(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 374 082**

(51) Int. Cl.:
A61K 35/74 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **07817985 .0**
(96) Fecha de presentación: **08.10.2007**
(97) Número de publicación de la solicitud: **2101796**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **23.09.2009**

(54) Título: **CEPA DE BACILLUS SMITHII TBMI 12 MSCL P737 Y USO DE ENDOSPORAS DE LA MISMA CON UN PROBIÓTICO O UN SUPLEMENTO ALIMENTARIO.**

(30) Prioridad:
08.12.2006 EE 200600038

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.02.2012

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.02.2012

(73) Titular/es:
TARTU ÜLIKOOL (UNIVERSITY OF TARTU)
ÜLIKOOLI 18
50090 TARTU, EE

(72) Inventor/es:
JÖGI, Eerik;
NURK, Allan;
SUITSO, Indrek;
TALPSEP, Ene;
NAABER, Paul y
LÕIVUKENE, Krista

(74) Agente: **Diéguez Garbayo, Pedro**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 374 082 T3

DESCRIPCIÓN

Cepa de *Bacillus smithii*TBMI12 MSCL p737 y uso de endosporas de la misma como un probiótico o un suplemento alimentario

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La invención pertenece al campo de la biotecnología y se refiere a una cepa bacteriana probiótica que puede usarse para prevenir infecciones bacterianas del tracto gastrointestinalde animales vertebrados y para estimular sus sistemas inmunitarios.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La idea de usar el antagonismo entre bacterias contra patógenos data de los tiempos de Listery Fleming. Administrar microbios vivos para colonizar el tracto gastrointestinal, para estimular el sistema inmunitario o con propósitos antibacterianos es una idea mucho más reciente. Los microorganismos vivos administrados oralmente que benefician al organismo que los consume se denominan probióticos(Martins, F. S. et ál. (2005) Screening of yeast asprobiotic based on capacities to colonize the gastrointestinaltract and to protect against enteropathogen challengein mice. J. Gen. Appl. Microbiol. 51: 83-92). Tradicionalmente, estos son originarios del género*Lactobacillus*.Desgraciadamente, el uso satisfactorio de lactobacilos como probióticosestá dificultado por la muerte masiva de los microbiosdebido al ácido gástrico y la bilis (Spinosa, M.R. et ál. (2002)On the fate of ingested Bacillus spores. Res. Microbiol.151: 361-368). Sin embargo, si se usan esporas en lugar de célulasvegetativas, su grado de supervivencia es considerablemente superior. Al mismo tiempo, las preparaciones administradas en forma de esporas no son menos eficaces que las preparaciones administradas en forma vegetativa. Más bien, la posibilidad de conservar las esporas durante un período de tiempo ilimitado es una ventaja y así la administración de esporas se ha convertido en una alternativa al uso de antibióticos en la agricultura(Wolken, W.A.M. et ál. (2003) What can spores do forus? Trends in Biotechnology. 21: 338-345). Esporas de los representantes del género*Bacillus*, tales como*B. clausii*, *B. subtilis, B. pumilus*y*B. cereus,*se usan principalmente con propósitos profilácticos y terapéuticos (Duc,L.H. et ál. (2004) Characterization of Bacillus probioticsavailable for human use. Appl. Environ Microbiol. 70:2161-2171).

Lo que ha despertado interés es la posibilidad de usar una combinación de endosporas de *Bacillus* sp. y antibióticospara luchar contra infecciones. Esta práctica es común en el sudeste asiático, ya que reduce las complicaciones del tratamiento con antibióticos. Como norma, las endosporas usadas sonasimismo resistentes al antibiótico pertinente. Una desventaja de tal técnica es la proliferación de genes de resistencia a antibióticos.

