

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①1 N° de publication : **3 078 610**

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

②1 N° d'enregistrement national : **18 70247**

⑤1 Int Cl⁸ : **A 23 L 33/10** (2018.01), A 23 L 33/125, A 23 L 33/
135, A 23 L 33/14, A 23 L 33/21, A 61 K 31/733, A 61 K 35/
744, A 61 K 36/064, A 61 P 1/00, A 61 P 37/00

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤4 COMPOSITION DE PROBIOTIQUES PARTICULIERS ET UTILISATION POUR DIMINUER
LES SYMPTOMES INFLAMMATOIRES DIGESTIFS.

②2 Date de dépôt : 08.03.18.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public
de la demande : 13.09.19 Bulletin 19/37.

④5 Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 21.02.20 Bulletin 20/08.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *ABCD NUTRITION Société à
responsabilité limitée — FR.*

⑦2 Inventeur(s) : *THEBAUDIN JEAN-YVES,
DELAYRE-ORTHEZ CARINE et GADONNA-
WIDEHEM PASCALE.*

⑦3 Titulaire(s) : *ABCD NUTRITION Société à
responsabilité limitée.*

⑦4 Mandataire(s) : *AQUINOV.*

FR 3 078 610 - B1



COMPOSITION DE PROBIOTIQUES PARTICULIERS ET UTILISATION POUR DIMINUER LES SYMPTOMES INFLAMMATOIRES DIGESTIFS

La présente invention se rapporte au traitement des symptômes inflammatoires digestifs et en particulier à une composition associant des probiotiques particuliers capable de limiter ces symptômes à la fois chez des personnes souffrant d'allergie alimentaire avec des symptômes digestifs, chez des personnes atteintes de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), chez des personnes atteintes de la maladie cœliaque et chez des personnes sensibles au gluten non cœliaques pour améliorer leur confort digestif.

L'allergie alimentaire, les MICI, la maladie cœliaque et la sensibilité au gluten non cœliaque (SGNC) sont des pathologies inflammatoires induisant des symptômes digestifs en rapport ou non avec l'ingestion de certains aliments. Les MICI, les allergies alimentaires et la maladie cœliaque sont des dysfonctionnements immunitaires caractérisés par des réponses inflammatoires exacerbées qui peuvent être sans lien direct avec un aliment spécifique (MICI) ou faire suite à l'ingestion de certains aliments (allergies alimentaires et maladie cœliaque). Ainsi, les MICI se caractérisent par une inflammation de la paroi du tube digestif. Lors des poussées inflammatoires, les patients atteints de MICI présentent des symptômes digestifs (douleurs abdominales et diarrhées qui peuvent être sanguinolentes). Les allergies alimentaires sont caractérisées par des réactions anormales du système immunitaire vis-à-vis d'un aliment normalement toléré (appelé alors allergène) qui provoque une inflammation et des symptômes impliquant différents systèmes, dont des symptômes digestifs. La maladie cœliaque est une entéropathie auto-immune à prédisposition génétique induite par la prise de gluten et caractérisée par une réaction anormale du système immunitaire en présence de gluten qui provoque une inflammation et l'atrophie des villosités intestinales, entraînant notamment une malabsorption des nutriments et des symptômes digestifs. La sensibilité au gluten non cœliaque se manifeste par des symptômes qui apparaissent après l'ingestion de gluten et qui se caractérise par des symptômes digestifs semblables à ceux qui sont observés dans les cas de maladie cœliaque. Les mécanismes impliqués dans la sensibilité au gluten non cœliaque sont encore mal définis.

Afin de lutter contre le déclenchement des crises, notamment les réactions indésirables suite à l'ingestion de l'aliment incriminé, la seule intervention recommandée est l'éviction de l'aliment en question. Cette éviction engendre de nombreuses contraintes au quotidien et l'existence de sources cachées rend encore plus difficile le suivi d'un régime d'exclusion efficace.

Les solutions proposées actuellement pour diminuer les symptômes digestifs liés à la sensibilité au gluten sont des enzymes tels que des protéases et des lipases qui favoriseraient la digestion des aliments riches en gluten (marque Glutenil de la société Monapharm et marque Tolérase de la société DSM). Cependant ces enzymes n'ont aucune action sur la réaction inflammatoire induite par le système immunitaire en réaction au gluten.

