

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 629**

51 Int. Cl.:

**A61K 35/74** (2015.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

**A23L 1/172** (2006.01)

**A61K 35/745** (2015.01)

**A61K 35/747** (2015.01)

**A61K 31/685** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2006 E 10182284 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2277524**

54 Título: **Tratamiento del SII usando como efectores de tratamiento tanto bacterias probióticas como cereales fermentados**

30 Prioridad:

**28.09.2005 US 721276 P**  
**12.04.2006 DK 200600529**  
**12.04.2006 US 744717 P**  
**28.09.2005 EP 05388079**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.02.2016**

73 Titular/es:

**NORDISK REBALANCE A/S (100.0%)**  
**M.D. Madsensvej 14**  
**2450 Allerød, DK**

72 Inventor/es:

**ISRAELSEN, HANS**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 561 629 T3**

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

## Tratamiento del SII usando como efectores de tratamiento tanto bacterias probióticas como cereales fermentados

### DESCRIPCIÓN

5

#### Campo de la invención

La presente invención se relaciona con el tratamiento y el tratamiento de mantenimiento del síndrome de intestino irritable (SII). En particular, tiene que ver con el uso tanto de cereales fermentados como con probióticos, preferentemente microorganismos antiinflamatorios *Lactobacillus plantarum* como efectores de tratamiento para combatir el SII en un nuevo concepto de tratamiento. La invención tiene que ver, además, con el uso de fosfolípido como un tercer efector de tratamiento.

#### Antecedentes de la invención

El trastorno funcional gastrointestinal del síndrome de intestino irritable (SII) es parte de un espectro de enfermedades conocido como trastornos gastrointestinales funcionales, el cual incluye enfermedades tales como dolor torácico no cardiogénico, dispepsia no ulcerosa, y estreñimiento o diarrea crónicos. Todas estas enfermedades se caracterizan por síntomas gastrointestinales crónicos o recurrentes para los que no puede encontrarse ninguna causa estructural ni bioquímica. La colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC) son enfermedades inflamatorias intestinales (EII) caracterizadas por inflamación crónica de los intestinos. La CU aparece en el colon, mientras que la EC puede estar presente en todo el tracto digestivo (TD). Los síntomas clínicos son diarrea, dolor abdominal, rectorragia ocasional, pérdida de peso, cansancio y, a veces, fiebre.

Los pacientes que padecen EII y SII comparten algunos tipos de síntomas.

Aunque aparece a cualquier edad, donde más frecuente es la EII es en adolescentes y adultos jóvenes, que, como consecuencia, pueden padecer un retraso en el desarrollo y el crecimiento. La frecuencia de la enfermedad es similar a la de la diabetes de tipo 1 en Europa y en los EE. UU. La evolución clínica de la EII varía considerablemente. Los pacientes con síntomas de leves a moderados pueden tratarse sin hospitalización. Sin embargo, el 10-15+ % de los pacientes experimenta una evolución grave de la enfermedad que, en muchos casos, va seguida de cirugía.

Médicamente, la EII se trata reduciendo la inflamación y controlando de esa forma los síntomas gastrointestinales. Sin embargo, actualmente, no hay ninguna cura para la EII. La colectomía puede eliminar la CU pero reduce la calidad de vida y aumenta el riesgo de complicaciones. Los tratamientos médicos disponibles incluyen el uso de ácido 5-aminosalicílico (5 ASA), corticosteroides y medicamentos inmunomoduladores. El tratamiento prolongado de los síntomas de leves a moderados de EII suele llevarse a cabo usando 5 ASA, mientras que los corticosteroides y medicamentos inmunomoduladores se usan para tratar los síntomas graves. La diarrea o el dolor abdominal aparecen como efectos secundarios del 5 ASA, mientras que el uso a largo plazo de corticosteroides presente frecuentemente efectos secundarios graves que incluyen reducción de la masa ósea, infección, diabetes, atrofia muscular progresiva y alteraciones psiquiátricas. Los medicamentos inmunomoduladores suprimen el sistema inmunitario, que controla los síntomas de la EII. Sin embargo, el estado inmunodeprimido resultante deja al paciente predisuesto a muchas enfermedades.

La EII parece ser un resultado de una cascada incontrolada en la respuesta inmunitaria. El éxito del tratamiento de los pacientes con EC con anticuerpos contra la citocina proinflamatoria TNF- $\alpha$  respalda esta presunción (Rutgeerts y cols. 2004 Gastroenterology 126:1593-610). Sin embargo, un tratamiento con anticuerpo prolongado dará como resultado una disminución general del nivel de TNF- $\alpha$ , lo cual terminará por conducir a la predisposición a otras enfermedades.

La razón para la respuesta inmunitaria crónica e incontrolada en la EII no se ha establecido. Sin embargo, son causas posibles tanto predisposiciones genéticas como la composición de la flora microbiana residente en el tracto intestinal. Recientemente, se ha publicado que varios cientos de genes pueden estar implicados en una predisposición genética a la EII (Costello y cols. 2005 PLoS Med 2(8): e199), lo que hace extremadamente difícil el desarrollo de tratamientos con éxito a través de estrategias genéticas. Aunque se encontró que *Helicobacter pylori* es la causa de la enfermedad por úlcera péptica, no se han encontrado patógenos específicos que sean la causa de la EII. Sin embargo, se cree, en general, que los microorganismos comensales del TD son factores clave en la respuesta inmunitaria exagerada en los pacientes con EII (Schultz y cols. 2003 Dig. Dis. 21: 105-128). Las células dendríticas (CD) procedentes de la médula ósea se exponen a cepas microbianas y, a continuación, se determinan las citocinas producidas por las CD. La producción predominante de interleucinas proinflamatorias tales como IL6, IL12 y TNF $\alpha$  indica una respuesta proinflamatoria tras la exposición a una cepa microbiana. Por el contrario, una secreción predominante de interleucinas antiinflamatorias tales como IL4 e IL10 indica una respuesta antiinflamatoria tras la exposición. En general, los microorganismos pueden dividirse en dos grupos inductores de citocinas proinflamatorias o antiinflamatorias, respectivamente. En adelante, dichos microorganismos se denominan microorganismos "proinflamatorios" y "antiinflamatorios", respectivamente.

En 1907, el inventor de la Inmunología moderna, Elias Metchnikoff, sugirió que algunas bacterias intestinales tienen un papel beneficioso sobre la salud. Hoy, estas bacterias se denominan probióticos, definidos como microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas confieren un efecto beneficioso saludable al huésped. Se ha propuesto una amplia gama de efectos, por ejemplo, que los probióticos pueden ayudar a reducir el riesgo de ciertas enfermedades diarreicas, mejorar la función inmunitaria, reducir el riesgo de cáncer y enfermedades cardiovasculares, prestar ayuda a las personas intolerantes a la lactosa, etc. Algunos de los efectos propuestos se han investigado científicamente durante las últimas dos décadas. En particular, ha sido intensa la investigación sobre el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales usando probióticos. La justificación es que la modificación de la microflora del TD de los pacientes con EII y SII puede reducir la agresividad inmunológica, aliviando de esa forma los síntomas.

Hoy, existen tres procedimientos básicos para modificar la microflora del intestino, a saber, el uso de i) antibióticos, ii) probióticos, y iii) simbióticos. La administración de antibióticos mata una subpoblación de la microflora, mientras que se piensa que los probióticos -si se administran en las cantidades apropiadas- desplazan a algunos de los microorganismos existentes en el intestino. Los antibióticos y los probióticos también se han usado en combinación. Los simbióticos son mezclas de probióticos y sustancias –los llamados prebióticos- que proporcionan un sustrato para estimular de forma específica el crecimiento de los microorganismos probióticos. No se ha demostrado que ninguno de estos procedimientos -solo o en combinación- sea competente en cuanto a una reducción clara y a largo plazo de los síntomas de EII o SII.

Algunas cepas de bacterias acidolácticas y especies del género *Bifidobacterium* son probióticos, lo cual implica que se ha demostrado que promueven de una forma u otra un efecto saludable específico. Se han realizado ensayos clínicos en seres humanos usando probióticos solos o en combinación con antibióticos para identificar cepas y/o formulaciones para el tratamiento de pacientes con síntomas de EII o SII o para mantener en remisión a pacientes con EII ya tratados. Los documentos WO96/29083 y EP 554418 divulgan tres cepas de lactobacilos colonizadoras del intestino que incluyen las dos cepas de *Lactobacillus plantarum* 299 (DSM 6595) y 299v (DSM 9843), y de *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* 271 (DSM 6594), que pueden fermentarse en papilla de avena. Se supone que estas cepas pueden usarse para tratar el SII. El documento EP 415941 divulga métodos para preparar composición nutriente que comprende el tratamiento de papilla de avena con enzimas antes de mezclar con lactobacilos.

Los resultados de los ensayos con las cepas 299v de *Lactobacillus plantarum* administradas en una cantidad diaria total de hasta  $2 \times 10^{10}$  unidades formadoras de colonias (ufc) en una bebida de fruta son ambiguos, ya que se publican algunos efectos positivos en pacientes con SII en dos estudios (Nobaek y cols. 2000 Am J Gastroenterol. 95:1231-8 y Niedzielin y cols. 2001 Eur J Gastroenterol Hepatol. 13:1143-7), mientras que un estudio posterior usando la misma cepa no mostró ningún efecto sobre los pacientes con SII (Sen y cols. 2002 Dig Dis Sci 47:2615-20).

Se han analizado otras especies de *Lactobacillus* como, por ejemplo, *Lactobacillus rhamnosus* GG, el cual se administró en una cantidad de  $6 \times 10^9$  bacterias dos veces al día durante 52 semanas en un estudio ECA con doble enmascaramiento para prevenir la recurrencia después de la resección quirúrgica para la EC (Prantera y cols. 2002 Gut 51:405-409). Este estudio mostró que el tratamiento probiótico no tenía ningún efecto en comparación con el placebo.

Otra estrategia ha sido usar una combinación de diferentes cepas probióticas, un producto de las cuales se llama VSL#3. Consiste en ocho cepas bacterianas diferentes y se administra como cápsulas, posiblemente con bacterias liofilizadas o deshidratadas por pulverización. Se realizó un estudio reciente con la administración a pacientes con CU de  $1,8 \times 10^{12}$  bacterias VSL#3 dos veces al día durante seis semanas (Bibiloni y cols. 2005 American Journal of Gastroenterology 100:1539-46). Los pacientes tenían síntomas de leves a moderados de CU y el estudio se realizó como un estudio abierto sin placebo. El 53 % de los pacientes lograron la remisión.

En otro estudio, se administraron 250 mg de la levadura *Saccharomyces boulardii* tres veces al día durante cuatro semanas. El 71 % de los 17 pacientes con CU lograron la remisión (Guslandi y cols. 2003 Eur J Gastroenterol Hepatol. 15:697-8). Estos resultados no se han confirmado en estudios controlados.