La técnica anterior más próxima de la presente invención implica la bacteriaesporógena*Bacillus coagulans*,que se usa como un aditivo probiótico en piensos para animales(WO 93/14187, Adami A. et ál., 1993), y una combinación de microorganismos y esporas de *Bacillus subtilis*y/o*Bacillus clausii*probióticos no esporógenos para uso farmacéutico, dietéticoy/o nutracéutico (EP1405641A2,Dondi G., 2004). Estos experimentos son habitualmente indirectos:el efecto probiótico se prueba originalmente in vitro (EP1107772, Farmer, Sean. Probiotic, lactic acid-producingbacteria and uses thereof 1999) o simplemente se mide la ganancia de peso positiva de animales de prueba (Adami, A., et ál. (1993) A bacterial strain of the species Bacillus coagulans:its use as a probiotic agent. PCT/EP93/0030).

DIVULGACIÓN DE LA INVENCIÓN

Los objetos dela presente invención son la cepa del microorganismo*Bacillus smithii*TBMI12 MSCLP737 y la composición que comprende dicha cepa,composición para el uso, como un probiótico con propósitos antibacterianos,para colonizar el tracto gastrointestinal y para estimular el sistema inmunitario, así como el uso de dicha cepa como un suplemento alimentario y como un componente en la composición probiótica terapéutica y no terapéutica.

El objeto de esta invención - *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 - se aisló de las heces de un hombre adulto sano. La cepa obtenida se aisló en el proceso de descripción de la composición microbiológica de las heces en las que se probaba la existencia de especies de *Bacillus* sp. termófilas. La muestra fecal reciente se diluyó diez veces en solución de NaCl al 0,9% y se suspendió. La suspensión obtenida se calentó a 85°C durante 15 minutos para eliminar células vegetativas. La muestra calentada se cultivó sobre un medio con la composición especificada en (Michelson, T.; Kask, K.; Jõgi, E.;Talpsep, E.; Suitso, I.; Nurk, A. (2006). 1(+)-Lactic acidproducer Bacillus coagulans SIM-7 DSM 14043 and itscomparison with Lactobacillus delbrueckii ssp. lactisDSM 20073. Enzyme and Microbial Tech). Las placas con el grado deinoculación 100 µl se incubaron a 55°Cdurante 24 h. Se elaboró una suspensión (Tween80 al 0,2%) de diferentes diluciones de las colonias obtenidas y, al cultivarla sobre el medio mencionado anteriormente, se obtuvo un cultivo puro purificado de *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737.

Cultivo y características morfológicas. Las colonias dela cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCLP737 tienen una superficie convexa de bordes rectos y una consistencia muygelatinosa. El diámetro de las colonias incoloras (sin pigmento)es aprox. 5 mm. Las bacterias cilíndricas Gram positivas están habitualmente desagregadas, pero en caso de estrés también forman cadenas. Las células son móviles y forman endosporas subterminales.

Características fisiológicas y bioquímicas. La cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737crece sobre monosacáridos tales como glucosa, galactosa,fructosa, xilosa y arabinosa; sobre disacáridos tales como sacarosa, maltosa, lactosa; y sobre polisacáridos tales como almidón. En cuanto al tipo de metabolismo, la cepa es una bacteria de ácido láctico aerotolerante: fermenta carbohidratosen ácido láctico sin liberar dióxido de carbono.Debido a la existencia de catalasa, es tolerante a oxígeno.

Temperatura de crecimiento. La cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 crece a un amplio intervalo de temperaturas desde temperatura ambiente hasta 55°C. 40 minutosde calentamiento a 85°C no dañan las endosporas oinfluyen en su germinación.

Identificación. La cepa*Bacillus smithii*TBMI12 MSCL P737 se identificó basándose en la secuencia del gen rRNA 16S (Nº de Registro del GenBank EF010852). Los parientes más cercanos eran*Bacillus smithii*R-71170 con un 99% de similitud, *Bacillus smithii* JCM9076con un 96% de similitud y*Bacillus eolicus* 4-1T con un95% de similitud.

Desdeel 19.10.2006, la cepa*Bacillus smithii*TBMI12 MSCL P737 está depositada en la Microbial StrainCollection of Latvia (MSCL) bajo en número P737.

