635–1638.), fait partie de la famille de *Bacteroides* et elle est considérée comme une bactérie qui vit en symbiose dans le colon humain et qui contribue à la stabilité et l'équilibre du microbiote humain. Elle est une bactérie commensale de l'Homme, non pathogène, sous condition qu'elle ne sorte pas de sa niche écologique habituelle pour se rendre dans des tissus normalement stériles.

Les espèces de *Bacteroides* incluent également des bactéries potentiellement pathogènes qui sont responsables des infections intestinales, et identifiées comme les bactéries responsables de troubles intestinaux comme la diarrhée aiguë (Nguyen, T. V., P. L. Van, C. L. Huy, K. N. Gia, and A. Weintraub. 2006. Etiology and epidemiology of diarrhea in children in Hanoi, Vietnam. *Int. J. Infect. Dis.* 10:298–308.)

La majorité des études *in vivo* ont démontré que l'addition dans l'alimentation humaine de prébiotiques de type oligofructose et inuline n'influence pas la population des espèces des *Bacteroides* spp. On apprend que les populations de ces dernières ne sont ni stimulées, ni diminuées par l'administration de prébiotiques type oligofructose. (Roberfroid, M. B. 2005. Inulin-type fructans and the modulation of the intestinal microflora, p. 151–181. In M. B. Roberfroid and I.

Wolinsky (ed.), *Inulin-type fructans: functional food ingredients*. CRC Press LCC, Boca Raton, FL.).

Néanmoins, certaines espèces de *Bacteroides* spp comme par exemple l'espèce de *Bacteroides thetaiotaomicron* sont capables de dégrader des prébiotiques de type oligofructose. (Van der Meulen, R., L. Makras, K. Verbrugghe, T. Adriany, and L. De Vuyst. 2006. In vitro kinetic analysis of oligofructose consumption by *Bacteroides* and *Bifidobacterium* spp. indicates different degradation mechanisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:1006–1012).

10 L'invention a donc pour objectif d'améliorer le traitement de l'excès pondéral et des désordres associés par une nouvelle préparation qui ne comporte pas de bactéries du phylum des firmicutes et en particulier pas de lactobacilles. Une telle préparation peut être notamment un médicament, un complément alimentaire, un aliment, un additif alimentaire, un aliment destiné à des fins médicales spéciales.

15 Elle vise en particulier à proposer une nouvelle préparation permettant d'obtenir au moins un effet réparateur de la paroi intestinale.

Elle vise aussi à proposer une préparation particulièrement adaptée au traitement de l'excès pondéral, et/ou de l'obésité, et/ou du diabète de type II, et/ou de l'hypercholestérolémie, notamment chez l'adolescent et l'adulte.

20 Elle vise également à proposer une préparation qui augmente sélectivement certaines espèces non pathogènes de la famille de *Bacteroides*, et plus particulièrement la population de *Bacteroides thetaiotaomicron*.

Elle vise encore à proposer une préparation particulièrement adaptée pour stabiliser le poids chez des sujets qui étaient en surpoids ou obèses, ayant perdu du poids volontairement à la suite d'un régime ou d'une intervention chirurgicale.

25 Avec ces objectifs en vue, l'invention a pour objet une préparation destinée à traiter l'excès pondéral et les désordres associés par au moins un effet réparateur de la paroi intestinale, cette préparation contenant une quantité active d'un probiotique comportant au moins des bifidobactéries sous forme vivante, des fibres prébiotiques et un potentialisateur du probiotique.

30 La préparation selon l'invention contient une quantité de fibres prébiotiques spécifiques capables de favoriser sélectivement certaines espèces non pathogènes de la famille de *Bacteroides* et plus particulièrement la population de *Bacteroides thetaiotaomicron* au niveau du côlon.

35

La préparation selon l'invention est caractérisée en ce qu'elle ne contient pas de firmicutes de manière à ne pas augmenter le rapport firmicutes/bactéroïdètes au niveau du côlon.