Recientemente se realizó un estudio ECA sobre el mantenimiento de la remisión de la CU utilizando la cepa Nissle de *E.coli* (Kruis y cols. 2004 Gut 53:1617-23). Kato y cols. (2004 Aliment Pharmacol Ther. 20:1133-41) e Ishikawa y cols. (2003 J Am Coll Nutr. 22:56-63) han divulgado ensayos controlados que evalúan el efecto de la leche fermentada con bifidobacterias sobre la colitis ulcerosa.

El número de microorganismos en el TD es aproximadamente  $10^{14}$  (Backhed y cols. 2005 Science 307:1915-20). Como se ha mencionado previamente, los resultados de los ensayos clínicos han demostrado que la administración de grandes cantidades de probióticos puede tener un efecto positivo sobre los síntomas de EII. Sin embargo, la administración a los pacientes con EII de más de  $10^{12}$  microorganismos VSL#3 cada día durante varias semanas condujo a la identificación solo de cantidades muy pequeñas de solo dos de las ocho cepas proporcionadas en biopsias de los pacientes (Bibiloni y cols. 2005 American Journal of Gastroenterology 100:1539-46). No se observó

ningún cambio drástico en la composición de la microflora.

Hasta ahora, la presunción general en la comunidad científica con respecto al tratamiento de la EII y el SII es que se han demostrado algunos resultados prometedores de los probióticos, pero que no son suficientemente eficaces (Schultz y cols. 2003 Dig. Dis. 21:105-28 y Kim y cols. 2003 Aliment Pharmacol Ther. 17:895-904).

5 En resumen, las estrategias actuales aplicadas para tratar la EII o el SII usando probióticos, dirigidas a modificar la composición de la microflora gastrointestinal (GI) abarcan -solas o en combinación- i) la administración oral de diferentes cantidades de microorganismos probióticos, que también incluye la administración simultánea de medicamentos convencionales como el 5 ASA, ii) la administración oral de sustratos específicamente favorables para el crecimiento de microorganismos probióticos, iii) la administración oral a corto plazo de antibióticos y iv) el uso de microorganismos probióticos capaces de colonizar el intestino y/o producir compuestos que son tóxicos para otras especies bacterianas de forma transitoria. No se ha demostrado que estas estrategias sean suficientemente eficaces, ni para reducir los síntomas experimentados por los pacientes con EII y SII, ni para modificar la composición de la microflora de los intestinos.

15 Recientemente, se ha publicado que en un ensayo controlado aleatorizado (ECA) que comprende un tratamiento de tres meses de pacientes con CU con liberación retardada de fosfatidilcolina (FC) en el colon se ha demostrado una remisión en el 53 % de los pacientes (Stremmel y cols. 2005 Gut 54:966-971).

20 El documento WO 00/70972 A (Probi) divulga una bebida deportiva, que -además de los aditivos convencionales- también contiene lactobacilos viables que tienen un efecto positivo sobre la mucosa intestinal humana.

Molin (2001) describe probióticos en alimentos que no contienen leche ni componentes lácteos, con especial referencia a *Lactobacillus plantarum* 299v.

25 Meroth y cols. (2004), Systematic and Applied Microbiology, Vol. 27(2), págs. 151-159 caracteriza la microbiota de las masas madre de arroz.

## 30 **Divulgación de la invención**

### **Sumario de la invención**

35 No se ha demostrado que los tratamientos previamente descritos de la enfermedad gastrointestinal tal como EII y SII que usan probióticos sean suficientemente beneficiosos y, por tanto, se necesita mejorarlos a fin de que sean un complemento serio o incluso una alternativa al tratamiento tradicional con sustancias químicas. Uno de los factores que distinguen la presente invención del uso divulgado previamente de probióticos en el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales es el uso de grandes cantidades de efectores complementarios combinados con cantidades relativamente grandes de los probióticos.

40 En un aspecto, la presente invención se basa, por tanto, en el descubrimiento de que una ingesta alta de papilla de avena fermentada combinada con una ingesta alta de microorganismos probióticos por pacientes con EII y SII proporciona una sorprendente mejoría sobre los resultados previamente descritos obtenidos con microorganismos probióticos. En la técnica previa, las bacterias probióticas se usaron en grandes cantidades solas o en cantidades menores en lo que se considera, con respecto a la enfermedad, que son vehículos inertes, tales como la fécula de avena o la leche fermentadas.

50 Durante el desarrollo de la presente invención se ha sabido que el cereal fermentado puede jugar un importante papel activo en la lucha contra los trastornos inflamatorios en los intestinos, causados con la mayor probabilidad por microorganismos proinflamatorios, y, por tanto, deberían usarse en una cantidad mayor de lo que se ha enseñado. En la técnica previa, el cereal fermentado (papilla de avena) se consideraba meramente como un medio de crecimiento y un vehículo para los probióticos. El cereal fermentado no se ha usado previamente en cantidades elevadas en el tratamiento de los pacientes con EII y SII, y nada en la técnica previa sugiere que los cereales fermentados puedan jugar un papel importante en dicho tratamiento.

55 Por consiguiente, la presente invención se dirige en un aspecto hacia un producto listo para usar que comprende una composición que comprende al menos 18 gramos (g) (peso seco) de cereal fermentado; y al menos  $1 \times 10^{11}$  unidades formadoras de colonias (ufc) de células de *Lactobacillus plantarum* seleccionadas de *Lactobacillus plantarum* 299 y *Lactobacillus plantarum* 299v; para su uso en un método para el tratamiento de un paciente afectado de síndrome de intestino irritable (SII); en el que el tratamiento comprende una administración diaria de la composición al paciente.

60 En otro aspecto de la invención, la adición de los fosfolípidos fosfatidilcolina (FC), lisofosfatidilcolina (LFC), fosfatidilinositol (FI) y/o fosfatidiletanolamina (FE) puede ser adicionalmente beneficiosa en el tratamiento de los pacientes con EII y SII, especialmente pacientes con una capa subóptima de moco en los intestinos.

65 El moco constituye una barrera física para las células epiteliales del intestino y parece ser importante en el contacto

equilibrado entre los microorganismos y las células superficiales del TD. Los fosfolípidos son importantes componentes del moco intestinal. Los fosfolípidos del moco consisten principalmente en fosfatidilcolina y lisofosfatidilcolina, pero también en fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina. La FC parece jugar un papel principal en la llamada defensa mucosa mediante el establecimiento de una superficie hidrofóbica protectora. Se ha demostrado que la fosfatidilcolina y el fosfatidilinositol tienen un efecto terapéutico sobre el desarrollo de la colitis inducida por ácido acético en ratas (Fabia y cols. 1992 Digestion 53:35-44). El contenido de FC y LFC en el moco del colon de los pacientes con CU es significativamente menor en comparación con controles sanos (Ehehalt y cols. 2004). Los leucocitos de sangre periférica de pacientes con enfermedad de Crohn tienen un metabolismo anómalo de los ácidos grasos esenciales, correlacionado aparentemente con el contenido en cinc (Cunnane y cols. 1986) y las membranas de los eritrocitos de los pacientes con enfermedad de Crohn tienen un aumento significativo de esfingomielina y un descenso significativo de fosfatidilcolina (Aozaki 1989).

La fosfatidilcolina, por ejemplo en la forma de lecitinas disponibles comercialmente (que también contienen cantidades de LFC, FI y FE) es el fosfolípido preferido para añadir al producto fermentado. Aunque se ha demostrado que ciertas bacterias probióticas pueden inducir la producción de moco en el intestino (Mack y cols. 1999), no se ha sugerido previamente la combinación de probióticos con fosfolípidos que ayuden específicamente a la formación de un moco intestinal funcional.

En un aspecto más de la presente invención se ha sabido que a fin de asegurar un efecto beneficioso del cereal fermentado y de los microorganismos probióticos, debería evitarse la ingesta de sustancias que alteren el efecto deseado durante el tratamiento. Dichas sustancias podrían promover el crecimiento de microorganismos intestinales proinflamatorios presentes en los pacientes antes y durante el tratamiento o estimular reacciones inmunológicas en los intestinos, lo cual es desfavorable para el tratamiento médico. Ejemplos de dichas sustancias perjudiciales son los azúcares fácilmente fermentables presentes p. ej., en las bebidas de fruta, pulpa de fruta, fruta deshidratada o procesada y similar, y leche y productos lácteos.

La presente invención tiene que ver, por tanto, con i) dosis elevadas de un cereal fermentado y ii) dosis elevadas de microorganismos probióticos en una nueva estrategia de tratamiento que mejora considerablemente los tratamientos probióticos convencionales de los pacientes con EII y SII. El cereal fermentado modifica negativamente el crecimiento y las condiciones de mantenimiento de la vida para los microorganismos residentes en el intestino del paciente con EII y SII, mientras que el aporte de probióticos proporciona que los microorganismos inductores de antiinflamación desplacen a los microorganismos inductores de proinflamación de la microflora original, los cuales tienen condiciones menos favorables en el cereal fermentado. Los microorganismos probióticos se adaptan el entorno en la composición de cereal fermentado antes de la administración a los pacientes. Además, los fosfolípidos, en particular fosfatidilcolina y lisofosfatidilcolina pueden usarse para mejorar más el efecto del tratamiento mediante la formación o el refuerzo de la capa funcional de moco de los intestinos. La nueva estrategia de tratamiento puede aplicarse sola o en combinación con la administración de medicamentos convencionales como 5 ASA y corticosteroides.

El nuevo concepto para el tratamiento o el tratamiento de mantenimiento de la EII, enfermedades relacionadas con la EII y el SII incluye la administración de una cantidad eficaz de cereal fermentado junto con una cantidad eficaz de microorganismos probióticos y, opcionalmente, fosfolípidos. Los microorganismos probióticos son microorganismos no patógenos, preferentemente microorganismos antiinflamatorios. El cereal puede ser cualquier cereal adecuado que es fermentable por microorganismos no patógenos adecuados, y utilizable en su estado fermentado como un efector activo. Los microorganismos probióticos en el producto listo para usar pueden ser los mismos microorganismos fermentadores del cereal. Sin embargo, los microorganismos probióticos en el producto listo para usar también pueden ser otros microorganismos no patógenos, preferentemente antiinflamatorios, que se añaden a la composición de cereal fermentado. En el último caso, los microorganismos fermentadores de cereal pueden estar vivos o muertos en el producto listo para usar. Los fosfolípidos pueden ser preferentemente lecitina disponible en el mercado -de habas de soja- que contiene al menos un 20 % de FC.