Bacillus smithii TBMI12 MSCL P737 proporciona una oportunidad interesante, ya que debido a su tipo de metabolismo, la cepa es resistente a metronidazol. Esto hace posible usar la cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCLP737 sin marcadores de resistencia adicionales en el tratamiento de infecciones del tracto gastrointestinal inducidas por*Clostridium difficile*, ya que la *Clostridium difficile*mencionada anteriormente es sensible a metronidazol y este antibiótico se usa habitualmente para el tratamiento. Además de este antibiótico, en principio es posible usar otros antibióticos junto con la cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCLP737.

La cepade acuerdo con la presente invención se usa con los siguientes propósitos.

Colonización del tracto gastrointestinal con propósitos antibacterianos.

Clostridium difficile, que es parte de la microfloranormal de los seres humanos, es generalmente inocua. Sin embargo, puede provocar colitispseudomembranosa después del tratamiento con antibióticos que deteriora el equilibrio de la microflora del tracto gastrointestinal. Para evitar la proliferación de*Clostridium difficile*y la enfermedad consiguiente, el tracto gastrointestinal debe colonizarsepreventivamente con una bacteria probiótica, tal comola cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737,que puede sobrevivir al tratamiento con antibióticos en forma de endosporas.

Colonización del tracto gastrointestinal a fin de proporcionar resistencia a la enfermedad y prevenir infecciones bacterianas.

La infección por *Salmonella* habitualmente es transmitida por el aire. Las bacterias que han entrado en el tracto gastrointestinal se unen a la pared del intestino, la atraviesan y son arrastradas por todo el cuerpo por la sangre. En el hígado las bacterias se replican y posteriormente se mueven de nuevo al intestino donde inducen diarrea. Los animales domésticos y las aves enfermos pueden infectar a las personas a través de los huevos y la carne.

Aunque la enfermedad habitualmente no es mortal para los seres humanos (solo 2% de las personas infectadas necesita tratamiento con antibióticos), la colonización preventiva del tracto gastrointestinalde seres humanos, animales domésticos y aves conla cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 es más razonable que contraer la enfermedad.

Uso con el propósito de estimular el sistema inmunitario.

Mantener a los animales en condiciones higiénicas reduce el riesgo de infecciones por patógenos. Desgraciadamente, esto también tiene un efecto secundario negativo: el sistema inmunitario se habitúa a las condiciones estériles y un contacto incluso accidental con un microorganismo habitualmente no patógeno puede provocar enfermedad. Para evitar esto, el sistema inmunitario debe estar expuesto constantemente a inmunógenos.La administración de endosporas de la bacteriaprobiótica *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 permite mantener el sistema inmunitario constantemente listo para luchar contra los patógenos.

Uso como un suplemento alimentario.

La cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737puede usarse como un suplemento alimentario en la forma tanto de células vegetativas como de endosporas. Las células vegetativas deben liofilizarse antes de la administración. Se prefiere la administraciónde la cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 en forma de endosporas ya que permite alcanzar el máximo efecto probiótico y, al mismo tiempo, las endosporas pueden conservarse fácilmente. Se prefiere el uso deendosporasen forma de preparaciones secas. En tal caso, básicamente tampoco hay limitaciones en cuanto a los excipientes de la preparación, ya que las células en una forma inactiva, tal como endosporas, toleran condiciones extremas(alta concentración de azúcares, bajo pH, conservación a largo plazo, conservantes).

Uso como un componente de composiciones probióticas.

Pueden usarse células vegetativas oendosporas de*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 como un componente en composiciones probióticas. La función de los excipientes esfacilitar la producción, la conservación y laadministración, así como soportar el efecto probiótico de*Bacillus smithii*TBMI12 MSCL P737.

Uso externo con propósitos antibacterianos.