5 L'invention permet de résoudre les problèmes mentionnés ci-dessus. En effet, par son effet réparateur de la paroi intestinale, la préparation permet bien une diminution des phénomènes d'inflammation liés à l'obésité, et favorise la régulation de l'ingestion des aliments. Elle permet en particulier d'agir en même temps sur la prise de poids, les phénomènes inflammatoires et le déclenchement du diabète de  
10 type II. Par l'absence de lactobacilles dans la composition de la préparation, l'invention permet d'atteindre ces objectifs sans augmenter le rapport firmicutes/bactéroïdètes de la flore intestinale.

L'invention permet de favoriser sélectivement certaines espèces non pathogènes de la famille de Bacteroides et plus particulièrement la population de  
15 Bacteroides thetaiotaomicron au niveau du côlon.

De plus, par l'utilisation de bifidobactéries, la préparation sera spécifiquement active au niveau du côlon, et présentera un effet positif sur l'hypercholestérolémie associée à l'obésité, par le fait que les bifidobactéries favorisent aussi la régulation du métabolisme lipidique.

20

Selon une disposition particulière de l'invention, la préparation est particulièrement destinée pour les adolescents et les adultes, et constitue un moyen d'équilibrer la flore intestinale déviante. Elle est particulièrement recommandée pour les sujets ayant tendance à l'excès pondéral, et pour stabiliser le poids chez les  
25 sujets qui étaient en surpoids ou obèses, ayant perdu du poids volontairement à la suite d'un régime ou d'une intervention chirurgicale.

En effet, les inventeurs ont pu observer l'effet de traitements par la préparation sur des sujets adultes ou adolescents.

Le brevet WO-2008116700 préconisait déjà un traitement bifidogène de la  
30 femme enceinte ou du nourrisson. Ce traitement prévoit l'administration de souches de Bifidobacterium comme probiotiques, en association avec des sucres et des fibres non digérables, que le brevet ne considère pas comme prébiotiques mais comme des agents laxatifs chez le jeune enfant. La colonisation de l'intestin par des bifidobactéries dès le plus jeune âge est ici considérée comme un facteur de  
35 prévention du risque d'obésité ultérieure. WO-2006091103 propose une composition de Bifidobacterium Breve et éventuellement Lactobacillus paracasei en

présence de 2 polysaccharides dont les caractéristiques sont affinées pour optimiser la croissance des bifidobactéries. La visée thérapeutique de cette préparation est la nutrition du jeune enfant non allaité, en vue de réduire les risques de désordres digestifs, de phénomènes allergiques et d'infection à court terme, et de diabète et d'obésité à plus long terme. Il s'agit surtout ici d'optimiser l'apport nutritionnel d'un nouveau-né qui n'est pas allaité.

Mais on sait que le microbiote du nouveau-né et du jeune enfant est particulier, avec une prédominance marquée des bifidobactéries, qui représentent 42,2% des bactéries totales chez le nouveau-né (Violaine Rochet, Lionel Rigottier-Gois, Caractérisation moléculaire de la diversité et de la composition du microbiote digestif de l'homme par hybridation in situ fluorescente couplée à la cytométrie de flux. Unité d'Ecologie et Physiologie du Système Digestif, INRA Jouy-en-Josas, Nov. 2005). Chez le nourrisson, le rapport entre firmicutes et bactéroïdètes n'est plus que de 5 au lieu de 10 chez l'adulte sain ayant entre 20 et 50 ans (Mariat et al., The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. BMC Microbiology, 2009, 9 :123). Le microbiote du nouveau-né est donc particulier, et joue un rôle important dans la prévention de l'obésité et du diabète.

Cette remarque est d'ailleurs cohérente avec les recommandations du rapport intitulé « Alimentation infantile et modification de la flore intestinale » de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA, Juin 2003). Concernant « l'impact sur la santé des nourrissons et des jeunes enfants du développement de l'incorporation de prébiotiques et de probiotiques dans les aliments lactés diététiques qui leur sont spécifiquement destinés », l'AFSSA s'est fixé comme objectifs de « faire l'état des connaissances sur les questions posées par la modification de la flore intestinale chez les jeunes enfants, en examinant tous les aspects liés à l'utilisation des ingrédients modifiant la flore intestinale dans les préparations pour nourrissons », et « d'élaborer des lignes directrices pour la constitution de dossiers industriels spécifiques à ces types de produits ».