Una ingesta diaria de una cantidad eficaz de una composición de cereal fermentado que consiste en al menos 10 gramos de peso seco de un cereal fermentado -por ejemplo, papilla de avena fermentada- y al menos  $5 \times 10^{10}$  unidades formadoras de colonias (ufc) de microorganismos probióticos -por ejemplo, bacterias acidolácticas tales como las colonizadoras del intestino *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* spp. La cantidad preferida por día es al menos 18 g de peso seco de cereal fermentado, p. ej., papilla fermentada de avena y  $1 \times 10^{11}$  ufc de microorganismos probióticos y, más preferida, 36 g de peso seco de cereal fermentado, p. ej., papilla fermentada de avena y  $2 \times 10^{11}$  ufc de microorganismos probióticos. En otra realización preferida, la ingesta diaria es de alrededor de 90 g de peso de cereal fermentado, p. ej., papilla de avena fermentada y alrededor de  $5 \times 10^{11}$  ufc de microorganismos probióticos tales como las colonizadoras del intestino *Lactobacillus* spp. Si se desea (y el paciente lo acepta), pueden usarse cantidades mayores de cereal fermentado, p. ej., papilla de avena fermentada, y del número de unidades formadoras de colonias de microorganismos probióticos. Preferentemente, la ingesta diaria se divide en dos o más ingestas. La primera ingesta del producto listo para usar es preferentemente antes del desayuno y la última ingesta es preferentemente después de la última comida y bebida del día. La última ingesta se elige para permitir que la cantidad de cereal fermentado y microorganismos estén presentes en el intestino tanto como sea posible sin que se "diluyan" por las comidas y bebidas "normales", que pueden contener sustratos fácilmente fermentables. Es

aceptable beber agua después de la última ingesta. La ingesta del producto listo para usar en conexión con cada comida durante el día también puede ser una opción.

5 Cuando los fosfolípidos son una parte de la pauta del tratamiento, la ingesta diaria es de al menos 0,1 g de fosfatidilcolina, preferentemente más de 0,5 g y más preferentemente, más de 1 g al día. Los fosfolípidos pueden añadirse como un producto comercial de lecitina. Se han observado fluctuaciones entre un estado de síntomas obvios de EII y la remisión cuando se usa el producto listo para usar sin lecitina añadida en pacientes hasta la semana 12 en el periodo de tratamiento. Por el contrario, se ha demostrado una remisión más estable y en algunos casos más rápida con el tratamiento con producto listo para usar que contiene lecitina añadida.

10 Los microorganismos probióticos son preferentemente sin liofilizar o deshidratar por pulverización en el producto listo para usar porque los microorganismos deberían ser, preferentemente, lo más fuertes posible cuando entren en los intestinos, a fin de competir con éxito con la parte proinflamatoria de la microflora ya presente en los intestinos. Sin embargo, algunas cepas pueden ser lo suficientemente fuertes y/o algunos protocolos lo suficientemente suaves como para permitir microorganismos pulverizados o liofilizados en el producto listo para usar.

20 Se obtiene un tratamiento o tratamiento de mantenimiento más eficaz si los productos lácteos, los componentes de la leche y los azúcares fácilmente fermentables tales como sacarosa, lactosa, glucosa o fructosa se omiten en el producto listo para usar y, por otra parte, se evitan en la dieta. Por consiguiente, el producto listo para usar no debería comprender ninguna bebida que contenga grandes cantidades de fruta, pulpa de fruta, fruta deshidratada o aditivos similares de fruta u otros aditivos que proporcionen energía, que suelen usarse en productos comerciales para potenciar el sabor y el valor nutricional del producto final. De la misma forma, no deberían usarse grandes cantidades de leche ni aditivos a base de leche en el producto listo para usar. Pueden usarse aditivos bajos en calorías o acalóricos en el producto, por ejemplo, para potenciar las propiedades importantes para el cumplimiento terapéutico del paciente.

30 La duración del tratamiento depende de cada paciente individual y del estadio de la enfermedad. Los periodos típicos de tratamiento oscilan desde una a 25 semanas, pero no hay limitación. Un tratamiento continuado para un cierto periodo después de la remisión parece proporcionar mejores efectos a largo plazo.

35 Por consiguiente, la presente invención tiene que ver con el uso de una cantidad eficaz de una composición de cereal fermentado y una cantidad eficaz de microorganismos probióticos y fosfolípidos añadidos opcionalmente en la preparación de un producto medicinal para el tratamiento de una enfermedad gastrointestinal tal como EII, enfermedades relacionadas con la EII, y SII.

40 El cereal es preferentemente avena, la cual se fermenta por microorganismos no patógenos capaces de fermentar cereales dando como resultado un pH por debajo de 5,5. Dichos microorganismos pueden ser bacterias acidolácticas, *Propionibacterium* spp y *Bifidobacterium* spp., p. ej., una o más *Lactobacillus* spp.

#### 40 Descripción detallada de la invención

45 La EII es, muy probablemente un resultado de desequilibrios en el sistema inmunitario, los cuales pueden iniciarse y mantenerse por los microorganismos residentes en el TD, que incluyen microorganismos patógenos u oportunistas. Varios grupos científicos han realizado intentos para modificar la flora de microorganismos del TD de los pacientes con EII o SII utilizando microorganismos probióticos y/o antibióticos y/o prebióticos. Las estrategias previas han abarcado la administración a los pacientes de grandes cantidades de microorganismos probióticos formulados en cápsulas (o productos lácteos) o de una cantidad relativamente pequeña de microorganismos probióticos y fécula de avena fermentada, formulados en bebidas de fruta. La nueva estrategia presentada aquí, que incluye la administración de grandes cantidades tanto de fécula de avena fermentada como de microorganismos probióticos y preferentemente FC, muestra resultados superiores en comparación con los resultados presentados en la técnica previa.

55 El descubrimiento de una correlación positiva entre una ingesta elevada de un producto que consiste en fécula de avena fermentada y una cepa de *Lactobacillus* y los efectos clínicos como se describe en el ejemplo 2 se ha desarrollado con éxito en la presente invención, que ofrece un concepto de tratamiento sorprendente, novedoso y ventajoso para el tratamiento de la EII, el SII y las enfermedades relacionadas con la EII. Sin embargo, se ha encontrado que la adición de lecitina al producto que consiste en fécula de avena fermentada y una cepa de *Lactobacillus* proporciona un concepto de tratamiento aún más ventajoso con un estado de remisión más rápido y/o más estable obtenido dentro del periodo de tratamiento, como se describe en los ejemplos 13 y 14. Los productos usados por Nobaek y cols. (2000 Am J Gastroenterol. 95:1231-8) y Niedzielin y cols. (2001 Eur J Gastroenterol Hepatol. 13:1143-7) contenían una baja cantidad (comparada con la presente invención) de fécula de avena fermentada y una cepa de *Lactobacillus* mezclada en una bebida de fruta. Estos productos conducen a un tratamiento insuficiente.

65 Las expresiones usadas en la presente descripción de la invención se definen a continuación.

La expresión "enfermedad inflamatoria intestinal" (EII) incluye colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (EC), que son enfermedades bien caracterizadas. Como ejemplos de "enfermedades relacionadas con la EII" pueden mencionarse colitis colágena y colitis linfocítica. Los médicos expertos conocerán otras.

- 5 La expresión "síndrome de intestino irritable" (SII) se define como un espectro de enfermedades conocido como trastornos gastrointestinales funcionales, los cuales incluyen enfermedades tales como el dolor torácico no cardiológico, dispepsia no ulcerosa, y estreñimiento o diarrea crónicos. Todas estas enfermedades se caracterizan por síntomas gastrointestinales crónicos o recurrentes para los que no puede encontrarse ninguna causa estructural ni bioquímica. Los síntomas suelen ser los mismos que para los pacientes con EII, excepto que no aparecen hemorragias en relación con el SII.

Las expresiones "efector de tratamiento" y "efectores de tratamiento" significan componente(s) que ejerce(n) un efecto en la reducción de los síntomas de la EII y/o el SII.

- 15 El término "cereal" se define como cualquier planta de la familia de las gramíneas que produce un grano (semilla) comestible. Los granos más comunes son cebada, maíz, mijo, avena, quinua, centeno, sorgo, triticale y trigo y arroz. El más preferido es la avena. Sin embargo, también pueden usarse partes adecuadas de plantas alternativas como la mandioca.

- 20 La expresión "papilla de cereal" se define como granos, copos, fécula, extractos o harinas de cereales hervidos en un líquido, que preferentemente es agua. La papilla de cereal se prepara de esta forma a fin de esterilizar el cereal suspendido y prepararlo para la fermentación microbiana. Pueden añadirse enzimas, composiciones que contienen enzimas y/o cantidades apropiadas de fuentes de carbono y energía para preparar más para la fermentación microbiana y/o proporcionar una reología deseada. Mediante papilla de cereal se quiere decir cualquier forma reológica de cereal suspendido y hervido.

- 25 La expresión "composición de cereal fermentado" se define como el producto resultante del crecimiento de uno o más microorganismos no patógenos en una papilla de cereal y que contiene una o más cepas microbianas no patógenas, las cuales pueden estar muertas o vivas. La composición de cereal fermentado también se denomina en el presente documento "producto fermentado" o "papilla de avena fermentada".

Mediante la expresión "microorganismos no patógenos" se quiere decir cualquier alimento o complemento alimenticio microbiano vivo que en condiciones normales no es perjudicial para el ser humano o los animales.

- 35 Mediante la expresión "microorganismos fermentadores de cereales" se quiere decir microorganismos no patógenos que son capaces de fermentar un cereal dando como resultado un pH < 5,5.

- 40 Mediante la expresión "microorganismos probióticos" se quiere decir microorganismos no patógenos que afectan de forma beneficiosa al paciente mediante la mejoría del equilibrio microbiano intestinal. Dichos microorganismos probióticos pueden ser preferentemente microorganismos antiinflamatorios y/o del grupo que consiste en bacterias acidolácticas y *Bifidobacterium* spp.

- 45 Las bacterias acidolácticas se definen como todas las especies, subespecies y cepas de los siguientes géneros: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* y *Pediococcus*. También se abarcan especies, subespecies y cepas no patógenas del género *Streptococcus* tales como *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* o *Streptococcus thermophilus*.