El antagonismo entre bacterias puede usarse para higienizar la superficie externa del organismo huésped de bacterias dañinas. Los que es notable es el hecho de que, a diferencia de la esterilización química o física que destruye no selectivamente toda la microflora, el antagonismo entre bacterias funciona selectivamente. Esto significa que es posible suprimir patógenos potenciales sin perturbar la microflora normal.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Fig.1. El número (■) de*Bacillus smithii* TBMI12MSCL P737 (n=5) con error estándar en las heces de hámsteres (CFU/g) después del tratamiento con antibiótico (3 mg de ampicilina/hámster), la inoculación con *Clostridium difficile*VPI 10463 (10^4 células) y el tratamiento con la cepa probiótica *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737(1 x 10^8endosporas; al 2º, 3º y 4º día).

Fig.2. Transcurso de la infección con *Salmonella*en ratones. Infecciones con el patógeno*Salmonella Enteritidis*silvestre en ratones no colonizados (◆) y aquellos colonizados (■) con endosporas de *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 se detectó a partir de muestras de heces, hígado o bazo cultivadas en una placa de XLD de acuerdo con las CFU.

Fig.3. Valores medianos del número de *Clostridium difficile* VPI 10463 con error estándar a partir de las heces de los animales de prueba (CFU/g). Los ratones que recibían un tratamiento combinado con metronidazol + *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 (10^8) (n=5) (■)y los ratones tratados solo con metronidazol (□).El valor p el día 2º y 4º indica la significación estadística de la diferencia.

DESCRIPCIÓN DE UNA REALIZACIÓN

1. Colonización del tracto gastrointestinal con propósitos antibacterianos.

A fin de demostrar en un experimento in vivo la capacidad de *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 para colonizar satisfactoriamente el tracto gastrointestinal de animales vertebrados, se usaron hámsteres (*Mesocritus auratus*) comoanimales de prueba.

La microflora de hámsteres normales se deterioró mediante 3 mgde ampicilina administrada intragástricamente. Después de 24 horas, los animales de prueba fueron infectados con células (~10^5) de*Clostridium difficile*cepa VPI 10463. A la mitad de los hámsteresse les administraron endosporas de *Bacillus smithii* TBMI12 MSCLP737 (~10^8) dos horas antes de la infección. Además, se administró la misma dosis al mismo grupo de hámsteres 24 y 48 horas más tarde. Los hámsteres que no eran administrados y así no eran colonizados conla cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 morían en 48horas, mientras que los hámsteres colonizados sobrevivían. *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 todavía colonizaba el tracto gastrointestinaldurante un mes después de la administración(Fig.1). El resultado es particularmente valioso ya que los hámsteres son especialmente vulnerables a la toxina de*Clostridium difficile*y esta bacteria (*Bacillus smithii* TBMI12 MSCLP737) no es parte de su microflora normal.Con este experimento, se demostró que *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 es capaz de colonizar el tractogastrointestinal durante un período prolongado y así prevenir la infección por*Clostridium difficile*en hámsteres.

2. Colonización del tracto gastrointestinal a fin de proporcionar resistencia a la enfermedad y prevenir infecciones bacterianas

Para la colonización persistente del tracto gastrointestinalde ratones (*Mus musculus* BALB/c), tres dosis (~10^8) deendosporas del probiótico*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 se administraron intragástricamente cada 24 horas. El tercer día después de la última dosis, los animales de prueba fueron inoculados concélulas de *Salmonella*

Enteritidis silvestre (~10^6). Dos semanas más tarde era posiblecultivar células de *Salmonella Enteritidis*procedentes de las muestras de hígado, bazo y heces de solo 40% de los animales de prueba.60% de los animales de prueba no se infectaban con*Salmonella*.El grupo de control no se colonizaba conla cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 y solo se administraban células de *Salmonella Enteritidis* silvestre (~10^6). Todos estos ratones se infectaban. El curso de la enfermedad se frenaba considerablemente: ratones infectados que se habían colonizado conla cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCLP737 mostraban síntomas solo el 10º día después de la infección, mientras que era posible detectar células de*Salmonella Enteritidis*en las heces de ratones no colonizados ya el primer día después de la infección. El experimento descrito anteriormente es ilustrado por la Fig.2. Debido al curso más lento de la enfermedad es posible tomar medidas para luchar contra la infección y para facilitar la afección patológica. Es posible concluir sobre la base de los experimentos que el uso dela cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 como un agente probiótico permite prevenir la infección por *Salmonella*y frenar el curso de la enfermedad.