Rien ne montrait donc que le contexte du microbiote du jeune enfant ou du nourrisson aurait pu être transposable à l'adolescent ou à l'adulte.

Selon une disposition particulière, les bactéries constituant le probiotique sont doublement encapsulées. En effet, pour être actives, les cellules bactériennes doivent avoir leur intégrité préservée tout au long du trajet dans le tractus gastro-intestinal. Cette double encapsulation permet de maintenir actives les bifidobactéries tout le long de ce trajet, jusqu'au niveau du côlon.

Préférentiellement, les fibres prébiotiques utilisées sont des fibres à effet bifidogène, et comportent au moins des galacto-oligosaccharides et de l'oligo-fructose. Les fibres bifidogènes amplifient ainsi l'effet des bifidobactéries en permettant leur multiplication dans l'intestin et favorisent sélectivement certaines espèces non pathogènes de la famille de Bacteroides et plus particulièrement la population de Bacteroides thetaiotaomicron au niveau du côlon.

Préférentiellement aussi, le potentialisateur des probiotiques est un régénérateur de la paroi intestinale, par exemple la L-glutamine, qui a une action réparatrice sur la perméabilité de la paroi intestinale. Cette action ne peut donc que renforcer celle des bifidobactéries qui ont été choisies pour leur contribution à cette réparation.

Selon une autre disposition de l'invention, l'effet positif de la préparation sur la santé sera renforcé par l'incorporation dans la préparation d'extraits d'origine végétale ou d'agents phytothérapeutiques, et des bactéries commensales de l'Homme.

D'autres caractéristiques et avantages apparaîtront dans la description qui va être faite d'un exemple de réalisation de l'invention.

Dans cet exemple, la préparation selon l'invention se présente sous une forme générale, connue de l'homme de l'art, permettant d'assurer la survie du probiotique. Les bactéries probiotiques utilisées pour la mise en œuvre de la présente invention sont du genre bifidobacterium. Selon une mise en œuvre préférée de l'invention les bactéries probiotiques sont :

Bifidobacterium bifidum BF2,  
Bifidobacterium longum BG3,  
Bifidobacterium breve BR2,  
Bifidobacterium infantis BT1,  
Bifidobacterium lactis BL2.

Dans le choix d'un probiotique pour obtenir la préparation selon l'invention il est fondamental de rechercher des bactéries de préférence connues comme ayant de bonnes propriétés en ce qui concerne leur taux de survie dans le tractus digestif et notamment qui ne soient pas détruites par les acides gastriques et biliaires. Dans la mesure où elles présentent ces différents avantages mentionnés ci-avant les bactéries probiotiques, Bifidobacterium bifidum BF2, Bifidobacterium longum

BG3, Bifidobacterium breve BR2, Bifidobacterium infantis BT1, Bifidobacterium lactis BL2 sont particulièrement préférées.

Le taux de survie des probiotiques dans le tractus gastro-intestinal sera  
5 avantageusement augmenté par le double encapsulage des bactéries, comme indiqué  
par exemple dans EP-1514553, selon le système connu sous le nom de « Duolac »  
(marque déposée). En effet, les probiotiques préparés selon la technologie  
« Duolac » sont doublement micro-encapsulés permettant ainsi de multiplier par 10  
le nombre de bactéries atteignant vivantes l'intestin et garantir une régénération et  
10 un rééquilibrage du microbiote intestinal. Si l'on consomme des probiotiques  
classiques, un grand nombre de cellules viables est tué avant d'atteindre l'intestin à  
cause du pH acide de l'estomac et de l'hydrolyse enzymatique qui s'y produit. Le  
pH de l'estomac varie normalement d'un pH 2 (estomac vide) à un pH 4 (après le  
repas). Durant le transit qui peut durer 120 minutes, ce milieu acide tue plus de 90  
15 % des micro-organismes vivants sauf si ceux-ci sont protégés. L'encapsulation est  
basée sur un système pH-dépendant qui protège la bactérie dans le milieu acide de  
l'estomac (pH 2 - pH 4) et la libère dans l'environnement neutre de l'intestin (pH 6  
– pH 7). En effet, la première enveloppe est constituée de peptides et d'une matrice  
protéique dont l'ouverture est dépendante du pH. La seconde enveloppe est  
20 constituée de polysaccharides et d'hydrocolloïdes qui protègent les bactéries contre  
les autres facteurs physico-chimiques tels que la température, la pression ou  
l'humidité. Cette seconde enveloppe est surtout utile pendant la confection de la  
préparation. La double encapsulation décrite permet de multiplier par 10 le nombre  
de bactéries atteignant vivantes le gros intestin.