- 50 La expresión "*Lactobacillus* spp." incluye cualquiera de las siguientes especies: *Lactobacillus acetotolerans*, *Lactobacillus acidipiscis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus algidus*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus amylolyticus*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus animalis*, *Lactobacillus arizonensis*, *Lactobacillus aviarius*, *Lactobacillus bifementans*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus coelohominis*, *Lactobacillus collinoides*, *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis*, *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus cypricasei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus durianus*, *Lactobacillus equi*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus ferintoshensis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus fornicalis*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus frumentii*, *Lactobacillus fuchuensis*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasserii*, *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus hamsteri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus helveticus* subsp. *jugurti*, *Lactobacillus heterohiochii*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus homohiochii*, *Lactobacillus intestinalis*, *Lactobacillus japonicus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefirii*, *Lactobacillus kimchii*, *Lactobacillus kunkeei*, *Lactobacillus leichmannii*, *Lactobacillus letivazi*, *Lactobacillus lindneri*, *Lactobacillus malefermentans*, *Lactobacillus mali*, *Lactobacillus maltaromicus*, *Lactobacillus manihotivorans*, *Lactobacillus mindensis*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus nagelii*, *Lactobacillus oris*, *Lactobacillus panis*, *Lactobacillus pantheri*, *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *pseudoplantarum* *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus parakefirii*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus perolens*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus*

5 *pointis*, *Lactobacillus psittaci*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus salivarius* subsp. *salicinius*, *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius*, *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus sharpeae*, *Lactobacillus suebicus*, *Lactobacillus thermophilus*, *Lactobacillus thermotolerans*, *Lactobacillus vaccinostercus*, *Lactobacillus vaginalis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lactobacillus vitulinus*, *Lactobacillus vermiforme*, *Lactobacillus zeeae*. La especie preferida es *Lactobacillus plantarum*.

10 La expresión "*Bifidobacterium* spp." incluye cualquiera de las siguientes especies: *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium aerophilum*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium asteroides*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium boum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium choerinum*, *Bifidobacterium coryneforme*, *Bifidobacterium cuniculi*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium gallicum*, *Bifidobacterium gallinarum*, *Bifidobacterium indicum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium longum* bv. *Longum*, *Bifidobacterium longum* bv. *Infantis*, *Bifidobacterium longum* bv. *Suis*, *Bifidobacterium magnum*, *Bifidobacterium merycicum*, *Bifidobacterium minimum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*, *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *pseudolongum*, *Bifidobacterium psychroaerophilum*, *Bifidobacterium pullorum*, *Bifidobacterium ruminantium*, *Bifidobacterium saeculare*, *Bifidobacterium scardovii*, *Bifidobacterium subtile*, *Bifidobacterium thermoacidophilum*, *Bifidobacterium thermoacidophilum* subsp. *suis*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium urinalis*.

20 Mediante la expresión "cantidad eficaz" debe entenderse una cantidad de composición de cereal fermentado y una cantidad de uno o más microorganismos probióticos para administrar diariamente a la persona para dar como resultado una reducción relativamente rápida de los síntomas del paciente. La reducción de los síntomas comprende la interrupción de las deposiciones sanguinolentas y/o al menos una reducción del 25 % del número de deposiciones diarias dentro de siete días a partir del comienzo del tratamiento, si se sigue el concepto del tratamiento. Una desviación mínima del presente concepto puede conducir a un retraso en la reducción de los síntomas. Las desviaciones mayores pueden conducir al fracaso de cualquier efecto del tratamiento.

30 La papilla de avena usada en la preparación del producto puede prepararse como se divulga en el documento EP 415941. La papilla de avena puede prepararse, por ejemplo, mediante el uso de al menos 5 g de fécula de avena por 100 ml de líquido o, de forma más preferida, 10 g de fécula de avena por 100 ml de líquido.

35 La composición de cereal fermentado se produce mediante la adición de una cantidad de microorganismos fermentadores de cereales a la papilla de avena, dando como resultado un pH < 5,5 después de la fermentación a una temperatura óptima durante al menos 12 horas o, de forma preferida, al menos 24 horas.

40 La expresión "producto (listo para usar)" se define como el producto para administrar a un paciente, por ejemplo, como un producto bebible, comestible, administrable por vía anal o administrable mediante una sonda. El producto listo para usar consiste en i) una composición de cereal fermentado, ii) microorganismos probióticos y opcionalmente iii) fosfolípidos añadidos. Los productos listos para usar bebibles pueden, por ejemplo, estar almacenados y disponibles en envases adecuados. Los productos comestibles pueden, por ejemplo, estar almacenados y disponibles en una forma sólida o semisólida mezclada, por ejemplo, con otros ingredientes comestibles que no sean contrarios al nuevo concepto de tratamiento. Las galletas de avena pueden ser un ejemplo. Los productos listos para usar administrables por vía anal pueden, por ejemplo, estar en forma de un supositorio y los productos listos para usar administrables por sonda pueden estar, por ejemplo, en una forma líquida que sea adecuada para la administración por sonda mediante vía oral o rectal.

50 Los microorganismos fermentadores de cereal de la composición de cereal fermentado pueden constituir por sí mismos los microorganismos probióticos en el producto listo para usar. Sin embargo, Los microorganismos probióticos en el producto listo para usar también pueden ser microorganismos que se añaden a la composición de cereal fermentado. En el último caso, los microorganismos fermentadores de cereal pueden estar vivos o muertos en el producto listo para usar. Los microorganismos en la composición de cereal fermentado pueden matarse, por ejemplo, mediante calentamiento de la composición antes de la adición del microorganismo probiótico. La temperatura y el tiempo apropiados dependen de las propiedades de las cepas fermentadoras de cereal. La cantidad eficaz de bacterias probióticas en el producto listo para usar es al menos de  $10^8$  ufc/ml o, más preferentemente, al menos  $10^9$  ufc/ml. Antes de la fermentación, la papilla de cereal puede tratarse con harina malteada tal como la harina malteada de cebada y/o enzima(s), p. ej., amilasa o/y añadir una cantidad suficiente de una fuente de energía y carbono para el crecimiento de los microorganismos fermentadores de cereal. Antes o después de la fermentación, la papilla de cereal puede tratarse con enzima(s) y/o tratarse físicamente/mecánicamente, p. ej., para reducir la viscosidad, mejorar la disponibilidad de los componentes nutrientes, romper ciertas moléculas del cereal, modificar la composición de macromoléculas y formar moléculas de bloque, mejorar el periodo de caducidad u otras mejoras o modificaciones. De forma similar, pueden añadirse componentes a la papilla de cereal antes o después de la fermentación para mejorar o modificar el producto, p. ej., mediante la adición de fosfolípidos, proteínas, aminoácidos y/o fibras que, por ejemplo, pueden mejorar la barrera de moco en los pacientes o pueden mejorar el tiempo de tránsito del alimento en el TD.

65

5 La expresión "colonizadora del intestino" significa que una capa microbiana tiene que estar presente de forma transitoria o permanente en el intestino tras al menos una ingesta de una cantidad suficiente de ufc. El análisis de colonizadoras del intestino puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante el análisis de la presencia de una cepa específica en las heces en los días y semanas siguientes a la ingesta. Algunas cepas de *Lactobacillus* spp. pueden colonizar el intestino humano durante alrededor de 14 días.

10 Las expresiones "tratamiento de un día", "tratamiento diario", "administración diaria" e "ingesta diaria" se usan de forma indistinta y significan la dosis total del producto (listo para usar) para tomar o administrarse al paciente cada día en el periodo de tratamiento. Si el tratamiento se lo administra el/la propio/a paciente, la dosis justa se proporciona preferentemente en un envase adecuado que contiene la dosis correcta del producto medicinal. La dosis diaria total puede dividirse ventajosamente en dos o más envases que contienen las dosis justas para tomar o administrar durante el día, por ejemplo, como la primera y la última comida del día. Alternativamente, el paciente o el personal médico pueden medir la dosis justa para cada administración a partir de un envase mayor que comprende el producto (listo para usar).

15 Las expresiones "productos de la leche" y "productos lácteos" significan cualquier producto que se ha producido a partir de leche de mamífero y "componentes lácteos" significa cualquier componente derivado, purificado o extraído a partir de leche de mamífero o de un producto lácteo.

20 La expresión "azúcares fácilmente fermentables" significa azúcares que constituyen una fuente accesible de energía y carbono para los microorganismos. Ejemplos de azúcares fácilmente fermentables son sacarosa, lactosa, glucosa y fructosa. Dichos azúcares están presentes, por ejemplo, en frutas procesadas, bebidas de frutas, fruta deshidratada, mermeladas y frutas tratadas de otra forma y, por tanto, deberían evitarse en el producto listo para usar.

25 La expresión "aditivos alimenticios o medicinales" significa cualquier sustancia que puede añadirse para mejorar el producto fermentado en cuanto a actividad frente al trastorno gastrointestinal o frente a una o más de otras enfermedades. Asimismo, "aditivos alimenticios o medicinales" significa cualquier sustancia que puede añadirse para mejorar el periodo de caducidad, sabor, color, o propiedades reológicas del producto. Ejemplos de sustancias son los potenciadores del sabor, los colores, pH y osmorreguladores, vitaminas, hierbas, componentes a base de hierbas, minerales, oligoelementos, reguladores de la viscosidad, lípidos, emulsionantes, ácidos grasos de cadena corta, glutamina y otros aminoácidos, antioxidantes, reguladores de la tensión arterial, sustancias analgésicas, etc. La persona experta sabrá fácilmente qué aditivos serían adecuados. El término minerales comprende minerales farmacéuticamente aceptables tales como cromo, hierro, cinc, cobre, calcio, potasio, sodio, manganeso y molibdeno. Especialmente, puede añadirse cinc para dar un efecto beneficioso.

30 El término "lecitina" significa tanto la definición química, que es fosfatidilcolina o 1,2-diacil-glicero-3-fosfocolina, como la definición comercial, que se refiere a una mezcla natural de lípidos neutros y polares. La fosfatidilcolina está presente en la lecitina comercial en concentraciones de 20 a 90 %. Otros componentes de la lecitina comercial son lisofosfatidilcolina, fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina. La mayoría de los productos comerciales de lecitina contienen alrededor de un 20 % de fosfatidilcolina. Los residuos de ácidos grasos de fosfatidilcolina pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados. El término "lecitina" también significa una lecitina definida de forma química o comercial en cualquier forma física incluyendo la líquida, granulada, encapsulada o mezclada con cualquier otra sustancia. En particular, el término "lecitina" también significa cualquier formulación en la que la lecitina se diseña para liberarse en localizaciones específicas del tracto digestivo, por ejemplo, como la definida como "liberación retardada" por Stremmel y cols. 2005 Gut 54:966-971.