L'objectif de l'invention est de proposer une solution efficace permettant d'éviter ou limiter les symptômes inflammatoires digestifs, en particulier pour améliorer les conditions de vie des malades présentant une allergie alimentaire, une maladie cœliaque ou une SGNC, notamment en diminuant les symptômes digestifs associés en cas d'exposition accidentelle à l'aliment incriminé ou pour améliorer les symptômes de personnes atteintes de MICI.

Pour y répondre, l'invention vise une composition adaptée à une administration par voie orale comprenant un synbiotique constituée par l'association d'au moins quatre probiotiques particuliers, dont trois souches bactéries probiotiques et une souche de levure probiotique, à savoir :

- *Lactobacillus rhamnosus*,
- *Propionibacterium freudenreichii*,
- *Bifidobacterium longum*, et
- *Saccharomyces cerevisiae boulardii*.

Le synbiotique comprend également un ou plusieurs prébiotiques, en particulier au moins l'inuline.

Les probiotiques et les prébiotiques ont montré, à travers de nombreuses études, leurs effets bénéfiques sur la santé, soit en modulant le microbiote intestinal, soit en modulant les réponses immunitaires (Gibson et al. 2010). Le synbiotique objet de l'invention est composé des probiotiques *Lactobacillus rhamnosus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Bifidobacterium longum* et *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, et préférentiellement également de l'inuline comme prébiotique, qui agissent ensemble sur le microbiote intestinal pour diminuer les symptômes digestifs inflammatoires.

L'invention a donc également pour objet la composition pour son utilisation dans la prévention ou le traitement des symptômes digestifs inflammatoires, en particulier chez des personnes souffrant d'allergie alimentaire avec des symptômes digestifs, chez des personnes atteintes de MICI, chez des personnes atteintes de la maladie cœliaque et chez des personnes sensibles au gluten non cœliaques pour améliorer leur confort digestif.

La composition peut être utilisée en tant que telle ou intégrée dans un aliment ou une boisson. L'invention a par conséquent également pour objet un aliment ou une boisson comprenant cette composition.

D'autres avantages et caractéristiques ressortiront de la description en détails de l'invention qui va suivre.

DEFINITIONS

Par « personne souffrant d'allergie alimentaire avec symptômes digestifs » au sens de l'invention, on entend une personne qui présente des symptômes allergiques notamment digestifs tels que des diarrhées, provoqués par l'ingestion d'un aliment auquel cette personne est sensibilisée, c'est-à-dire présentant des immunoglobulines E (IgE) spécifiques contre cet aliment.

Par « malade cœliaque » au sens de l'invention, on entend une personne souffrant d'intolérance permanente à une ou plusieurs fractions protéiques du gluten, avec des IgA anti-transglutaminase et une atrophie villositaire (rétractation de la muqueuse de l'intestin grêle) en cas d'exposition au gluten.

Par « personne atteinte de MICI » au sens de l'invention, on entend une personne souffrant d'une inflammation de la paroi du tube digestif associée à des douleurs abdominales et des diarrhées accompagnées ou non de saignements. Il peut s'agir en particulier de personnes atteintes de la maladie de Crohn ou de la rectocolite hémorragique.

Par « personne sensible au gluten » (non malade cœliaque) au sens de l'invention, on entend une personne qui présente les symptômes de la maladie cœliaque lors de l'ingestion du gluten à l'exception des complications auto-immunitaires au niveau de la muqueuse intestinale.

Par « prébiotique » au sens de l'invention, on entend un ingrédient alimentaire non digestible au niveau du tractus supérieur qui favorise de manière sélective au niveau du côlon la croissance ou l'activité d'un ou d'un nombre limité de groupes bactériens susceptibles d'améliorer la physiologie de l'hôte » (Gibson 1995 ; Schrezenmeir 2001).

Par « probiotiques » au sens de l'invention, on entend des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte.

Par « souche de bactérie probiotique » au sens de l'invention, on entend une souche bactérienne correspondant à l'ensemble des micro-organismes issus d'une seule cellule (isolée). La souche est conservée en collection et présente les propriétés des probiotiques.