25 La préparation selon l'invention comprend également un prébiotique qui est  
une substance qui ne peut-être digérée par le patient et qui stimule la croissance ou  
l'activité de certaines bactéries non pathogènes présentes dans le tractus gastro-  
intestinal, ou facilite la survie du probiotique administré simultanément. Les fibres  
prébiotiques utilisées pour la mise en œuvre de l'invention sont des  
30 oligosaccharides, et plus particulièrement des transgalacto-oligosaccharides ou des  
oligo-fructose.

La préparation de l'invention comprend aussi un potentialisateur du  
probiotique au niveau de la paroi intestinale ; préférentiellement le potentialisateur  
est un acide aminé et plus préférentiellement de la L-glutamine.

35 La préparation selon l'invention peut encore avantageusement contenir au  
moins un acide gras essentiel, des extraits végétaux, des composés

phytothérapeutiques et des bactéries commensales de l'Homme améliorant l'effet sur la santé générale du sujet. Comme composés phytothérapeutiques, la préparation selon l'invention pourrait comprendre la pulpe fraîche de la feuille interne d'Aloe Vera variété Barbadosensis Miller et de la racine du Curcuma Longa fermenté.

5 Comme bactéries commensales de l'Homme, la préparation selon l'invention pourrait comprendre l'espèce de *Bacteroides thetaiotaomicron*.

La préparation selon l'invention peut se présenter sous toute forme appropriée, connue de l'homme de l'art, adaptée notamment pour assurer la survie  
10 des bactéries. Il est important de tenir compte du facteur température. Il est donc impératif, afin de maintenir les bactéries vivantes, qu'elles soient conservées entre 4 et 8°C (APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, June 2000, p.2605-2612). Le respect de cette chaîne du froid doit être garanti dans le but de proposer aux consommateurs des probiotiques optimaux. Cette conservation au frais  
15 s'applique pendant le transport, le stockage et la conservation du produit.

De préférence la préparation de l'invention est sous forme de poudre.

L'exemple non exhaustif et non limitatif ci-après permet d'illustrer l'invention :

20

Les bactéries probiotiques utilisées sont celles commercialisées sous la marque « Duolac »<sup>TM</sup>.

Le mélange suivant est réalisé à une température comprise entre 4-8°C et sous atmosphère stérile :

25

- 66,7 g de prémix de bifidobactéries « Duolac »<sup>TM</sup>

B. bifidum BF2 (3E+9 cfu/g)

B. longum BG3 (3E+9 cfu/g)

B. breve BR2 (3E+9 cfu/g)

30

B. infantis BT1 (1,05E+10cfu/g)

B. lactis BL2 (1,05E+10 cfu/g)

Total vcc. 3E+E10 cfu/g (BF2, BG3, BR2, BT1 et BL2)

-820g de fibres prébiotiques dont :

35

700 g de trans-galactooligosaccharides et

120 g d'oligo-fructose

-100g de potentialisateur (L-glutamine)

Le mélange obtenu sous forme de poudre est réparti en sachets monodoses de 5 ou 10 grammes.