50 El desarrollo de un nuevo concepto para el tratamiento o el tratamiento de mantenimiento de la EII, SII, y enfermedades relacionadas

Durante el desarrollo del nuevo concepto de tratamiento, se supuso cómo podría obtenerse un efecto clínico pronunciado, posiblemente mediante una modificación eficaz en la composición y/o la actividad metabólica de la microflora del intestino. Se demostró que, sorprendentemente, la ingesta de cantidades relativamente grandes de cereal fermentado apropiado junto con probióticos tenía un efecto clínico ventajoso, muy probablemente porque es desventajosa para la mayoría de los microorganismos inductores de proinflamación residentes en el TD en cuanto a sustrato para el crecimiento y/o mantenimiento de la vida, y ventajosa para algunos microorganismos probióticos en cuanto a un entorno apropiado para el mantenimiento de la vida. Teniendo en cuenta el último aspecto, los microorganismos benefician fisiológicamente si el cereal fermentado constituye el medio de crecimiento para los microorganismos en la fase de producción y, simultáneamente, se usa como efector de tratamiento en el producto medicinal. Por último, pero no menos importante, los cereales contienen una gama de componentes importantes para el hombre, tales como carbohidratos, fibras y lípidos. Los cereales como la avena y el maíz contienen cantidades relativamente grandes de lípidos. Puede suponerse que una cantidad alta de lípidos polares en los cereales puede ser corresponsable de los efectos positivos del nuevo protocolo de tratamiento descrito aquí. Por consiguiente, podrían preferirse cereales con una cantidad elevada de lípidos polares, tales como la avena. Asimismo, puede añadirse lecitina a la composición de cereal fermentado para mejorar las propiedades funcionales del moco intestinal. En consecuencia, deberían añadirse cantidades mayores de fosfolípidos a las composiciones

fermentadas preparadas a partir de cereales con un bajo contenido en lípidos polares en comparación con cereales con cantidades altas de lípidos polares.

5 De acuerdo con la estrategia sobre la modificación eficaz de la microflora del TD, debería evitarse la ingesta de componentes que estimulan el crecimiento y el mantenimiento de los microorganismos inductores de proinflamación. La mayoría de los componentes y azúcares de la leche como sacarosa, lactosa, glucosa o fructosa son fácilmente utilizados por bacterias tales como *E. coli*. Por ejemplo, en experimentos de competición en matraces, la mayoría de las cepas de *E. coli* serían mucho más rápidas en la utilización de los componentes y azúcares de la leche mencionados que la mayoría de las bacterias acidolácticas o de las cepas de *Bifidobacterium*. Por tanto, los  
10 productos de la leche, componentes de la leche y azúcares fácilmente fermentables deberían omitirse en el presente producto listo para usar y en el concepto de tratamiento o tratamiento de mantenimiento.

15 Los microorganismos probióticos aplicados deberían ser capaces, preferentemente, de residir en o colonizar -al menos de forma transitoria- el TD. Dichos microorganismos probióticos también deberían ser fisiológicamente fuertes. Hay una amplia gama de productos probióticos en el mercado, y muchos contienen microorganismos probióticos liofilizados o deshidratados por pulverización (DDS-Plus® (UAS Lab, MN, USA), VSL#3 (Sigma-Tau, MD, EE.UU.), Lp299v (Quest, RU) etc.). La liofilización o la deshidratación por pulverización suelen matar a un gran porcentaje de los microorganismos y presiona gravemente a la población superviviente (Wang y cols. 2004 Int J Food Microbiol. 93:209-17). Aunque el pretratamiento de varios microorganismos en condiciones de estrés leve  
20 puede ser beneficioso para la supervivencia en condiciones rigurosas futuras - por ejemplo, en el TD-, la liofilización y la deshidratación por pulverización son en muchos casos demasiado agresivas para dar como resultado microorganismos probióticos que sean fisiológicamente fuertes.

25 Un ejemplo del nuevo concepto para el tratamiento o el tratamiento de mantenimiento de la EII, enfermedades relacionadas con la EII y el SII incluye lo siguiente:

30 Cada día, el paciente beberá dos o más porciones de 100-250 ml cada una de papilla de avena fermentada con y que contiene alrededor de  $10^8$ - $10^9$  ufc/ml de una o más *Lactobacillus* spp colonizadoras del intestino, por ejemplo, *L. plantarum* 299 o *L. plantarum* 299v. El producto debería contener preferentemente 12 g de lecitina con al menos 20 % de FC por litro de papilla de avena fermentada para obtener una remisión más rápida o un estado de remisión más estable durante el periodo de tratamiento. La primera ingesta de papilla de avena fermentada se realiza antes del desayuno y la última ingesta se realiza preferentemente después de la última comida y bebida -excepto agua- del día. El tratamiento continúa durante p. ej., 14 semanas.

35 Un tratamiento o tratamiento de mantenimiento más eficaz se obtiene si los productos de la leche, los componentes de la leche y los azúcares fácilmente fermentables tales como sacarosa, lactosa, glucosa o fructosa se omiten en el producto listo para usar y se evitan en la dieta durante el periodo de tratamiento.

40 La duración del tratamiento depende de cada paciente individual y del estadio de la enfermedad. Los periodos típicos de tratamiento oscilan desde una a 25 semanas, pero no hay limitación.

45 Los probióticos pueden ser cualquiera de los microorganismos probióticos, preferentemente bacterias acidolácticas y/o especies del género *Bifidobacterium* y más preferentemente capaces de colonizar el intestino, al menos de forma transitoria. *L. plantarum* 299 y *L. plantarum* 299v son dos cepas adecuadas que se han aislado debido a su capacidad para fermentar la fécula de avena y a sus propiedades colonizantes.

50 Como se ha mencionado, hay dos razones para usar cereales fermentados como tratamiento efector. La primera es formar un entorno en el TD en el que las propiedades para el crecimiento o el mantenimiento de la vida para muchos microorganismos sean desfavorables excepto para microorganismos seleccionados que incluyen muchos probióticos. La segunda razón es proporcionar lípidos complejos, carbohidratos, proteínas, fibras y otras moléculas que pueden tener un efecto positivo tanto para proporcionar material para la producción de barreras físicas tales como la capa de moco, como sobre la respuesta del sistema inmunitario. Los lípidos complejos, carbohidratos, proteínas y otras moléculas se originan tanto a partir de la avena como de los mismos probióticos, pero también son un resultado del proceso de fermentación. El uso de lecitina añadida en el producto listo para usar puede  
55 proporcionar material extra para la producción de una capa eficaz de moco intestinal. La cantidad de lecitina añadida debería ser, muy probablemente, mayor en el producto listo para usar a base de cereales con un bajo contenido en fosfolípidos que en productos a base de cereales que contienen cantidades relativamente grandes de fosfolípidos.

60 La administración de composiciones de cereal fermentado que contienen microorganismos probióticos y lecitina a pacientes con EII y SII para un periodo de tiempo apropiado conducirá, muy probablemente a a i) un número reducido y/o una actividad metabólica reducida de los microorganismos proinflamatorios del intestino debido al desarrollo de condiciones ambientales específicas desfavorables ii) un aumento gradual de la actividad metabólica y/o del número de los microorganismos antiinflamatorios en el intestino debido al aporte diario de probióticos y al desarrollo de nuevas condiciones ambientales intestinales y iii) una capa de moco protectora reforzada debido al  
65 aporte diario de lípidos polares de los cereales y de la lecitina añadida.

Después del proceso de fermentación, los microorganismos probióticos no crecen más en el producto listo para usar. Por consiguiente, el cereal fermentado no sirve como compuesto prebiótico, ya que no estimula el crecimiento de los probióticos en el intestino. La composición de cereal fermentado puede tener un pH por debajo de 5,5, lo que presiona levemente y prepara a los microorganismos probióticos para las inminentes condiciones de estrés, que seguirán, por ejemplo, en el estómago y el intestino de los pacientes GI. El tratamiento previo de estrés en la producción de probióticos es una cuestión de equilibrio óptimo. La mayoría de los productos probióticos están disponibles como preparaciones liofilizadas o deshidratadas por pulverización. Se sabe que la congelación o la deshidratación por pulverización son agresivas y matan en muchos casos a una gran parte de la población. Los microorganismos supervivientes pueden necesitar tiempo para la adaptación cuando se les presenta en un entorno fluido. En otras palabras, la fuerza de los probióticos liofilizados o deshidratados por pulverización para pasar el estómago y/o competir por la colonización del intestino puede no haberse preparado adecuadamente. Sin embargo, puede ser posible en ciertas situaciones añadir probióticos liofilizados o deshidratados por pulverización al cereal fermentado.

El nuevo tratamiento descrito en el presente documento puede iniciarse en cualquier estadio de la evolución de la EII o el SII. El tratamiento debería llevarse a cabo mediante el seguimiento del protocolo del nuevo tratamiento de forma precisa y la duración puede variar desde una a unas cuantas semanas a varios meses. Sin embargo, un periodo de tratamiento prolongado parece proporcionar mejores efectos a largo plazo. Tras una interrupción gradual de la ingesta del producto listo para usar, los pacientes con EII y SII experimentarán normalmente que los síntomas están ausentes y no reaparecen. Sin embargo, algunos síntomas pueden reaparecer normalmente al cabo de meses o años. Estos síntomas pueden tratarse mediante la inclusión en un tratamiento de mantenimiento, simplemente mediante el seguimiento del protocolo del nuevo tratamiento durante una menor duración, que puede ser de una o más semanas. Asimismo, los pacientes con EII y SII pueden adquirir experiencia diciendo que los síntomas pueden aparecer en circunstancias específicas, por ejemplo, en momentos específicos del año, en ciertas condiciones de estrés o asociados a dietas en ciertas comunidades. En dichos casos, los pacientes pueden beneficiarse de la inclusión en un tratamiento de mantenimiento antes de encontrarse en las circunstancias específicas. La duración de este tratamiento de mantenimiento también puede ser relativamente corta, p. ej., una o más semanas.

En el nuevo tratamiento, tanto la leche, como los componentes de la leche y los azúcares fácilmente fermentables se omiten en el producto listo para usar y se evitan en la dieta para crear un entorno aún más desfavorable para el crecimiento o el mantenimiento de la vida microbiana en el TD. Los alimentos que contienen cantidades relativamente grandes de azúcar y/o componentes de la leche deberían evitarse. Los alimentos abarcan azúcar, refrescos (que contengan azúcar), zumo, jarabes, golosinas, pasteles, galletas, fruta deshidratada, muesli y otros productos para el desayuno con azúcar añadida, helado, leche, nata, leches fermentadas, mantequilla, etc. Se recomienda que los pacientes tomen un complemento de calcio, ya que la leche y los componentes de la leche deben evitarse en el tratamiento. Sin embargo, muchos comprimidos de calcio contienen cantidades relativamente grandes de lactosa. Por tanto, deben administrarse comprimidos de calcio sin lactosa. Éste es un ejemplo de componentes añadidos inesperados en complementos y alimentos, a los que los pacientes deben prestar atención. Los alimentos que contienen trazas de leche o de componentes de la leche y/o cantidades muy pequeñas de azúcar añadida pueden aceptarse en la dieta cuando se siga el nuevo concepto de tratamiento. Sin embargo, no pueden establecerse límites exactos para la concentración de leche, componentes de la leche y/o azúcar añadidos en los alimentos debido a la complejidad de los diferentes alimentos y de cada intesta individual de alimento.