Par « synbiotique » au sens de l'invention, on entend un produit qui contient à la fois un (des) probiotique(s) et un (des) prébiotique(s).

Par « symptômes digestifs » au sens de l'invention, on entend des diarrhées, des douleurs abdominales et/ou une perte du confort digestif.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

L'invention a donc pour objet une composition adaptée à une administration par voie orale comprenant un synbiotique constituée par l'association d'au moins :

- *Lactobacillus rhamnosus*
- 15 - *Propionibacterium freudenreichii*,
- *Bifidobacterium longum*,
- *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, et
- un prébiotique.

La composition selon l'invention comprend préférentiellement au moins 1 milliard CFU de souche(s) de bactéries probiotiques. Encore plus préférentiellement, la composition selon l'invention comprend :

- au moins 1 milliard CFU de *Lactobacillus rhamnosus*, et/ou
- au moins 1 milliard CFU de *Bifidobacterium longum*, et/ou
- au moins 1 milliard CFU de *Propionibacterium freudenreichii*.

25 La composition selon l'invention comprend préférentiellement au moins 1 milliard CFU de levure.

En plus des bactéries et levures probiotiques, le synbiotique comprend également un ou plusieurs prébiotiques. Le ou les prébiotique(s) présent(s) dans la composition selon l'invention sont préférentiellement choisis parmi les oligosaccharides ou polysaccharides extraits de fruits ou de légumes présentant un effet prébiotique, Il s'agit très
30 préférentiellement de l'inuline. L'inuline est un prébiotique formé d'un mélange de

polysaccharides. Elle appartient à la classe des fibres alimentaires appelées fructanes. Il peut s'agir d'inuline extraite de matières premières naturelles en particulier de la chicorée ou d'autres végétaux appartenant à la famille des *Asteraceae* tels que l'artichaut, ou bien d'inuline de synthèse.

5 Le ou les prébiotique(s) représente(nt) préférentiellement entre 10 et 60% en poids de matière sèche de la composition ou entre 350 mg et 2100 mg pour 3500 mg de composition. Selon un mode de réalisation particulièrement adaptée, la composition de l'invention comprend, pour 3500 mg de composition :

- o entre 1000 et 2000 mg d'inuline,
- 10 o entre 4 et 7 milliards CFU de *Lactobacillus rhamnosus*,
- o entre 1 et 4 milliards CFU de *Bifidobacterium longum*,
- o entre 1 et 4 milliards CFU de *Propionibacterium freudenreichii*,
- o entre 1 et 2 milliard CFU de *Saccharomyces cerevisiae boulardii*.

Les valeurs préférées pour une dose/jour/homme sont comprises :

- 15 o entre 1000 mg et 2000 mg pour l'inuline
- o entre 4 et 7 milliards CFU de *Lactobacillus rhamnosus*,
- o entre 1 et 4 milliards CFU de *Bifidobacterium longum*,
- o entre 1 et 4 milliards CFU de *Propionibacterium freudenreichii*,
- o entre 1 et 2 milliard CFU de *Saccharomyces cerevisiae boulardii*.

20 Dans la composition, prébiotique(s), probiotique(s) et levure(s) constituent ensemble un synbiotique dont le rôle est essentiellement d'agir sur la réduction de la réponse inflammatoire et des symptômes digestifs associés en cas d'exposition à l'aliment incriminé dans la maladie de la personne.

La composition selon l'invention peut également comprendre des excipients. Il s'agit d'excipients classiques de l'homme du métier, comme par exemple un support d'atomisation
25 comme la maltodextrine, en fonction de la forme de la composition.

La composition peut en effet se présenter sous différentes formes notamment de poudre, de comprimé ou de gélule.

La composition selon l'invention peut être obtenue par un procédé permettant d'assurer
30 l'homogénéisation et le conditionnement en sachet de la composition selon des conditions A_w et de température qui garantissent la stabilité des probiotiques (survie).