## REVENDICATIONS

1. Préparation destinée à traiter l'excès pondéral, l'obésité et les désordres associés par au moins un effet réparateur de la paroi intestinale, contenant une quantité active d'un probiotique comportant au moins des bifidobactéries sous forme vivante, des fibres prébiotiques et un potentialisateur du probiotique, caractérisé en ce qu'il ne contient pas de firmicutes de manière à ne pas augmenter le rapport firmicutes/bactéroïdètes au niveau du côlon.  
5
2. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce que le probiotique comporte le mélange des bifidobactéries :Bifidobacterium bifidum BF2, Bifidobacterium longum BG3, Bifidobacterium breve BR2, Bifidobacterium infantis BT1, Bifidobacterium lactis BL2.  
10
3. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce que les bifidobactéries sont encapsulées doublement.  
15
4. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce que les fibres prébiotiques sont des fibres prébiotiques à effet bifidogène, et favorisant sélectivement certaines espèces non pathogènes de la famille de Bacteroides et plus particulièrement la population de Bacteroides thetaiotaomicron au niveau du côlon.  
20
5. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce que les fibres prébiotiques comportent des oligosaccharides.  
25
6. Préparation selon la revendication 5 caractérisée en ce que les oligosaccharides sont des transgalacto-oligosaccharides.
7. Préparation selon la revendication 5 caractérisée en ce que les oligosaccharides sont des oligo-fructoses.  
30
8. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce que le potentialisateur est un régénérateur de la paroi intestinale.

9. Préparation selon la revendication 8 caractérisée en ce que le potentialisateur est la L-Glutamine.

5 10. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce qu'il est sous forme de poudre.

11. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce qu'il comporte au moins un acide gras essentiel.

10 12. Préparation selon la revendication 1 caractérisée en ce qu'elle comporte des agents phytothérapeutiques et des bactéries commensales de l'Homme, améliorant l'effet sur la santé générale du sujet.

15 13. Préparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 caractérisée en ce qu'elle consiste en un médicament, un complément alimentaire, un aliment, un additif alimentaire, ou un aliment destiné à des fins médicales spéciales.

20 14. Préparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 caractérisée en ce qu'elle consiste en un médicament, un complément alimentaire, un aliment, un additif alimentaire, ou un aliment destiné au traitement chez l'adolescent et l'adulte de l'excès pondéral ou de l'obésité ou du diabète de type II ou de l'hypercholestérolémie.

25 15. Préparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 caractérisée en ce qu'elle consiste en un médicament, un complément alimentaire, un aliment, un additif alimentaire, ou un aliment destiné pour stabiliser le poids chez des sujets ayant été en surpoids ou obèses, ayant perdu du poids volontairement à la suite d'un régime ou d'une intervention  
30 chirurgicale.



**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement  
national

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

FA 734213  
FR 1050734

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WO 2006/013588 A1 (ANIDRAL S R L [IT]; MOGNA GIOVANNI [IT]; STROZZI GIAN PAOLO [IT]) 9 février 2006 (2006-02-09)	1-15	A61K39/02 A61K31/702 A61K31/198
Y	* page 10, ligne 12 - page 11, ligne 22 * * page 12, ligne 6 - ligne 34 * * page 23, ligne 11 - ligne 26 * * revendications *	1-15	A61P3/04 A61P3/10
X	WO 2008/116700 A1 (NESTEC SA [CH]; ISOLAURI ERIKA [FI]; SALMINEN SEPPO [FI]) 2 octobre 2008 (2008-10-02)	1-15	
Y	* page 2, ligne 23 - page 3, ligne 32 * * page 5, ligne 14 - page 6, ligne 27 * * page 7, ligne 9 - ligne 10 * * revendications *	1-15	
Y	WO 2008/076696 A2 (UNIV ST LOUIS [US]; TURNBAUGH PETER J [US]; LEY RUTH E [US]; MAHOWALD) 26 juin 2008 (2008-06-26)	1-15	
	* alinéa [0039] * * revendications *		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X	US 2008/069861 A1 (BROWN IAN LEWIS [AU] ET AL) 20 mars 2008 (2008-03-20)	1,2,4-8, 10,12-15	A61K A23L A61P
	* alinéa [0017] - alinéa [0018] * * alinéa [0027] - alinéa [0028] * * alinéa [0040] * * alinéa [0044] * * revendications 1,5,10,11 *		
X	EP 1 776 877 A1 (NUTRICIA NV [NL]) 25 avril 2007 (2007-04-25)	1,2,4-9, 13-15	
	* alinéa [0018] - alinéa [0021] * * alinéa [0032] * * alinéa [0037] - alinéa [0038] * * alinéa [0041] - alinéa [0042] * * exemple 4 * * revendications *		
	----- -/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
29 septembre 2010		Fey-Lamprecht, F	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un		à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date	
autre document de la même catégorie		de dépôt ou qu'à une date postérieure.	
A : arrière-plan technologique		D : cité dans la demande	
O : divulgation non-écrite		L : cité pour d'autres raisons	
P : document intercalaire		.....	
		& : membre de la même famille, document correspondant	