Las expresiones "nuevo tratamiento", "nueva estrategia de tratamiento" y "nuevo concepto de tratamiento" se refieren al tratamiento de la EII, enfermedades relacionadas con la EII o el SII.

Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar la presente invención de no deberían limitar de ninguna forma la invención tal como se define en las reivindicaciones.

## Ejemplos

### Ejemplo 1.

Un hombre de 66 años padecía dolor abdominal y diarrea. Lo examinó un médico, que no pudo establecer un diagnóstico preciso. Se derivó al paciente entonces a un servicio de gastroenterología en el hospital local. Mientras tanto, los síntomas fueron empeorando y en ese momento el paciente perdió más de 2 kg de peso por semana. El paciente se sometió a una colonoscopia. No se detectaron signos de úlcera o necrosis en el intestino grueso y el colon. El diagnóstico más probable fue SII. A continuación, se derivó al paciente a un gastroenterólogo local. Sobre los síntomas descritos, empezó a aparecer parálisis ocasional en las piernas del paciente.

El paciente comenzó un tratamiento basado en un protocolo que usa probióticos para el tratamiento del SII que incluye dolor abdominal y diarrea, divulgado en el documento WO96/29083 y en la bibliografía científica (Niedzielin y cols. 2001 Eur J Gastroenterol Hepatol. 13:1143-7). En lugar de los 200 ml descritos de bebida de fruta que contiene  $5 \times 10^7$  bacterias probióticas por ml y una cantidad mínima de papilla de avena prescritos para administrarse dos veces al día durante cuatro semanas para tratar enfermedades gastrointestinales, el paciente tomó dos veces al día 10 ml de un producto similar que contenía  $10^9$  ufc/ml de *Lactobacillus plantarum* 299v en una papilla de avena sin

fruta añadida. Esta cantidad se eligió para que coincidiera con el número de ufc de Niedzielin y cols. 2001. Los 10 ml se tomaron antes del desayuno y dos horas después de la última comida de la noche. Tras haber seguido este protocolo convencional durante dos semanas, el paciente no experimentó ningún efecto positivo. En ese momento, el paciente había perdido más de 30 kg de peso durante el periodo de tres meses desde el comienzo de la enfermedad.

**Ejemplo 2.**

Debido a la falta de efecto positivo alguno con el tratamiento probiótico convencional, el paciente mencionado en el ejemplo 1 inició el nuevo tratamiento de acuerdo con la presente invención.

El paciente tomó una ingesta diaria de 500 ml de una papilla de avena fermentada que contenía alrededor de 90 g de papilla de avena fermentada y  $5 \times 10^{11}$  *Lactobacillus plantarum* 299v. Esta cantidad de papilla de avena fermentada y microorganismos probióticos es 50 veces mayor que la prescrita por Niedzielin y cols. (2001 Eur J Gastroenterol Hepatol. 13:1143-7) y el documento WO96/29083. Los 500 ml de producto fermentado se dividieron en dos porciones, que se tomaron cada día antes del desayuno y como última comida o bebida del día. El paciente experimentó una reducción significativa de los síntomas en menos de una semana después del inicio del nuevo tratamiento. Se obtuvo una remisión completa mediante el seguimiento del nuevo tratamiento durante ocho semanas. Un año más tarde, el paciente había ganado los 30 kg de peso y no se ha producido ninguna recaída hasta ahora, que son alrededor de cinco años tras la terminación del nuevo tratamiento.

**Ejemplo de referencia 3.**

Mediante una colonoscopia se reveló una colitis ulcerosa en una mujer de 19 años. Estaba extremadamente cansada y tenía dolor abdominal y diarreas sanguinolentas con más de diez defecaciones al día. Se la hospitalizó durante 14 días y se la trató con prednisolona (cortisona) y 5 ASA. El tratamiento continuó se envió a la paciente a su domicilio. Dieciocho semanas más tarde, el cansancio y el dolor abdominal aún estaban presentes. La diarrea también estaba presente, pero el número de defecaciones al día se había reducido a una media de cinco. La sangre aún estaba presente en las deposiciones. La paciente experimentó graves efectos secundarios por la prednisolona, que incluyeron un estado inmunitario disminuido que dio como resultado continuas infecciones. Entonces, decidió finalizar la toma de prednisolona mediante una reducción gradual. La ingesta de 5 ASA continuó.

Una semana después de la terminación de la ingesta de prednisolona, la paciente empezó a seguir el nuevo tratamiento, tomando 250 ml de una papilla de avena fermentada que contenía *Lactobacillus plantarum* 299v dos veces al día, como se describe en el ejemplo 2. La ingesta de 5 ASA continuó en paralelo durante 12 semanas. Una semana después de empezar el tratamiento, la sangre estaba ausente de las deposiciones. El día nº 4 del nuevo tratamiento, el cansancio de la paciente desapareció. En las siguientes tres semanas, el número de defecaciones varió de dos a cuatro. El dolor abdominal apareció ocasionalmente durante las primeras tres semanas del nuevo tratamiento. Durante las semanas nº 4-16, el número de defecaciones fue de una o dos. La paciente experimentó dos ciclos de dolor abdominal durante este periodo. Estos se caracterizaron como ciclos de dolor cortos similares a incidentes no complicados experimentados por la paciente durante la infancia. El tratamiento se interrumpió 16 semanas después del inicio, mediante una reducción gradual de la ingesta diaria de la papilla de avena fermentada que contenía prebióticos.

La paciente no tuvo ningún síntoma de CU a lo largo de los siguientes tres años y medio. Posteriormente, sin embargo, se produjo una recaída con una diarrea relativamente leve. Después, la paciente siguió el protocolo del nuevo tratamiento durante otras tres semanas, lo que dio como resultado una remisión que ha continuado desde entonces, que son 18 meses después de la terminación del segundo ciclo del nuevo tratamiento.

Ejemplo de referencia

**4. Tratamiento de pacientes con EII mediante el uso del nuevo concepto para el tratamiento de la EII y el SII**

Se estableció una serie de tratamientos durante un periodo de cuatro años y medio posteriores al tratamiento con éxito de la paciente de 19 años con CU, como se describe en el ejemplo 3. Se reclutó a nueve pacientes adicionales con CU o EC para seguir el nuevo concepto de tratamiento, como se describe en el ejemplo 3. Los datos, resultados y comentarios de los tratamientos se dan en la tabla 1.

Tabla 1 Datos, resultados y comentarios relativos a los nueve pacientes con EII reclutados para el nuevo concepto de tratamiento

	Sexo y edad (años)	Diagnóstico*	Periodo de tratamiento (semanas)	Resultado	Comentarios
5	Varón, 20	EC, moderada	Dos	Remisión parcial	El paciente interrumpió el tratamiento dos veces después de dos semanas en cada ciclo cuando los síntomas desaparecieron
10	Mujer, 26	CU, moderada	14	Remisión	Posteriormente, la paciente ha seguido una vez al año -durante dos años- un tratamiento de mantenimiento durante tres semanas.
	Mujer, 16	CU, moderada	16	Remisión	
15	Mujer, 35	CU, moderada	Ocho	Remisión	
	Mujer, 17	EC, moderada	Una	Respuesta positiva	Abandono
20	Mujer, 45	CU, leve	Tres	Remisión	La hemorragia se interrumpió y la diarrea se redujo significativamente durante el tratamiento de una semana. Después, abandono.
	Mujer, 16	CU, grave	Una	Respuesta positiva	
25	Varón, 12	CU, grave	14	Remisión	
	Mujer, 35	CU, moderada	14	Remisión	
30	* CU: Colitis ulcerosa; EC: Enfermedad de Crohn. Se determinó el estadio de la enfermedad antes del inicio del tratamiento y se estableció como leve (SCCAI alrededor o por debajo de 3 (SCCAI = <i>Simple Colitis Clinical Activity Index</i> , índice simple de actividad clínica de la colitis ulcerosa, Jowett y cols. 2003 Scand J Gastroenterol. 38:164-71), moderada (SCCAI alrededor de 4-7) o grave (SCCAI alrededor de 8 o más). SCCAI).				

35 Todos los pacientes habían estado en tratamiento con medicamentos convencionales tales como 5 ASA y/o corticosteroides durante más de un año antes del inicio del nuevo tratamiento. Durante el periodo de tratamiento, la mayoría de los pacientes continuaron su tratamiento simultáneamente con los medicamentos convencionales debido a razones éticas. Todos ellos respondieron positivamente al nuevo concepto de tratamiento. La remisión se logró en los casos en los que los pacientes siguieron el protocolo de tratamiento de forma precisa. Los resultados indican  
40 claramente que el nuevo tratamiento -con o sin combinación con medicamentos convencionales- es capaz de eliminar los síntomas de los pacientes con CU y EC, independientemente del estadio de la enfermedad.

**Ejemplo 5. Tratamiento de pacientes con SII mediante el uso del nuevo concepto de tratamiento**

45 Cuatro mujeres con SII siguieron el nuevo protocolo de tratamiento durante dos o tres semanas. La primera experimentó diarrea y dolor abdominal, mientras que las tres tuvieron diarreas relativamente leves o moderadas. Los datos y resultados de los tratamientos se dan en la tabla 2.

50 Tabla 2 Datos y resultados relativos a las cuatro pacientes femeninas con SII que siguieron el nuevo concepto de tratamiento

	Sexo y edad (años)	Diagnóstico	Periodo de tratamiento (semanas)	Resultado
55	Mujer, 20	SII	Tres	Remisión
	Mujer, 47	SII	Tres	Remisión
	Mujer, 49	SII	Dos	Remisión
	Mujer, 72	SII	Tres	Remisión

60 Todas las pacientes tratadas lograron la remisión. A pesar del limitado número de pacientes, los resultados indican claramente que el nuevo concepto de tratamiento es capaz de llevar el SII a la remisión.

**Ejemplo 6. Tratamiento de mantenimiento de pacientes con SII y EII mediante el uso del nuevo concepto de tratamiento**

65 Tres mujeres que habían completado previamente un tratamiento con éxito, bien de CU (tabla 1) o bien de SII (tabla 2) siguieron el protocolo del tratamiento por razones de mantenimiento. Los datos, resultados y comentarios de los

tratamientos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3 Datos, resultados y comentarios relativos a las tres pacientes femeninas que siguieron el nuevo concepto de tratamiento para mantenimiento

	Sexo y edad (años)	Diagnóstico	Periodo de tratamiento (semanas)	Resultado	Comentarios
5					
10	Mujer, 19	CU, media	2 x tres	Sin síntomas de CU	La paciente ha seguido una vez al año - durante dos años- el tratamiento de mantenimiento durante tres semanas.
15	Mujer, 47	SII	>20	Sin síntomas de SII	Los síntomas experimentados previamente no han estado presentes desde el inicio del tratamiento de mantenimiento.
	Mujer, 72	SII	>20	Sin síntomas de SII	Los síntomas experimentados previamente no han estado presentes desde el inicio del tratamiento de mantenimiento.