En particulier il peut s'agir d'un procédé mettant en œuvre les étapes suivantes :

- (a) les bactéries probiotiques et la ou les levure(s) probiotique(s) sont séchées par lyophilisation qui met en œuvre la congélation à la température de -10° C et la dépression sous vide (sublimation),
- 5 - (b) Les bactéries probiotique(s) et la ou les levure(s) probiotique(s) et le ou les prébiotiques sont surséchés selon le procédé par lit fluidisé dans un tunnel d'air sec à la température de 20° C de façon à atteindre une activité d'eau (A_w) inférieure à 0,15 pour éviter l'altération des souches de bactéries et de levures.
- 10 - (c) Les bactéries probiotique(s), la ou les levure(s) probiotique(s) et le ou les prébiotique(s) sont mélangés de façon homogène selon un procédé de dispersion de poudre classiquement mis en œuvre en industrie pharmaceutique à une température de 20° C, à une hygrométrie inférieure à 40 %. La composition ainsi obtenue est préférentiellement mise en sachet étanche à l'oxygène de l'air et à l'humidité sous atmosphère contrôlée, c'est-à-dire selon des conditions de température inférieure à 25° C et d'hygrométrie inférieure à 40 % de façon à ne pas altérer la viabilité des souches de probiotiques.

Les sachets de poudre sont ensuite étiquetés et conditionnés en étuis ou bien la poudre peut être utilisée pour la fabrication de gélules ou comprimés.

Les différents constituants de la composition selon l'invention agissent avantageusement de façon combinée en particulier en diminuant la réaction inflammatoire et les symptômes digestifs associés. Elle peut être utilisée chez toute personne souffrant de symptômes digestifs inflammatoires, en particulier chez les personnes souffrant d'allergie alimentaire, chez les malades cœliaques et chez les personnes atteintes de MICI.

Elle peut être utilisée également chez les personnes sensibles au gluten non malades, en particulier non malades cœliaques, pour limiter les symptômes liés à l'exposition à l'aliment incriminé.

La composition selon l'invention est préférentiellement utilisée en tant que telle en particulier comme complément alimentaire ou médicament. Elle peut néanmoins également être utilisée dans des aliments et/ou des boissons, très préférentiellement dans des aliments et/ou boissons sans gluten et sans allergène à étiquetage obligatoire, spécialement développés pour les personnes souffrant d'allergie alimentaire, les malades cœliaques ou les personnes sensibles au gluten. L'invention vise donc également des aliments comme des produits

céréaliers et/ou des boissons comme des jus de fruits ou jus extraits de plantes, comprenant au moins 0,1% en poids de matière sèche d'une composition telle que décrite précédemment.

La composition selon l'invention ne se substitue pas à un régime d'éviction de l'aliment incriminé en cas d'allergie ou du gluten en cas de maladie cœliaque, mais permet de diminuer les symptômes notamment les symptômes digestifs liés à l'inflammation.

L'invention est à présent illustrée par des exemples et des résultats d'essais démontrant l'efficacité de la composition selon l'invention.

EXEMPLES DE COMPOSITIONS

Exemple 1 :

10 L'exemple 1 est un complément alimentaire sous forme de poudre blanche en sachet de 3,5g conditionnée en boîte de 20 sachets. Un sachet contient une association de prébiotique, de bactéries probiotiques et de levures probiotiques.

La composition est la suivante : Excipient (maltodextrine de maïs) surséchée 1420 mg/sachet :

- 1500mg d'inuline,
- 15 ○ 5 milliards CFU de *Lactobacillus rhamnosus*,
- 2 milliards CFU de *Bifidobacterium longum*,
- 2 milliards CFU de *Propionibacterium freudenreichii*,
- 1 milliard CFU de *Saccharomyces cerevisiae boulardii*.

La composition est garantie sans gluten, sans allergène conformément au règlement (UE) N°169/2011.

L'administration est préférentiellement d'un sachet par jour à prendre dilué dans un verre d'eau avant le petit déjeuner, chez la personne présentant des symptômes inflammatoires digestifs.

Le procédé de fabrication comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

25 - surséchage de l'inuline, la maltodextrine et les probiotiques selon le procédé par lit fluidisé dans un tunnel d'air sec à la température de 20° C.

- mélange de façon homogène de l'ensemble des constituants de la composition selon un procédé de dispersion de poudre classiquement mis en œuvre en industrie pharmaceutique à une température de 20° C et à une hygrométrie inférieure à 40 %.