3  
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)



**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement national

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

FA 734213  
FR 1050734

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	US 2007/116826 A1 (PRAKASH INDRA [US] ET AL) 24 mai 2007 (2007-05-24)  * alinéa [0031] - alinéa [0033] * * alinéa [0040] * * alinéa [0044] * * alinéa [0090] * * alinéa [0093] * * alinéa [0885] * * revendications *  -----	1,2, 4-10, 13-15	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
29 septembre 2010		Fey-Lamprecht, F	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... & : membre de la même famille, document correspondant	

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14) 3

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1050734 FA 734213**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 29-09-2010

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2006013588	A1	09-02-2006	BR PI0418986 A	11-12-2007
			CN 101039687 A	19-09-2007
			DE 602004007813 T2	17-04-2008
			ES 2290762 T3	16-02-2008
			JP 2008509131 T	27-03-2008
			US 2009081167 A1	26-03-2009
-----				
WO 2008116700	A1	02-10-2008	AU 2008231922 A1	02-10-2008
			CA 2677636 A1	02-10-2008
			CN 101646445 A	10-02-2010
			EP 1974734 A1	01-10-2008
			EP 2129386 A1	09-12-2009
			US 2010111915 A1	06-05-2010
-----				
WO 2008076696	A2	26-06-2008	EP 2102350 A2	23-09-2009
			US 2010172874 A1	08-07-2010
-----				
US 2008069861	A1	20-03-2008	AU 2007216731 A1	03-04-2008
			EP 1917869 A1	07-05-2008
			JP 2008081501 A	10-04-2008
			KR 20080026039 A	24-03-2008
-----				
EP 1776877	A1	25-04-2007	AR 056145 A1	19-09-2007
			AR 058132 A1	23-01-2008
			AR 058133 A1	23-01-2008
			AR 058136 A1	23-01-2008
			AT 440508 T	15-09-2009
			AT 476877 T	15-08-2010
			AT 432620 T	15-06-2009
			AT 442786 T	15-10-2009
			AU 2006303477 A1	26-04-2007
			AU 2006304992 A1	26-04-2007
			AU 2006304993 A1	26-04-2007
			CA 2620821 A1	26-04-2007
			CA 2626615 A1	26-04-2007
			CA 2626636 A1	26-04-2007
			CN 101272701 A	24-09-2008
			CN 101330837 A	24-12-2008
			CN 101330838 A	24-12-2008
			CN 101360429 A	04-02-2009
			DK 1940247 T3	13-07-2009
			DK 1940250 T3	11-01-2010
EP 1940245 A1	09-07-2008			
EP 1940246 A1	09-07-2008			
EP 1940247 A2	09-07-2008			
EP 1940250 A1	09-07-2008			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1050734 FA 734213**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 29-09-2010

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1776877	A1		EP 2140771 A1	06-01-2010
			EP 2105055 A1	30-09-2009
			WO 2007045502 A1	26-04-2007
			ES 2327781 T3	03-11-2009
			ES 2332064 T3	25-01-2010
			JP 2009512686 T	26-03-2009
			WO 2007046697 A1	26-04-2007
			WO 2007046698 A1	26-04-2007
			WO 2007046699 A2	26-04-2007
			PT 1940245 E	04-01-2010
			PT 1940247 E	09-09-2009
			PT 1940250 E	15-10-2009
			US 2009162323 A1	25-06-2009
			US 2009220639 A1	03-09-2009
			US 2009263537 A1	22-10-2009
			US 2009221486 A1	03-09-2009
-----				
US 2007116826	A1	24-05-2007	AR 056238 A1	26-09-2007
			AU 2006318753 A1	31-05-2007
			CA 2630052 A1	31-05-2007
			EP 1971225 A1	24-09-2008
			JP 2009517032 T	30-04-2009
			WO 2007061860 A1	31-05-2007
-----				