20 Ninguna de las tres mujeres ha experimentado síntomas de su UC o SII desde el inicio del tratamiento de mantenimiento. Los resultados indican claramente que el nuevo concepto de tratamiento es eficaz en el tratamiento de mantenimiento de la UC y trastornos GI a pesar del bajo número de pacientes.

25 Ejemplo de referencia

#### 7. Descripción de un estudio ECA de pacientes afectados de colitis ulcerosa mediante el uso del nuevo concepto para el tratamiento de la EII y el SII

30 A fin de complementar los resultados descritos en los ejemplos previos, se ha planeado un ensayo clínico aleatorizado (ECA). Se realizará un estudio ECA de Fase IIa con placebo y doble enmascaramiento, en pacientes con CU o EC, fundamentalmente como describen, por ejemplo, Stremmel y cols. 2005 Gut, 54:966-971. El nuevo protocolo de tratamiento incluirá el uso de papilla de avena fermentada, que se ha fermentado con, y contiene *L. plantarum* 299v y/o bacterias probióticas similares. La cantidad de ingesta de la mañana y de la noche puede fijarse, por ejemplo, en 250 ml de papilla de avena fermentada que contiene  $10^9$  ufc/ml. El placebo pueden ser microesferas de celulosa en una solución de agua en la que se ha ajustado el pH a alrededor de 5 con ácido láctico y/o ácido acético para imitar el producto activo, o cualquier otro medio de placebo. El ensayo puede llevarse a cabo, por ejemplo, durante un periodo entre tres y 20 semanas, dependiendo del estadio de los pacientes con CU o EC reclutados. Un criterio de valoración esperado podría ser la remisión de al menos el 50 % de los pacientes con valores de SSCAI < 4 (Jowett y cols. 2003 Scand J Gastroenterol. 38:164-71) en ocho a 14 semanas.

#### 40 Ejemplo 8. La fabricación de un producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con la probiótica colonizadora del intestino *Lactobacillus plantarum*

45 La fabricación de un producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con la probiótica colonizadora del intestino *Lactobacillus plantarum* se divide en dos etapas de acuerdo con esta receta. La primera etapa abarca la preparación de papilla de avena. Esta etapa puede realizarse fundamentalmente como se divulga en el documento EP 415941. Un método alternativo es mezclar 18,5 % (m/m) de fécula de avena y 0,9-2,5 % (m/m) de harina de cebada malteada con agua. La mezcla se agita lentamente y se calienta durante 10-20 minutos a 37 °C, y a continuación, 15-30 minutos a 90-100 °C. La papilla de avena resultante se enfría a una temperatura de alrededor de 37 °C y ahora está lista para la segunda etapa, a saber, el proceso de fermentación. Se añade a la papilla un inóculo que consiste en las cepas 299 o 299v de *Lactobacillus plantarum* para iniciar la fermentación. La cantidad de inóculo añadido, con un número de ufc de alrededor de  $10^9$ /ml es de 0,01, 0,1 o 1,0 % (v/v). La fermentación se lleva a cabo con agitación ligera a 37 °C durante 12-24 h. El producto listo para usar resultante con un número de ufc de alrededor de  $10^9$ /ml y un pH por debajo de 5 se enfría después a 4 °C y se envasa, por ejemplo, en envases de almacenamiento estériles de 250 ml, que tienen un periodo de caducidad de al menos dos meses cuando se mantienen a 4 °C.

#### 60 Ejemplo 9. La fabricación de un producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con microorganismos probióticos y lecitina

65 Se fabrica un producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con microorganismos probióticos, como se describe en el ejemplo 8. Posteriormente, se añade la lecitina. Se añaden 12 gramos de lecitina granulada, tal como "Lecithin Granulat", de Biosym A/S, DK-7430 Ikast, Dinamarca por litro de papilla de avena fermentada con microorganismos probióticos. La mezcla se agita durante alrededor de un minuto y se mantiene toda la noche a 4 °C, dando como resultado un nuevo producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con microorganismos probióticos y lecitina, con un número de de ufc de alrededor de  $10^9$  y un pH por debajo de 5. Este

producto se envasa, por ejemplo, en envases de almacenamiento estériles de 250 ml, que tienen un periodo de caducidad de al menos dos meses cuando se mantienen a 4 °C.

5 Pueden usarse en este protocolo más o menos cantidades de lecitina y otras formas físicas y calidades de lecitina. Hay disponibles numerosas lecitinas comerciales y la mayoría con diferentes contenidos de fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina, fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina. Los residuos de ácidos grasos de fosfatidilcolina pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados. Asimismo, la lecitina para usar en este protocolo puede tener diferentes formas físicas, tales como líquida, granulada, encapsulada o mezclada con cualquier otra sustancia, tal como aceites vegetales. La lecitina encapsulada incluye formulaciones en las que la lecitina se diseña para liberarse en localizaciones específicas del tracto digestivo, por ejemplo como la definida como "liberación retardada" por Stremmel y cols. 2005 Gut 54:966-971.

**Ejemplo 10. La fabricación de un producto listo para usar que consiste en papilla de avena y microorganismos capaces de fermentar papilla de avena**

15 En el ejemplo 8 se describe un protocolo para la fabricación de un producto listo para usar que consiste en una papilla de avena fermentada con la probiótica colonizadora del intestino *Lactobacillus plantarum*. Puede fabricarse un producto alternativo listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con otros microorganismos capaces de fermentar la papilla de avena usando el protocolo siguiente.

20 Se aíslan bacterias como candidatas a inóculo a partir de biopsias de mucosa intestinal de voluntarios humanos sanos que han estado a dieta de una semana con una ingesta diaria de al menos 25 g de fécula de avena. El aislamiento y el crecimiento de las bacterias se llevan a cabo fundamentalmente como se describe para las bacterias intestinales de caballos en el documento US 6.537.544. Se selecciona un conjunto de 20 cepas pertenecientes al grupo que consiste en bacterias acidolácticas, *Streptococcus* spp, *Pediococcus* spp, *Bifidobacterium* spp. y *Propionibacterium* spp no patógenos para un análisis de la eficacia de fermentación. Se inoculan 20 muestras de 25 500 ml de papilla de fécula de avena preparada como se describe en el ejemplo 8, cada una con un cultivo puro de una única cepa del conjunto hasta un número inicial de ufc de alrededor de  $10^5$ . Las muestras inoculadas se agitan ligeramente a 37 °C durante 24 h. A continuación, se mide el pH y se determinan los números de ufc en cada muestra. Las cepas bacterianas que dan lugar a números de ufc de alrededor de  $10^9$  o por encima, y a un pH por debajo de 5 en el producto fermentado se denominan "cepas de inóculo de fécula de avena". Los inóculos de cereales descritos previamente, tales como en el documento WO9117672 también se incluyen en las "cepas de inóculo de fécula de avena".

35 La fabricación de un producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con microorganismos capaces de fermentar la papilla de avena se lleva a cabo fundamentalmente como se describe en el ejemplo 8, excepto para el uso del inóculo específico. Aquí, el inóculo consiste en una o más "cepas de inóculo de fécula de avena", en lugar de *Lactobacillus plantarum* 299 o de la cepa 299v. La cantidad de "cepas de inóculo de fécula de avena", con un número de ufc de alrededor de  $10^9$ /ml es de 0,01, 0,1 o 1,0 % (v/v). El producto listo para usar resultante con un número de ufc de alrededor de  $10^9$ /ml y un pH por debajo de 5 se enfría a 4 °C y se envasa, por ejemplo, en envases de almacenamiento estériles de 250 ml. El periodo de caducidad es de al menos dos meses cuando se mantienen a 4 °C.

**Ejemplo 11. La fabricación de un producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada y una variedad de microorganismos**

45 Como se ha descrito, la cantidad de papilla de avena fermentada contiene dos efectores para combatir la EII y el SII, a saber, avena fermentada y microorganismos probióticos. Ambos efectores están presentes después de la fermentación de la papilla de avena, como se describe en los ejemplos previos. Sin embargo, pueden añadirse microorganismos adicionales de otros orígenes tras la fermentación de la avena. Las cepas microbianas añadidas pueden ser un fuerte efector en el intestino de los pacientes con EII o SII, pero incapaces de fermentar avenas o de competir con cepas fermentadoras de avena.

55 Se ha demostrado que un número de cepas de *Bifidobacterium* (y de cepas de otras especies bacterianas) ejercen efectos positivos en los pacientes con EII o SII (ref.) Sin embargo, no se espera que estas cepas sean capaces de realizar una fermentación eficaz en las avenas. Por tanto, las cepas de *Bifidobacterium* se hacen crecer en un medio de crecimiento convencional tal como MRS (ref.), posiblemente con inulina-oligofruktosa añadida (Furrie y cols. 2005 Gut 54:16171346). Las cepas de *Bifidobacterium* se hacen crecer en condiciones de crecimiento óptimas. Tras el final del crecimiento, se añade ácido láctico al medio a una concentración final de 0,8 %, para hacer que las bacterias se adapten a un entorno ácido. Tras dos horas en el medio que contiene ácido láctico, las bacterias se recogen por centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos. Las bacterias se resuspenden en 1/100 del medio de crecimiento que contiene ácido láctico, dando como resultado una suspensión que contiene alrededor de  $10^{12}$  ufc/ml. La suspensión se denomina "microorganismos extra".

65 La papilla de avena fermentada con las probióticas colonizadoras del intestino *Lactobacillus plantarum* y cepa(s) de *Bifidobacterium* puede fabricarse usando el procedimiento descrito en el ejemplo 8 seguido de la adición de los

"microorganismos extra". Se añade una cantidad correspondiente a un 0,1 % de "microorganismos extra" (v/v) al producto que consiste en papilla de avena fermentada con la probiótica colonizadora del intestino *Lactobacillus plantarum*, si el producto listo para usar contuviera cantidades equivalentes de *Bifidobacterium*. El producto listo para usar se envasa, por ejemplo, en envases de almacenamiento estériles de 250 ml, que tienen un periodo de caducidad de al menos dos meses cuando se mantienen a 4 °C.

Si se prefiere que un producto fermentado listo para usar fundamentalmente no contenga ninguna bacteria fermentadora de avena, el producto que consiste en papilla de avena fermentada con la probiótica colonizadora del intestino *Lactobacillus plantarum* debe agitarse y calentarse a 100 °C durante alrededor de 30 minutos antes del enfriamiento a 4 °C y de la posterior adición de "microorganismos extra".