3. Uso con el propósito de estimular el sistema inmunitario

A fin de estimular el sistema inmunitario de ratones, tres dosis (~10^8) deendosporas dela cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 se administraronintragástricamente cada 24 horas. Cuatro horas después de la última dosis los animales de prueba fueron infectados con células de *Salmonella Enteritidis*silvestre (~10^6). Debido a la estimulación previa del sistema inmunitario, los animales de prueba no eran infectados con*Salmonella*. Era posible detectar células de*Salmonella Enteritidis*por primera vez solo el 10º día después de la inoculación y en las heces de solo 10% de los animales de prueba.En total, solo 40% de losanimales de prueba colonizados con endosporas de *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 se infectaban con*Salmonella*. En el grupo de control, lossistemas inmunitarios de los ratones no eran estimulados con endosporas dela cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 y solo se administraban células de *Salmonella Enteritidis*silvestre (~10^6).100% de estos ratones se infectaban. Asimismo, se aceleraba el curso de la enfermedad: era posible detectar*Salmonella Enteritidis*en 30% de las heces de ratones no colonizados ya el primer día después de la inoculación. De acuerdo con esto, laadministraciónrepetida de endosporas de la cepa de bacteria probiótica *Bacillus smithii* TBMI12MSCL P737 estimula elsistema inmunitario suficientemente para proporcionar una protección significativa contra la infección por *Salmonella*.

4. Uso como un alimento y suplemento alimentario

Ratones y hámsteres se alimentaron con endosporas de *Bacillus smithii*TBMI12 MSCL P737 en diferentes concentraciones y se observó su efecto sobre losanimales de prueba.No aparecía un efecto perjudicial. Al mismo tiempo, eran evidentes los resultados positivos: la microflora de losanimales de prueba que se ha alterado con el tratamiento con antibióticos podía restaurarse y los animales de pruebaeran mucho más resistentes a infeccionesbacterianas del tracto gastrointestinal, ya que las endosporas de *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 han estimulado sus sistemas inmunitarios de antemano.De acuerdo con esto, la cepa de bacteria probiótica*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 es adecuada para usar como un alimento y/o suplemento alimentario.

5. Uso como un componente de composiciones probióticas

A fin de administrar a los ratones y hámsteres endosporas de*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737, se elaboró una composición probiótica de las últimas y agua desionizada a través de ósmosis inversa. La composición probióticacontenía de 10^6a 10^{10}endosporas por 1 ml de solución. Esto facilitaba considerablemente las cuestiones de la conservación y laadministración. Debido a laadministraciónde la composición que contenía la cepa*Bacillus smithii* TBMI12 MSCLP737, se incrementaba la resistencia de los animales de prueba a infecciones bacterianas del tracto gastrointestinal. De acuerdo con esto, la cepa bacteriana probiótica*Bacillus smithii* TBMI12MSCL P737 es adecuada para el uso como el componente decomposiciones probióticas.

6. Uso externo con propósitos antibacterianos

Para demostrar la antibiosis entre*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 y otras bacterias, se realizaron experimentos in vitro. En primer lugar, las células de*Bacillus smithii*TBMI12 MSCL P737 se hicieron crecer sobreplacas de PDA (Fluka)a 55°C y subsiguientemente se cultivaron bacterias de diferentes especies radialmente alrededor de ellas. El experimento implicaba

*Bacillus cereus, Aeromonas hydrophila, Erwinia carotovora, Pseudomonas fluorescens, Serratia marcesens, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus, Proteus vulgaris, Salmonella Typhimurium*y *Salmonella Enteritidis*.Posteriormente, las placas se incubaron a 30°C.75% de las especiesbacterianas implicadas en el experimento mostraba inhibición cerca de la colonia de *Bacillus smithii*TBMI12 MSCL P737. Debe apuntarse que esas especies incluían varios patógenos, tales como*Salmonella Enteritidis*, *SalmonellaTyphimurium, Staphylococcus aureus*. Al mismo tiempo, el 25% cuyo crecimiento no era inhibido por *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 incluía especies de la microflora norma, tales como*Escherichia coli*.