30 - mise en sachet et conditionnement à température inférieure à 25° C et d'hygrométrie inférieure à 40 %.

L'utilisation de produits surséchés (anhydres) ainsi que le choix de la composition des sachets permettent de préserver une activité d'eau (A_w) faible et de prévenir la dégradation des ingrédients en cours de stockage, augmentant ainsi la Date Limite d'Utilisation Optimale (DLUO). Les sachets blancs 70 x 80 mm sont en complexe 3 couches (PE/ALU/PE).

- 5 Avant libération des lots cliniques, des tests de sécurité microbiologique sont effectués sur un échantillon de sachets pris au hasard sur la ligne de production.

Les boîtes sont stockées à 4°C avant utilisation afin d'optimiser les conditions de conservation.

Exemple 2

10 L'exemple 2 est une composition sous forme de barre céréalière sans gluten comprenant par exemple des flocons d'avoine, et/ou de maïs, des billettes de riz, du sirop de glucose, des fruits, des graines, du sucre de canne, de l'huile végétale et un arôme. La barre céréalière est conditionnée en sachet par exemple de 30 g et peut être consommée à tout moment de la journée.

Le mélange actif de la barre céréalière est le même que celui décrit dans l'exemple 1.

- 15 Il y a 10 milliards CFU par barre céréalière de 30 g.

La composition est garantie sans allergène conformément au règlement (UE) N° 169/2011.

Le procédé de fabrication de la barre céréalière enrichie avec la composition n'est différent de celui généralement mis en œuvre que par la maîtrise des conditions de température soit inférieure à 25° C et d'hygrométrie maîtrisée. La teneur en sirop de glucose doit être choisie
20 de façon à atteindre une activité de l'eau au moins inférieure à 0,3.

Exemple 3

L'exemple 3 est un complément alimentaire composé de sirop de glucose, gomme arabique, pâte de fruits, flocons de pommes, farine de riz, pectine, huile végétale, arôme, et de la composition selon l'invention. Le mélange actif est le même que celui de l'exemple 1. Cette
25 formule peut se présenter sous forme de pâte à mâcher de 5 g à consommer tous au long de la journée à raison d'une pâte par jour.

La composition est garantie sans gluten, sans allergène conformément au règlement (UE) N° 169/2011.

Le procédé de fabrication de ce complément alimentaire enrichi avec la composition n'est
30 différent de celui généralement mis en œuvre que par la maîtrise des conditions de

température, inférieure à 25° C et d'hygrométrie maîtrisée. La teneur en sirop de glucose doit être choisie de façon à atteindre une activité de l'eau au moins inférieure à 0,3.

EVALUATION DE L'EFFET DE LA COMPOSITION SELON L'INVENTION DANS UN MODELE MURIN D'ALLERGIE

ALIMENTAIRE

- 5 L'efficacité des compositions selon l'invention a été étudiée dans un modèle d'allergie alimentaire à l'ovalbumine chez la souris adapté du modèle de Castillo-Courtade et al (Castillo-Courtade L, *et al.*, Attenuation of food allergy symptoms following treatment with milk oligosaccharides in a mouse model. *Allergy*, 2015, 70(9) : 1091-1102).
- Des souris mâles Balb/c âgées de trois semaines nourries avec un aliment conventionnel (A04, 10 Safe Diets, France) ont été acclimatées une semaine puis sensibilisées avec 50 µg d'ovalbumine adsorbée sur 2 mg d'hydroxyde d'aluminium comme adjuvant (Sigma-Aldrich, France) à J0 et J7, pour les souris allergiques (groupes OVA et OVASy). Le matin des jours J22, 25, 28, 31, 34 et 37, ces souris ont été provoquées, par voie orale à l'aide d'une sonde gastrique, avec 200 µL d'une solution d'ovalbumine à 250 mg/mL diluée dans du sérum 15 physiologique (soit 50 mg d'ovalbumine), afin de déclencher les symptômes allergiques. Les animaux non allergiques (groupes CTL et CTLSy) ont subi les mêmes interventions mais avec une matrice sans l'allergène.
- Ces animaux ont été traités avec le synbiotique (de l'exemple 1) constituant la composition selon l'invention (groupes CTLSy et OVASy) ou avec un placebo (CTL et OVA). Ainsi, les souris 20 des groupes CTLSy et OVASy ont reçu 100 µL d'une solution contenant le synbiotique (1 gélule dans 2,5 mL de sérum physiologique) par gavage à partir de J17 et ce tous les jours jusqu'à la fin du protocole. Les animaux des groupes CTL et OVA ont reçu une matrice sans synbiotique.