**Ejemplo 12. La fabricación de un producto listo para usar que consiste en maíz-sorgo fermentado y microorganismos capaces de fermentar el maíz y el sorgo**

El togwa es una papilla de cereal fermentado que consiste en una mezcla de maíz y sorgo que incluye microorganismos capaces de fermentar estos cereales (Mugula y cols. 2003 Int J Food Microbiol. 83:307-18). Se prepara una papilla de maíz-sorgo mediante la mezcla de 10-20 % (m/m) de harina de maíz y sorgo con agua. La mezcla se agita y se calienta durante al menos 10-15 minutos a 90-100 °C, seguida de enfriamiento hasta una temperatura de alrededor de 37°C. Se añade un inóculo con un número de ufc de alrededor de  $10^7$ - $10^9$  /ml en la cantidad de 0,01, 0,1 o 1,0 % (v/v). El inóculo puede producirse como se describe en el ejemplo 10, excepto en que se inoculan 20 muestras de 500 ml de papilla de maíz-sorgo con un cultivo puro de una única cepa hasta un número inicial de ufc de alrededor de  $10^5$ . Las cepas bacterianas que dan lugar a números de ufc de al menos  $10^8$  y a un pH por debajo de 5 en la papilla fermentada de maíz-sorgo se denominan "cepas de inóculo de togwa". A continuación de la adición de las "cepas de inóculo de togwa" a la papilla de maíz-sorgo, la fermentación se lleva a cabo con agitación ligera a 37 °C durante 12-24 h. El producto listo para usar resultante con un número de ufc de alrededor de  $10^8$ - $10^9$ /ml y un pH por debajo de 5 se enfría después a 4 °C y se envasa, por ejemplo, en envases de almacenamiento estériles de 250 ml. El periodo de caducidad es de al menos dos meses cuando se mantiene a 4 °C. Hay que señalar que el togwa tradicional puede contener cepas de levadura, así como bacterias.

Ejemplo de referencia

**13. El tratamiento de pacientes con CU con un producto listo para usar que consiste en papilla de avena fermentada con microorganismos probióticos y lecitina añadida conduce a una reducción más rápida y/o estable en el nivel de los síntomas**

Las dos pacientes femeninas con CU de 46 y 55 años de edad con una puntuación inicial de SCCAI de 6 y 4, respectivamente, iniciaron el nuevo tratamiento como se describe en los ejemplos 3 y 4. Sin embargo, la ingesta diaria usada en este tratamiento fue de 500 de un producto listo para usar que contenía alrededor de 90 g de papilla de avena fermentada,  $5 \times 10^{11}$  *Lactobacillus plantarum* 299v y 6 g de lecitina añadida con alrededor de 23 % de FC y 19 % de FI. Los 500 ml de producto listo para usar se dividieron en dos porciones, que se tomaron cada día antes del desayuno y como última comida o bebida del día.

Los síntomas de CU de la mujer de 46 años se redujeron gradualmente y la remisión se obtuvo dentro de los primeros 14 días siguientes al inicio del tratamiento. El estado de remisión se mantuvo a lo largo del periodo de tratamiento.

Los síntomas de CU de la mujer de 55 años fluctuaron entre una puntuación de SCCAI de 4 y 1 durante las primeras seis semanas. Sin embargo, la remisión se obtuvo durante el periodo de tratamiento restante, excepto en dos días en los que la paciente experimentó una diarrea del viajero durante una visita a Tailandia.

Estos resultados muestran una reducción mucho más rápida y/o estable de los niveles de los síntomas durante el ciclo de tratamiento en comparación con los pacientes que se han tratado con el producto similar sin lecitina añadida. La reducción mucho más rápida y más estable de los síntomas de CU para la mujer de 46 años se observó ya durante las primeras dos semanas siguientes al comienzo del tratamiento.

La mujer de 55 años del estudio mostró niveles fluctuantes de los síntomas durante las primeras seis semanas del ciclo del tratamiento, lo que estaba en concordancia con los pacientes tratados con el producto listo para usar sin lecitina añadida. Por el contrario, sin embargo, el estado de remisión posterior se mantuvo sin recaída a lo largo del periodo de tratamiento.

Ejemplo de referencia

**14. Una paciente con UC experimentó una reducción de los síntomas de CU más rápida y estable cuando se trató con un producto listo para usar que consistía en papilla de avena fermentada con microorganismos probióticos y lecitina añadida en comparación con el tratamiento similar con un producto listo para usar sin lecitina**

Se trató a una mujer de 33 años con una CU grave durante 10 semanas con una ingesta diaria de 500 ml de un producto listo para usar que contenía alrededor de 90 g de papilla de avena fermentada y  $5 \times 10^{11}$  *Lactobacillus plantarum* 299v. Los 500 ml de producto listo para usar se dividieron en dos porciones, que se tomaron cada día antes del desayuno y como última comida o bebida del día. Durante las 10 semanas de tratamiento, los síntomas se redujeron gradualmente desde un SCCAI inicial de alrededor de 8 hasta alrededor de 2-4. Sin embargo, las fluctuaciones en el nivel de los síntomas fueron significativas durante el ciclo del tratamiento, las cuales se han observado en varios pacientes que han seguido el tratamiento con el producto listo para usar sin lecitina. La paciente de 33 años con CU interrumpió el tratamiento en la semana nº 10 debido a un viaje de quince días al extranjero. Por consiguiente, la interrupción del tratamiento fue de alrededor de un mes antes de lo recomendado y demasiado temprana a causa del nivel inestable de los síntomas. Durante el viaje, la paciente experimentó una recaída completa que dio como resultado un SCCAI de alrededor de 8. Después inició un nuevo ciclo de tratamiento, pero ahora con un producto listo para usar de 500 ml que contenía alrededor de 90 g de papilla de avena fermentada,  $5 \times 10^{11}$  *Lactobacillus plantarum* 299v y 6 g de lecitina añadida con alrededor de 23 % de FC y 19 % de FI. Los 500 ml de producto listo para usar con lecitina añadida se dividieron en dos porciones, que se tomaron cada día antes del desayuno y como última comida o bebida del día. Al final de la primera semana del ciclo de tratamiento con el producto listo para usar con lecitina añadida, el nivel de síntomas se redujo de un SCCAI de alrededor de 8 hasta alrededor de 4 y durante las siguientes dos semanas, el nivel de SCCAI estuvo constantemente a 3-4. Durante las siguientes tres semanas, el nivel de síntomas se redujo gradualmente y se obtuvo remisión durante las ocho semanas restantes del periodo de tratamiento.

Esto demuestra que el producto listo para usar con lecitina añadida ejerció una reducción más rápida y estable del nivel de los síntomas en comparación con los productos listos para usar sin lecitina añadida.

#### 25 **Ejemplo 15. Sabor y consistencia del producto listo para usar que contiene lecitina**

Se fabricó un producto listo para usar que consistía en papilla de avena fermentada con microorganismos probióticos y lecitina añadida, como se describe en el ejemplo 9. Se esperaba que el producto poseyera una constitución grasienta desagradable y sabor "graso" en comparación con el producto listo para usar sin lecitina añadida. Sin embargo, el producto listo para usar con lecitina añadida presentó, sorprendentemente, un sabor mucho mejor y una agradable sensación en boca. El sabor era redondo y libre del regusto ácido y amargo que es una característica del producto listo para usar sin lecitina añadida. Asimismo, la sensación en boca se experimentó como placentera y suave, en contraposición al producto listo para usar sin lecitina añadida. Cuatro personas de prueba declararon de forma independiente que el aroma y la reología del producto listo para usar con lecitina añadida son mucho más deliciosos que el producto listo para usar sin lecitina. Esto es importante para el cumplimiento terapéutico del paciente, ya que el producto listo para usar deberá administrarse por vía oral en cantidades relativamente grandes durante periodos largos.

**Reivindicaciones**

1. Un producto listo para usar que comprende una composición que comprende al menos 18 gramos (g) (peso seco) de cereal fermentado;
- 5 y  
al menos  $1 \times 10^{11}$  unidades formadoras de colonias (ufc) de células de *Lactobacillus plantarum* seleccionadas de *Lactobacillus plantarum* 299 y *Lactobacillus plantarum* 299v;  
para su uso en un método para el tratamiento de un paciente afectado de síndrome de intestino irritable (SII);  
en el que el tratamiento comprende una administración diaria de la composición al paciente.
- 10 2. El producto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición comprende al menos 36 gramos (g) (peso seco) de cereal fermentado y al menos  $2 \times 10^{11}$  unidades formadoras de colonias (ufc) de dichas células de *Lactobacillus plantarum*.
- 15 3. El producto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición comprende al menos 90 gramos (g) (peso seco) de cereal fermentado y al menos  $5 \times 10^{11}$  unidades formadoras de colonias (ufc) de dichas células de *Lactobacillus plantarum*.
- 20 4. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el cereal fermentado es fécula de avena, y en el que la fécula de avena está presente en la composición en una concentración de al menos 0,05 gramos (g) (peso seco) por mililitro (ml) de la composición.
- 25 5. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el cereal fermentado es fécula de avena, y en las que la fécula de avena está presente en la composición en una concentración de al menos 0,1 gramos (g) (peso seco) por mililitro (ml) de la composición.
- 30 6. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el cereal fermentado es fécula de avena, y en el que la fécula de avena está presente en la composición en una concentración de al menos 0,18 gramos (g) (peso seco) por mililitro (ml) de la composición.
- 35 7. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que al menos  $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colonias (ufc) de dichas células de *Lactobacillus plantarum* están presentes por mililitro (ml) de la composición.
- 40 8. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que al menos  $1 \times 10^9$  unidades formadoras de colonias (ufc) de dichas células de *Lactobacillus plantarum* están presentes por mililitro (ml) de la composición.
- 45 9. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el cereal fermentado se obtiene mediante fermentación de un cereal con una o más de dichas células de *Lactobacillus plantarum*.
- 50 10. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dichas una o más células de *Lactobacillus plantarum* se añaden al cereal fermentado.
- 55 11. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el producto comprende lecitina añadida o fosfatidilcolina añadida.
- 60 12. El producto para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el tratamiento implica la administración diaria a dicho paciente de al menos 0,1 g de lecitina añadida o fosfatidilcolina añadida.
- 65 13. El producto para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el tratamiento implica la administración diaria a dicho paciente de al menos 0,5 g de lecitina añadida o fosfatidilcolina añadida.
14. El producto para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el tratamiento implica la administración diaria a dicho paciente de al menos 1 g de lecitina añadida o fosfatidilcolina añadida.
15. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el cereal es avena (fécula de avena).
16. El producto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que dicho producto no contiene leche o productos lácteos o azúcares fermentables en forma de sacarosa, lactosa, glucosa o fructosa.