De acuerdo con esto, existe antibiosis realizada entre*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 y otras bacterias,que hace

posible usar*Bacillus smithii* TBMI12MSCL P737 externamente con propósitos antibacterianos.

7. Uso de una composición probiótica en interacción con antibióticos

Para demostrar la interacción positiva de endosporas de *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 con antibióticos se realizó un experimento in vivo con ratones(BALB/c). Antes de la infección con la cepa tóxica*Clostridum difficile* VPI 10643, los ratones necesitaban un tratamiento de 5 días con cefoxitina para debilitar la microflora de losanimales de prueba.Después de la inoculación conla cepa*Clostridum difficile* VPI10643, los ratones se dividieron en dos grupos. Al primer grupo de ratones se le administró metronidazol para tratar*Clostridium difficile* (24 h después de la inoculación; 15 mg/kg),y al otro grupo de ratones se le administraron endosporas de*Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737 (10^8endosporascon cada dosis de antibióticos 15 mg/kg) además de metronidazol.

El experimento revelaba que en el caso de los ratones que recibían un tratamiento combinado (metronidazol + *Bacillus smithii* TBMI12 MSCL P737), el número de *Clostridium difficile*en las heces se reducía más de 10 veces (Fig.3). Así, laadministracióndeendosporas de *Bacillus smithii* TBMI12MSCL P737 tiene potencial para el uso en el tratamiento con antibióticos.

Los usos de esta invención no están limitados a los ejemplos descritos en la presente memoria; también son posibles otras realizaciones.

REIVINDICACIONES

1. La cepade microorganismo*Bacillus smithii* TBMI12MSCL P737.

2. Uso dela cepade microorganismode acuerdo con la reivindicación 1, como un alimento y/o suplemento alimentario.

3. La cepade microorganismode acuerdo con la reivindicación 1, como un componente para el uso en composiciones probióticas terapéuticas.

4. Uso dela cepade microorganismode acuerdo con la reivindicación 1, como uncomponente en composiciones probióticas no terapéuticas.

5. Una composición que comprende la cepade microorganismode acuerdo con la reivindicación 1.

6. Una composiciónde acuerdo con la reivindicación 5, que comprende además uno o más antibióticos.

7. Una composiciónde acuerdo con la reivindicación 6, en la que el antibiótico mencionado es metronidazol.

8. Composiciónde acuerdo con la reivindicación 5, para el uso como un probiótico con el propósito de colonizar el tracto gastrointestinal.

9. Composiciónde acuerdo con la reivindicación 5, para el uso como un probiótico con el propósito de prevenir infecciones bacterianas del tracto gastrointestinal.

10. Composiciónde acuerdo con la reivindicación 5, para el uso como un probiótico para estimular elsistema inmunitario.

11. Composiciónde acuerdo con la reivindicación 5, para uso externo como una medicina con propósitos antibacterianos.

12. Composiciónde acuerdo con la reivindicación 5, para el uso como una medicina para reducir o eliminar deficiencias y efectos secundarios provocados por el tratamiento con antibióticos.