Les différents traitements appliqués sont présentés dans le Tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1 : description des traitements appliqués

Groupe	Sensibilisation allergénique	Provocation allergénique	Traitement	n
CTL	Phy + Adj	Phy	Phy	12
CTLSy	Phy + Adj	Phy	Synbiotique (INVENTION)	14
OVA	OVA + Adj	OVA	Phy	14
OVASy	OVA + Adj	OVA	Synbiotique (INVENTION)	14

Phy = sérum physiologique

OVA = ovalbumine

Adj = adjuvant

5

Aux jours J22, 25, 28, 31, 34 et 37, les animaux ont été exposés à l'allergène ou un placebo. Suite à cette exposition, la réaction allergique (liée à la réaction inflammatoire du système immunitaire face à l'allergène) a été évaluée par l'établissement du score anaphylactique et les symptômes digestifs ont été évalués par l'établissement du score diarrhéique.

10 Les animaux non allergiques n'ont pas présenté de réaction allergique et de symptômes digestifs. Chez les animaux allergiques, ceux qui ont été traités par la composition selon l'invention présentent une diminution de la réaction allergique et une diminution des symptômes digestifs associés. Ces résultats sont synthétisés dans les tableaux ci-dessous. Afin d'améliorer la lisibilité des résultats, seul le groupe contrôle CTL est représenté dans les
15 tableaux sachant que les animaux du groupe CTL et du groupe CTLSy ont obtenu les mêmes scores.

▪ Réaction allergique

L'analyse a montré que le pourcentage cumulé d'animaux ayant une réaction allergique était plus important dans le groupe OVA que dans le groupe OVASy lors des différentes
20 provocations allergéniques. Les scores de la provocation au jour 37 sont présentés dans le Tableau 2 ci-dessous.

- 5 Tableau 2 : Evaluation de la réponse allergique par détermination du score anaphylactique au J37. Les valeurs représentées sont les pourcentages d'animaux pour chaque grade de score (0 : Pas de symptômes ; 1 : Grattage et frottements autour du nez et de la tête, poils hérissés ; 2 : Grattage et frottements autour du nez et de la tête, poils hérissés, activité réduite ; 3 : Grattage et frottements autour du nez et de la tête, poils hérissés, activité réduite, respiration accélérée et gonflement des yeux ; 4 : Choc anaphylactique)

	0	1	2	3	4
CTL	100%	0%	0%	0%	0%
OVA	29%	21%	36%	14%	0%
OVASY	64%	0%	36%	0%	0%

A la 6ème provocation (J37), 71% des animaux OVA ont eu une réponse allergique, dont 21% d'intensité 1, 36% d'intensité 2 et 14% d'intensité 3, contre 36% d'intensité 2 chez les animaux OVASy.

Ces observations ont montré que de manière générale, les animaux ayant reçu le synbiotique selon l'invention pendant la période de provocation (OVASy) avaient moins de symptômes que les animaux allergiques sans synbiotique (OVA) et souvent de moins fortes intensités.

10 **▪ Score diarrhéique**

Les provocations n° 1 à 3 n'ont pas entraîné de modifications de la consistance des fèces, les scores diarrhéiques sont d'intensité 0 pour l'ensemble des animaux. Aussi, seules les provocations n°4 à 6 sont représentées dans le Tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3 : Evaluation des symptômes digestifs associés à la réponse allergique par détermination du score diarrhéique aux J31, J34 et J37. Les valeurs représentées sont les pourcentages d'animaux pour chaque grade de score (0 : selles solides ; 1 : selles humides ; 2 : selles humides et retenues en péri-anal ; 3 : Selles liquides (diarrhée) ; 4 : Selles liquides (diarrhée) avec présence de mucus)