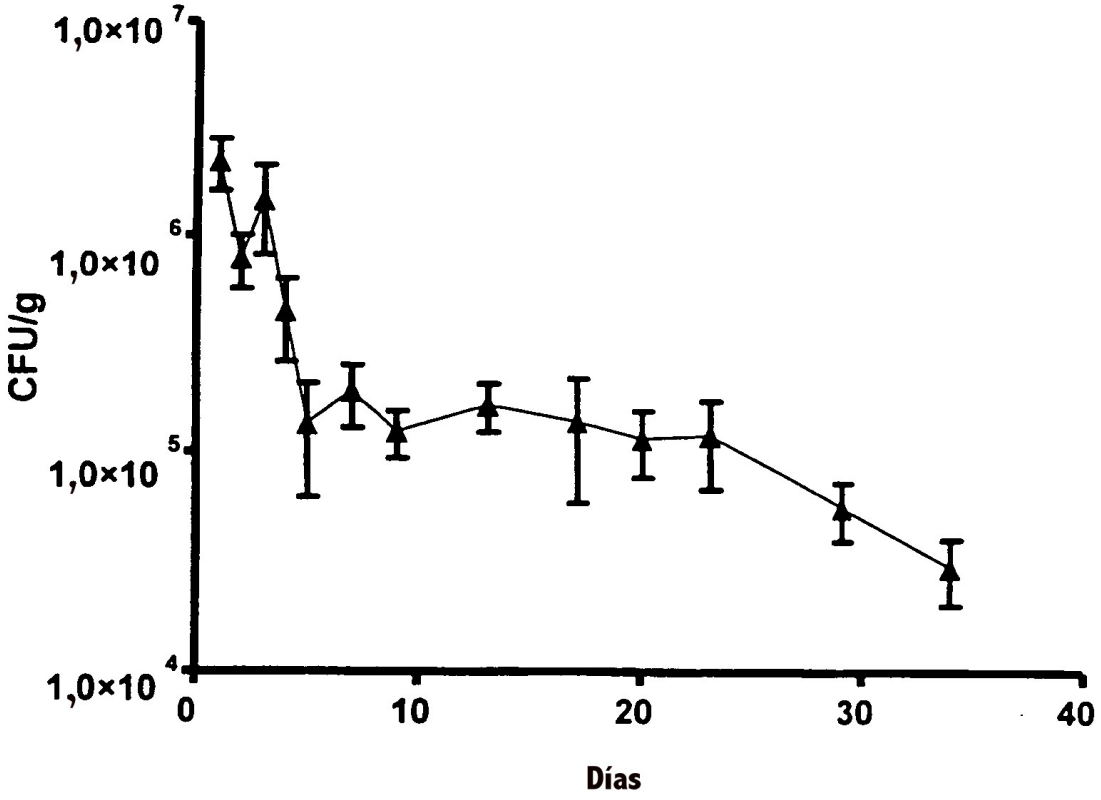

Fig.1

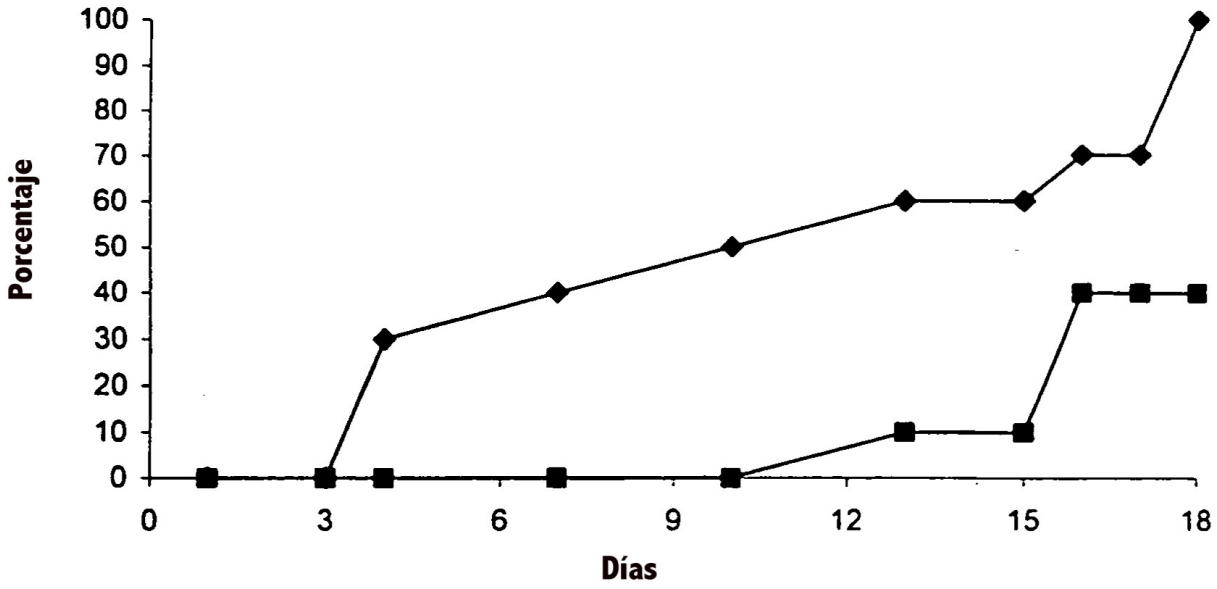