5

	J31 (provocation 4)				
	0	1	2	3	4
CTL	100%	0%	0%	0%	0%
OVA	57%	14%	7%	21%	0%
OVASy	93%	0%	7%	0%	0%

	J34 (provocation 5)				
	0	1	2	3	4
CTL	100%	0%	0%	0%	0%
OVA	36%	21%	21%	14%	7%
OVASy	50%	0%	29%	14%	7%

	J37 (provocation 6)				
	0	1	2	3	4
CTL	100%	0%	0%	0%	0%
OVA	21%	0%	43%	0%	36%
OVASy	36%	0%	36%	0%	29%

L'apparition des diarrhées est survenue à partir de la provocation n°4 et s'est poursuivie jusqu'à la provocation n°6, avec un nombre d'animaux et une intensité de réponse croissante pour les deux groupes. A la provocation n°4, 42% des animaux OVA ont eu des symptômes diarrhéiques de grade 1 à 3 contre seulement 7% de grade 2 chez les animaux OVASy.

10 Concernant la provocation n°5, 64% des animaux OVA ont exprimé des symptômes diarrhéiques contre 50% des animaux OVASy. Enfin, à la dernière provocation, 35% des animaux OVASy restent sans symptômes contre 21% des animaux OVA. De plus, le niveau d'intensité de diarrhée est également plus important chez les animaux du groupe OVA (grade 2: 43%; grade 4: 36%) que ceux du groupe OVASy (grade 2: 36%; grade 4: 29%).

15 L'observation des fèces a montré que l'apparition des diarrhées du groupe ayant reçu le synbiotique (OVASy) était retardée par rapport au groupe allergique sans synbiotique. Au fil des provocations, l'intensité moyenne de réponse devient presque identique mais, de manière générale, le nombre d'animaux par intensité de réponse reste plus faible pour le groupe OVASy.

Ces résultats montrent que la composition objet de l'invention permet de limiter l'apparition de la réaction inflammatoire et des symptômes digestifs associés, en particulier suite à une exposition à un aliment allergène, et permet également de réduire l'intensité de ces symptômes.

REVENDEICATIONS

1. Composition adaptée à une administration par voie orale comprenant un synbiotique constituée par l'association d'au moins :
 - o *Lactobacillus rhamnosus*
 - o *Propionibacterium freudenreichii*,
 - 5 o *Bifidobacterium longum*,
 - o *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, et
 - o un prébiotique.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le prébiotique est l'inuline.
- 10 3. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que pour 3500 mg de composition, elle comprend :
 - o au moins 1500 mg d'inuline,
 - o au moins 5 milliards CFU de *Lactobacillus rhamnosus*,
 - o au moins 2 milliards CFU de *Bifidobacterium longum*,
 - 15 o au moins 2 milliards CFU de *Propionibacterium freudenreichii*,
 - o au moins 1 milliard CFU de *Saccharomyces cerevisiae boulardii*.
4. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de poudre, de comprimé ou de gélules.
5. Composition selon l'une des précédentes revendications pour une utilisation dans la
20 prévention ou le traitement des symptômes digestifs inflammatoires.
6. Composition pour une utilisation selon la précédente revendication pour le traitement des malades cœliaques ou des malades atteints de MICI ou des malades présentant une allergie alimentaire avec symptômes digestifs inflammatoires.
7. Aliment ou boisson comprenant au moins 0,1% en poids de matière sèche d'une
25 composition selon l'une des revendications 1 à 4.
8. Composition selon l'une des revendications 1 à 4 pour une utilisation comme complément alimentaire.
9. Composition selon l'une des revendications 1 à 4 ou aliment ou boisson en contenant
pour une utilisation pour améliorer le confort digestif et/ou réduire la sensibilité au gluten de
30 personnes non malades cœliaques mais sensibles au gluten.