Fig.2

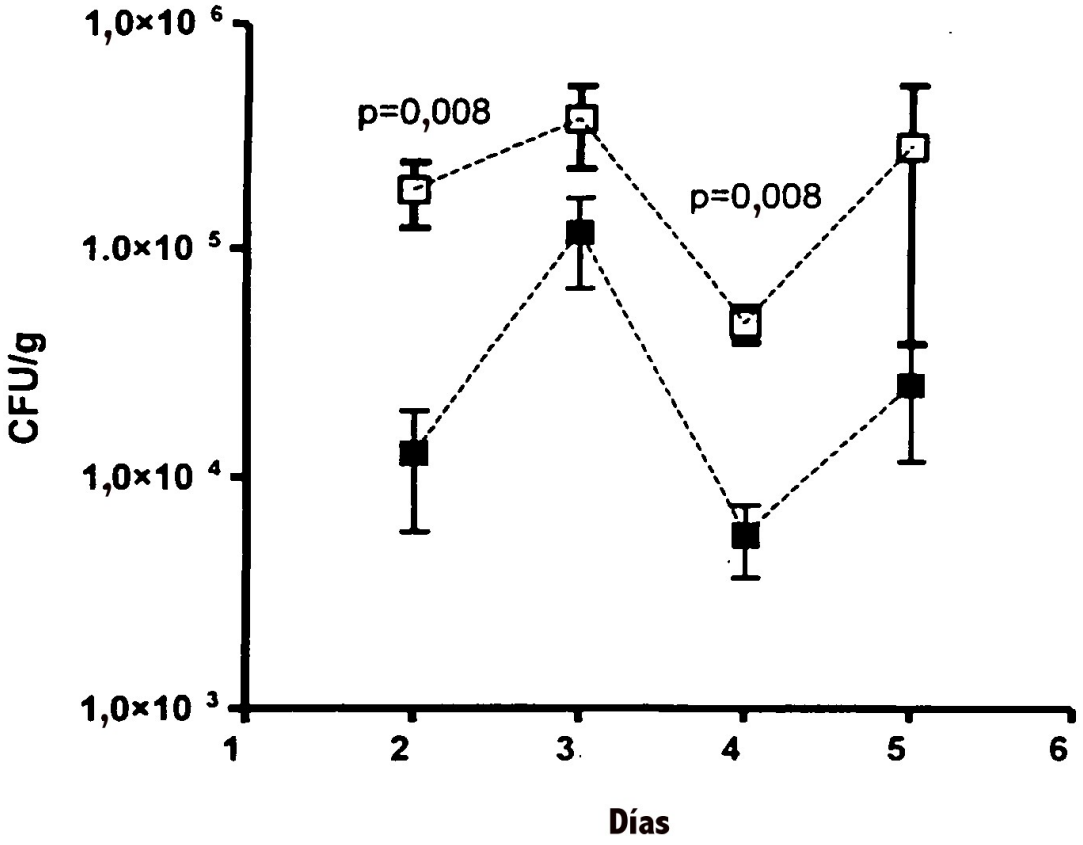

Fig.3