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

**1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN
CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION**

EP 2 385 837 A2 (PFIZER ITALIA SRL [IT])
16 novembre 2011 (2011-11-16)

ANGÉLICA T. VIEIRA ET AL: "The Role of
Probiotics and Prebiotics in Inducing Gut
Immunity",
FRONTIERS IN IMMUNOLOGY,
vol. 4, 1 décembre 2013 (2013-12-01),
XP055543340,
DOI: 10.3389/fimmu.2013.00445

PAPISTA C ET AL: "Gluten induces
coeliac-like disease in sensitised mice
involving IgA, CD71 and transglutaminase 2
interactions that are prevented by
probiotics",
LABORATORY INVESTIGATION, NATURE
PUBLISHING GROUP, THE UNITED STATES AND
CANADIAN ACADEMY OF PATHOLOGY, INC,
vol. 92, no. 4, 1 avril 2012 (2012-04-01),
pages 625-635, XP002725519,
ISSN: 0023-6837, DOI:
10.1038/LABINVEST.2012.13
[extrait le 2012-02-13]

US 2010/074871 A1 (RUSSELL WILLIAM MICHAEL
[US] ET AL) 25 mars 2010 (2010-03-25)

FR 3 001 633 A1 (INNEOV LAB [FR])
8 août 2014 (2014-08-08)

FR 3 030 253 A1 (LABORATOIRES INNEOV [FR])
24 juin 2016 (2016-06-24)

J.K. COLLINS ET AL: "Selection of
Probiotic Strains for Human Applications",
INTERNATIONAL DAIRY JOURNAL,
vol. 8, no. 5-6, 1 mai 1998 (1998-05-01),
pages 487-490, XP055543290,
GB
ISSN: 0958-6946, DOI:
10.1016/S0958-6946(98)00073-9

PANDEY KAVITA R ET AL: "Probiotics,
prebiotics and synbiotics- a review",
JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY,
SPRINGER (INDIA) PRIVATE LTD, INDIA,
vol. 52, no. 12,
22 juillet 2015 (2015-07-22), pages
7577-7587, XP035965691,

ISSN: 0022-1155, DOI:
10.1007/S13197-015-1921-1
[extrait le 2015-07-22]

Indu Pal Kaur ET AL: "Probiotics:
potential pharmaceutical applications",
European Journal of Pharmaceutical
Sciences,
1 janvier 2002 (2002-01-01), pages 1-9,
XP055543286,
Netherlands
DOI: 10.1016/S0928-0987(01)00209-3
Extrait de l'Internet:
URL: https://ac.els-cdn.com/S0928098701002093/1-s2.0-S0928098701002093-main.pdf?_tid=6e755dd2-9fd0-429c-aba4-95fa86554d86&acdna t=1547655525_00a37f5317d79b7b1e161e410791b231

L. F. DE SOUSA MORAES ET AL: "Intestinal
Microbiota and Probiotics in Celiac
Disease",
CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS.,
vol. 27, no. 3, 30 juin 2014 (2014-06-30),
pages 482-489, XP055543269,
US
ISSN: 0893-8512, DOI: 10.1128/CMR.00106-13

VRESE M DE ET AL: "Probiotics,
prebiotics, and synbiotics",
ADVANCES IN BIOCHEMICAL ENGINEERING,
BIOTECHNOL, SPRINGER, BERLIN, DE,
vol. 111, 1 janvier 2008 (2008-01-01),
pages 1-66, XP008108606,
ISSN: 0724-6145, DOI: 10.1007/10_2008_097
[extrait le 2008-05-07]

MAHBOUBE GANJI-ARJENAKI ET AL:
"Probiotics are a good choice in remission
of inflammatory bowel diseases: A meta
analysis and systematic review",
JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY,
vol. 233, no. 3, 3 mai 2017 (2017-05-03),
pages 2091-2103, XP055543325,
US
ISSN: 0021-9541, DOI: 10.1002/jcp.25911

RICARDO DIAS ET AL: "Interaction study
between wheat-derived peptides and
procyanidin B3 by mass spectrometry",
FOOD CHEMISTRY,
vol. 194, 1 mars 2016 (2016-03-01), pages
1304-1312, XP055543344,
NL
ISSN: 0308-8146, DOI:
10.1016/j.foodchem.2015.08.108

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN

TECHNOLOGIQUE GENERAL

NEANT

**3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND
DE LA VALIDITE DES PRIORITES**

NEANT